

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

---



"ESTUDIO SOBRE LA PATOGENICIDAD DE  
PASTEURELLA MULTOCIDA EN AVES, UTILIZAN-  
DO DOS CEPAS DIFERENTES Y SU  
COMPROBACION SEROLOGICA".

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**Médico Veterinario Zootecnista**

PRESENTA:

JOSE LUIS LARIOS CASTILLO

GUADALAJARA, JALISCO, 1974.

A mis Padres:

Luis y Aurora

A Ana María

A mis Hermanos

Con admiración, respeto y gratitud  
a mi amigo y asesor de tesis  
Dr. Javier Rivera Hdez.

Al Dr. Ramón Fernández de Cevallos  
por sus constantes esfuerzos en favor  
de la superación profesional de los  
egresados de esta escuela

A: Ing. René Topete  
Sr. José González Allende  
Purina, S. A. de C. V.  
Por la colaboración proporcionada  
en la elaboración de este trabajo.

## CONTENIDO

I.—INTRODUCCION

II.—MATERIAL

III.—METODOS

IV.—RESULTADOS

V.—DISCUSION

VI.—CONCLUSIONES

VII.—SUMARIO

VIII.—REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

## INTRODUCCION

De la creciente necesidad de solucionar los problemas que afectan a la industria avícola, nació la idea de realizar el presente trabajo "Estudio sobre la Patogenicidad de *P. Multocida* en Aves, Utilizando 2 Cepas Diferentes y su Comprobación Serológica". Esta labor se realizó con la finalidad de contribuir al estudio de un problema, que posiblemente no se le ha dado la importancia que tiene en nuestro medio: la Pasteurellosis Aviar.

Pasteurellosis es un término usado generalmente para designar cualquier enfermedad, causada por algunas especies de bacterias del género *Pasteurella*. En aves las enfermedades producidas por este género de bacterias son las siguientes:

- 1.—Cólera Aviar (*P. Multocida*).
- 2.—Pseudotuberculosis (*P. Pseudotuberculosis*).
- 3.—Serositis infecciosa (*P. Anatipestifer*).

Según los reportes provenientes de otros países, especialmente de Estados Unidos y Canadá, estas enfermedades son relativamente frecuentes, o mejor dicho se diagnostican con frecuencia en dichos países. (6)

Maillet en 1836, fue el primer investigador en aplicar la expresión "Cólera de las Aves" en relación con una enfermedad que causaba gran número de muertes. (1)

Pasteur en 1880 aisló el organismo y obtuvo cultivos puros de esta bacteria. En estudios posteriores utilizó el agente etiológico del cólera aviar, para llevar a cabo sus clásicos experimentos de atenuación de bacterias con el fin de producir inmunidad. (1) (6)

La Pasteurellosis Aviar (anteriormente denominada Cólera de las Aves) también tiene relevancia histórica, pues su importancia en épocas pasadas fue tal que constituyó una de las cuatro enfermedades por las cuales fue creado el Departamento de Investigación del USDA (1879). (6)

La Pasteurellosis es una enfermedad infecciosa que afecta aves domésticas y salvajes; usualmente aparece como una enfer-

medad septicémica asociada con alta morbilidad y mortalidad, sin embargo las presentaciones benignas y crónicas son frecuentes.

Esta enfermedad ocurre esporádica o enzoóticamente en muchos países del mundo, algunas veces con mortalidad alta, en otros casos la mortalidad es prácticamente nula.

Pero mientras que la literatura de otros países reporta esta enfermedad como un problema real y latente, aquí en México es una enfermedad que raramente se diagnostica. García Lozano (1973) (5) reporta que en un lapso de siete años (1965-1971), la Pasteurellosis sólo fue diagnosticada en cuatro ocasiones de un total de 2446 casos de aves presentados para su estudio al laboratorio de Diagnóstico de Tlaquepaque, Jal., (ó sea un 0.16% del total de casos) ocupando el penúltimo lugar en cuanto a frecuencia de diagnóstico (de un total de 26 enfermedades aviares diferentes diagnosticadas en dicho Laboratorio).

Si se compara la frecuencia de diagnóstico de esta enfermedad con la ECR, que ocupa el primer lugar con 565 casos diagnosticados (23% del total) en ese mismo lapso de tiempo, se aprecia la gran diferencia que existe en cuanto a la frecuencia de presentación de esta enfermedad; no obstante, el cuadro clínico de estas epizootias es muy parecido, sobre todo por las lesiones de perihepatitis y pericarditis que produce por sí sola la *Pasteurella Multocida* y que fácilmente se confunden con un cuadro de Complejo Crónica Respiratoria.

El doctor Garrido Melo informa que en 1973 se presentaron al Laboratorio de Patología Aviaria de Cd. Obregón, Son., cuatro casos de Pasteurellosis de un total de 206 (1.9%), asimismo menciona que esta enfermedad ha sido raramente diagnosticada en los últimos 10 años (4).

El boletín ZooSanitario de la Dirección Gral. de Sanidad Animal (1972), reporta que en ese año, se presentaron un total de 184 casos de Pasteurellosis, pero sin hacer referencia a la especie o especies en la que se diagnosticaron. El estado en que la incidencia de la enfermedad fue mayor es Durango, y los trimestres en los que aumentó el número de casos de Pasteurellosis fueron el primero y el último (2).

El presente trabajo se realizó a partir de las cepas aisladas en dos casos de campo, que se presentaron uno en Tateposco, Jal., y otro en Zamora, Mich.

Las aves de la granja situada en Tateposco, Jal., en las cuales se presentó el brote, era una parvada de 7,000 pollitas, las cuales tenían 13 semanas de edad al presentarse el brote, durante el cual, el 90% de los animales mostraban síntomas respiratorios.

Todos los tratamientos aplicados, resultaron completamente inefectivos para controlar la enfermedad, que al desaparecer a los dos meses de iniciado el brote, dejó una secuela de 1600 muertes (20% de mortalidad) é innumerables daños a largo plazo al resto de las aves (baja de productividad posterior por las lesiones crónicas que ocasiona). Se recalca el hecho de que no hubo Antimicrobiano capaz de realizar un control práctico y efectivo de esta epizootia pues se estimó que la enfermedad desapareció siguiendo su curso natural.

La parvada que enfermó de Pasteurellosis en Zamora, Mich., constaba de 30,000 pollos de engorda, los cuales tenían 6 semanas de edad, al iniciarse la enfermedad; aparentemente la cepa de *P. Multocida* que provocó este brote era mucho menos patógena que la anterior, pues la mortalidad en 2 semanas alcanzó sólo un 2.3% (contra un 20% de la parvada anterior). La morbilidad fue de aproximadamente 12%. Las aves de esta parvada además de los síntomas respiratorios, presentaban diarrea blanquecina y acuosa muy marcada.

## M A T E R I A L

### MATERIAL DE LABORATORIO:

- Asas bacteriológicas.
- Mechero Bunsen.
- Estufa Bacteriológica.
- 30 Tubos de cultivo con tapón de algodón.
- 22 Tubos de cultivo con tapón de baquelita.
- 2Matraces Erlen Meyer de 250 ml.

- 1 Pipeta de 1 ml.
- Agujas del No. 22 largas y cortas.
- Agujas del No. 24.
- Jeringa desechable de 2.5 ml.
- Tijeras.
- Pinzas.
- Solución salina merthiolatada.
- Solución salina formolada al 0.04%.
- Tubos capilares de 9 cms. de longitud.
- Cloruro de sodio.
- Los siguientes medios de cultivo:

- 1) Gelosa Sangre.
- 2) Verde Brillante.
- 3) Caldo infusión de carne.
- 4) Fenol Red Broth Base.

—Los siguientes azúcares (para realizar pruebas bioquímicas):

- |               |              |                |
|---------------|--------------|----------------|
| 1.—Arabinosa. | 6.—Inulina.  | 11.—Raffinosa. |
| 2.—Dextrina.  | 7.—Levulosa. | 12.—Rhamnosa.  |
| 3.—Dulcitol.  | 8.—Maltosa.  | 13.—Trehalosa. |
| 4.—Galactosa. | 9.—Mannosa.  | 14.—Xilosa.    |
| 5.—Inositol.  | 10.—Manitol. | 15.—Sorbitol.  |

## MATERIAL BIOLÓGICO:

- Pollitos machos de 6 semanas de edad (Hy-Line).
- 24 Pollitos machos de 7 semanas de edad (Honegger B).
- 12 Cepas de Pasteurella Multocida de procedencia diferente (Tateposco, Jal., y Zamora, Mich.).

## M E T O D O S

El presente trabajo se realizó a partir de las cepas de *P. Multocida* aisladas en el Laboratorio de Patología Animal, en Tlaquepaque, Jal., procedentes de 2 Granjas Avícola diferentes, ubicadas una en Zamora, Mich., y la otra en Tateposco, Jal., (la primera es una explotación de pollos engorda, mientras que la segunda es una Granja de aves de postura).

Las aves de estas dos explotaciones padecían de un mismo problema: Pasteurellosis Aviar.

Una vez comprobada la similitud entre las colonias de las cepas antes mencionadas, y las descritas por K. Heddleston (2) (en gelosa sangre las colonias son no hemolíticas, mucoides, pequeñas y de un color azulado muy débil), se hicieron los siguientes exámenes complementarios para identificarla plenamente como *P. Multocida*:

A) TINCIÓN DE GRAM: En las colonias de *P. Multocida* teñidas mediante este método, se aprecian cocobacilos Gramnegativo, encapsulados (variable), no esporulado y agrupados en núcleos de bacterias sin ninguna conformación característica.

B) Cuando en la tinción de Gram coinciden las características antes mencionadas, se procede a realizar una resiembra en verde brillante y se incuba durante 24 horas, a 37°C.

C) Si el crecimiento en verde brillante es negativo, el segundo paso consiste en efectuar las pruebas bioquímicas, las cuales se llevaron a cabo con los azúcares enumerados en la siguiente tabla (asimismo se describe la acción de *P. multocida* sobre c/u de los carbohidratos):

Fermenta	Usualmente Fermenta	Usualmente no Fermenta	No Fermenta
-GALACTOSA	-Xilosa	-Dulcitol	-Dextrina
-Levulosa		-Arabinosa	-Inositol
-Mannitol		-Maltosa	-Inulina
-Mannosa.		-Raffinosa	-Rhamnosa
-Sorbitol		-Trehalosa	

Se prepararon cada uno de los azúcares anotados anteriormente, utilizando medio gramo de éstos (se preparó un medio para cada azúcar) y un gramo de fenol Red Broth Base en 100 ml. de agua bidestilada; una vez esterilizados dichos medios y que se tranvasó 2 ml. de cada uno de estos a un número igual de tubos de cultivo con tapón de algodón (por cada cepa trabajada), se procede a realizar la siembra de cada una de las cepas en todos los azúcares, utilizando una sola asada de la colonia para todos los azúcares.

Terminado este paso, se introducen en la estufa bacteriológica a 37° C. durante 24 horas, después de las cuales se pueden apreciar los resultados fácilmente, pues los azúcares que son fermentados viran el color indicador del medio que es rojo, a un color amarillento.

Después de llevar a cabo minuciosamente estas pruebas y que estas dos cepas fueron identificadas, se procedió a la inoculación, utilizando para este fin un total de 72 pollitos machos, de dos variedades diferentes: Hy-Line y Honegger Blonde, de los cuales se contaban 48 de los primeros y 24 de los últimos; los pollitos Hy-Line fueron criados desde el primer día de edad dentro del laboratorio; se les hicieron pruebas serológicas al segundo día de nacidos y un poco antes de la inoculación que se realizó a las seis semanas de edad para detectar anticuerpos contra *Mycoplasma* y *Salmonella*; resultando negativos ambos exámenes.

Los 24 pollitos Honegger Blonde, fueron criados en las instalaciones de crianza y desarrollo adyacentes a la planta de incubación de la compañía que explota dicha variedad.

Los inóculos con los que se infectó las aves se prepararon recolectando en forma aséptica, porciones de las colonias de *P. Multocida* en Gelosa Sangre de cada una de las cepas (Tateposco y Zamora), y adicionándole solución salina isotónica estéril.

Se inocularon a los pollitos con diferentes volúmenes de inóculo, que variaban de 0.2 ml. a 1.0 ml. y a través de 6 vías diferentes, utilizando las dos cepas por cada ruta de inoculación.

El número de animales empleados en cada una de las vías de inoculación, se expresan a continuación:

Vía Intraperitoneal 15 aves; Ruta intramuscular 15 pollitos; Vía Intraocular e Intrabarrillas 12, Intracardíaca 8 y a través de la Hendidura Palatina 8.

El grupo de pollitos Hy-Line, se destinó para las cuatro vías descritas en primer lugar, mientras que las 24 restantes (H. Blonde) se utilizaron en las dos rutas ennumeradas en último término.

Al momento de la inoculación los pollitos Hy-Line tenían 6 semanas de edad mientras que los Honegger B. cumplían 7. Cada una de las variedades contaba con un grupo testigo (6 Hy-Line y 8 Honegger Blonde).

En la tabla No. 1 se aprecia de una manera objetiva lo expuesto anteriormente.

Los Métodos utilizados para inocular se llevaron a cabo de la siguiente manera:

**INTRAPERITONEAL:** Se efectúa colocando al pollo, con el pico apuntando hacia abajo (sostenido por un ayudante), el operador levanta la pared abdominal (superior por la posición del ave) para que al introducir la aguja no se interesen las vísceras abdominales; se aplica el inóculo.

**INTRAMUSCULAR:** Se realizó con el método tradicional aplicándola sobre el muslo.

**INTRAOCULAR:** Se instiló en el ojo izquierdo de cada ave 0.2 ml. de inóculo.

**INTRABARBILLAS:** Con jeringa de tuberculina y aguja delgada (24) se aplicaron 0.2 ml. de inóculo en la barbilla izquierda.

**INTRACARDIACA:** Se utiliza una aguja del No. 22 de 2.5 cms. de longitud adaptada a una jeringa desechable. Para su administración se utiliza la misma técnica empleada para extraer sangre del corazón, pero obviamente la extracción de sangre sólo se utiliza para verificar que se esté inoculando directamente dentro de cualquiera de las cavidades cardíacas.

**INOCULACION A TRAVES DE LA HENDIDURA PALATINA:** Para llevar a cabo la inoculación por esta ruta se utilizó una aguja con la punta roma (con el fin de prevenir lesiones en el paladar de las aves al estar forcejeando éstas durante la inoculación). Para efectuarla, el ayudante sostiene al ave de tal manera que la hendidura palatina quede en la parte superior, el operador abre el pico del ave e inyecta el inóculo directamente dentro de la fosa del paladar.

Una vez realizadas las inoculaciones se introdujo a los animales de acuerdo a su ruta de inoculación dentro de jaulas 20 x 30 x 50 cms. Además se les adaptaron grapas de identificación.

Se dejó a los animales dentro de las jaulas a la intemperie, casi sin ninguna protección (sólo había instalaciones necesarias para que no se mojaran al llover).

Posteriormente se llevaron registros minuciosos del estado general de las aves, consumo de agua y alimento, mortandad y sintomatología.

Las aves que murieron en el transcurso del experimento, se llevaron al laboratorio de bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria y Z. para llevar a cabo las necropsias y realizar las siembras iniciales en Gelosa Sangre, con el fin de recuperar las Pasteurellas; asimismo se llevó un registro detallado de las lesiones encontradas a la necropsia.

Los órganos de los que se sembró en forma sistemática para recuperar la bacteria inoculada fueron el corazón, hígado y bazo. A las aves inoculadas a través de la H. Palatina, se les tomaron muestras de encéfalo y senos nasales; en un caso se sembró de un absceso en barbilla de un ave inoculada por esa ruta.

Todas las siembras iniciales se hicieron en Gelosa Sangre, y se incubaron en la estufa bacteriológica durante 24 horas a una temperatura de 37° C. Una vez transcurrido este período, aquellas cajas que presentaban escaso crecimiento, se dejaron incubando otras 24 horas. La morfología de las colonias que coincidían con las descritas por K. Heddleston (6) se sometían a los mismos pasos que se realizaron para identificar los cultivos originales, y que se describan ampliamente al nicio de este capítulo.

Después de un período de 35 días posteriores a la inoculación, los animales que sobrevivieron fueron sacrificados, incluyendo a los testigos y se practicaron los mismos pasos realizados con las aves que sucumbieron en el transcurso del experimento.

El siguiente paso que se realizó consistió en efectuar una comprobación serológica de anticuerpos de *Pasteurella Multocida* en el organismo de los animales con los que se experimentó en el presente trabajo. Además de estas muestras, se trabajaron sueros procedentes de aves de las granjas en las que se presentaron los brotes de los cuales se aislaron las cepas originales y de otras explotaciones aparentemente libres de esta enfermedad (Granjas Avícolas cercanas a la carretera de Chapala).

Para efectuar este trabajo se aplicó el método de aglutinación en tubo capilar. Este método consiste en hacer una reacción de microaglutinación en tubos capilares utilizando un antígeno preparado a partir de un cultivo de *Pasteurella Multocida* y adicionándole el suero problema. En ese trabajo se probó cada suero con los antígenos preparados a partir de las dos cepas con las que se realizaron las inoculaciones.

Los antígenos se prepararon de la siguiente manera:

1.—En matraces Erlenmeyer de 150 ml. que contengan 100 ml. de caldo de infusión de carne previamente preparada, se efectúa la siembra de las cepas ya identificadas con anterioridad. Se cultiva en estufa bacteriológica a 37° C. por 24 horas.

2.—Se inactiva el cultivo, previa siembra en Gelosa (para probar crecimiento), añadiendo formol a la concentración de 1% (0.4% de Formaldehído) se deja reposar a la temperatura ambiente durante la noche.

3.—Se recupera el cultivo por centrifugación a 3,300 revoluciones por minuto por una hora, se desecha el líquido sobrenadante. Se lava el sedimento (cultivo) con solución salina fisiológica que contenga 1% de formol, se centrifuga nuevamente a 3,300 R.P.M. por una hora.

4.—Se desecha el líquido sobrenadante y se resuspende el sedimento en 1:10 del volumen del cultivo original en solución salina que contenga 1:10,000 de Merthiolate (Thimerosal, Eli Lilly Co.) se agita hasta obtener disolución de los grumos, se filtra a través de una doble capa de algodón.

El líquido así obtenido se puede conservar en refrigeración como existencia constante (STOCK). (16)

Los antígenos así obtenidos se denominaron de la misma forma que las cepas, a saber:

- 1.—Antígeno Cepa Tateposco.
- 2.—Antígeno Cepa Zamora.

Previamente a la elaboración de este antígeno se sangraron un número representativo de las aves inoculadas y de los testigos 15 días después de la inoculación; también se obtuvieron muestras de sangre de las granjas donde se presentaron los brotes de Pasteurellosis y de una granja de aves de postura ubicada sobre la carretera a Chapala y que aparentemente estaba exenta de la enfermedad. Una vez obtenido el suero, se conservó congelado hasta el momento en que se llevaron a cabo las pruebas en el antígeno. Esta prueba se realiza de la siguiente manera:

Primeramente se introduce una pequeña porción del tubo, dentro del recipiente que contiene al antígeno en un ángulo de 45°, inmediatamente comienza a ascender éste (Ag) por capilaridad, se deja que suba hasta una tercera parte de la longitud del tubo, al llegar a esta altura se retira del recipiente con el antígeno y el tubo capilar se introduce en el mismo ángulo dentro del suero problema, se deja ascender hasta que solo hagan falta unos 5 mm. para llegar al otro extremo del tubo (en el que se encuentra el antígeno). Una vez hecho este paso, se voltea el tubo capilar de tal manera que el antígeno quede en la parte inferior, se inserta en una barra delgada de plastilina esta porción del tubo capilar mientras que el extremo libre superior se sella con un poco de pegamento para evitar su evaporación.

Es necesario recalcar que esta operación se llevó a cabo dos veces por cada suero problema, debido a que se probó cada uno de éstos con los dos antígenos preparados.

Después de terminar los pasos antes mencionados, se deja reposar los tubos a la temperatura ambiente de 24 a 72 horas para poder observar transcurrido este período y ayudados por una lupa la presencia positiva o negativa de aglutinación de cada uno de los sueros con los dos antígenos.

En total se trabajaron 61 sueros. Nueve de la granja Tateposco; 12 de la granja exenta de Pasteurellosis; 3 de la granja Zamora y el resto de aves inoculadas y testigos.

**CUADRO No. 1**  
**DIFERENTES VIAS DE INOCULACION**

1	Tateposco	Intraperitoneal	1 ml.	9	Hy-Line
2	Zamora	,	1 ml.	6	" "
3	Tateposco	Intramuscular	1 ml.	9	" "
4	Zamora	"	1 ml.	6	" "
5	Tateposco	Ocular-barbillas	0.2 ml.	6	" "
6	Zamora	" "	0.2 ml.	6	" "
7		T E S T I G O S		6	
8	Tateposco	Intracardíaco	0.5-1.0ml.	4	Honegger
9	Zamora	Intracardíaco	0.5-1.0ml.	4	"
10	Tateposco	H. Palatina	1 ml.	4	"
11	Zamora	H. Palatina	1 ml.	4	"
12		T E S T I G O S		8	"

## RESULTADOS

Al día siguiente de la inoculación, todos los animales exceptuando los testigos presentaban diferentes grados depresivos; caracterizándose esta apatía por: plumaje hirsuto, ojos semicerrados, anorexia, respuesta débil a los estímulos audiovisuales, etc. En los animales inoculados por vía intracardiaca e intraperitoneal, estos síntomas eran más acentuados, inclusive un ave inoculada con 1 ml. de inóculo cepa Tateposco vía intracardiaca amaneció muerta. Estos síntomas enunciados se presentaron por igual tanto a los animales inoculados con cepa Tateposco como a los infectados con cepa Zamora. De este entristecimiento sólo se recuperaron las aves inoculadas por vía intraocular, intrabarbilla e intramuscular; los de cepa Zamora a los 2 días de la inoculación y los de cepa Tateposco a los 5.

Los primeros 5 días después de la incubación todos los pollos infectados con cepa Zamora presentaban diarrea blanquecina (los inoculados por vía intracardiaca e intraperitoneal la mostraban más acentuada).

Las aves inoculadas en las barbilla con cepa Tateposco presentaron indicios de inflamación a los 4 días de realizada ésta; mientras que los infectados con cepa Zamora la inflamación comenzó a ser notoria a los 6 días posteriores a la inoculación. De las aves infectadas con cepa Tateposco sólo iniciaron la inflamación 2 de las 6 aves inoculadas, mientras que las infectadas con cepa Zamora fueron 3 de las afectadas. Posteriormente a los 20 días de la inoculación hubo una involución brusca de las barbilla inflamadas de las aves con cepa Tateposco, y 10 días después se presentó una regresión similar en 2 de las 3 aves infectadas con cepa Zamora. Al sacrificarse la única ave que presenta infl. de la barbilla, al incidirse ésta se encontró un absceso pequeño con exudado de apariencia cremosa del cual fue aislada *P. Multocida*, siguiendo la metodología descrita anteriormente. En el cuadro No. 3 se aprecian más objetivamente los resultados obtenidos de las inoculaciones realizadas.

### CUADRO No. 3

#### RESULTADOS DE MORTALIDAD CON LAS CEPAS UTILIZADAS

No. de Animales	Variedad	Vía de Inoculación	Cepa Inoculada	Tiempo para Morir	No. Muertes	No. Vivos	Lesiones Predominantes
9	Hy-Line	Intraperit.	Tateposco	3-4 días	2	7	Pericarditis Perihepatitis
6	Hy-Line	Intraperit.	Zamora	---	—	6	Pericarditis Enteritis
9	Hy-Line	Intramusc.	Tateposco	---	—	9	---
6	Hy-Line	Intramusc.	Zamora	---	—	6	---
6	Hy-Line	Oc-Barbillas	Tateposco	---	—	6	---
6	Hy-Line	Oc-Barbillas	Zamora	---	—	6	Absceso en Barbillas
6	Hy-Line	TESTIGOS				6	
4	H. Blonde	Intracardíaco	Tateposco	1-6 días	3	1	Pericarditis Hem. Hepat.
4	H. Blonde	Intracardíaco	Zamora	12 días	1	3	Pericarditis Perihepatitis
4	H. Blonde	H. Palatina	Tateposco	20 días	1	3	Pericarditis Hem. Hepat.
4	H. Blonde	H. Palatina	Zamora	---	—	4	Perihepatitis
4	H. Blonde	TESTIGOS				4	---

CUADRO No. 4

FRECUENCIA DE LESIONES ENCONTRADAS EN LOS ANIMALES INOCULADOS

VIA	CEPA	Pericarditis	PERIHEP.. y/o HEM. HEPAT	LESIONES BAZO	SENOS CONGEST.	OTRAS
Intraperit.	Tateposco	+++ ++(2) +	Ligera (2)	Hemorrágico	---	---
Intraperit.	Zamora	+++ +(2)	Ligera	---	---	Enteritis Exudado traqueal
Intramusc.	Tateposco	---	---	---	---	---
Intramusc.	Zamora	---	---	---	---	---
Ocular Barbillas	Tateposco	---	---	---	---	---
Ocular Barbillas	Zamora	---	---	---	---	Absceso en Barbilla (1)
TESTIGOS						
Intracar.	Tateposco	++(3) Hemorrágica	Severa (4)	Hemorrágico	Sí (2)	Exudado traqueal
Intracar.	Zamora	++++(2) +++ +	Severa (3) H. Marcadas	---	Sí	Enteritis
H. Palatina	Tateposco	++ +	Hemorragias marcadas	---	Sí	Exudado traqueal
H. Palatina	Zamora	---	Severa(1) ligeras (2)	---	---	---
TESTIGOS						

\* Los números entre comillas, indican el número de animales en los que se observó la lesión.

**CUADRO No. 5**  
**RESULTADOS DE SEROLOGIA CON AVES INOCULADAS**  
**Y TESTIGOS**

No. de animales	Vía de Inoculación	Cepa Inoculada	Positivos	
			Cepa Tate	Cepa Zamora
4	I. Peritoneal	Tateposco	4	4
4	I. Peritoneal	Zamora	4	4
4	I. Muscular	Tateposco	4	4
4	I. Muscular	Zamora	4	4
3	Ocular-Barbillas	Tateposco	3	3
3	Ocular-Barbillas	Zamora	3	3
1	Intracardíaca	Tateposco	1	1
3	Intracardíaca	Zamora	1	1
3	H. Palatina	Tateposco	3	3
3	H. Palatina	Zamora	3	3
2	TESTIGOS (H-L)	—	1	1
3	TESTIGOS (H-B)	—	1	1
<b>TOTAL</b> 37			32	32

**CUADRO No. 6**  
**RESULTADOS DE SEROLOGIA CON EL RESTO DE LAS**  
**MUESTRAS TRABAJADAS.**

Procedencia	Total Sueros	Positivos	
		Zamora	Tateposco
Granja Tateposco	9	8	9
Granja Zamora	3	3	3
Otras	12	10	11
<b>TOTAL</b>	24	21	23

En el cuadro No. 4 se expresan datos importantes acerca de la frecuencia de lesiones encontradas en las aves que murieron en el transcurso del experimento y en las que fueron sacrificadas.

En las aves sacrificadas inoculadas por vía intraocular, intra-barbillas e intramuscular no se encontraron lesiones, sólo se recuperaron pasteurellas de 1 ave que presentaba 1 absceso en la barbilla, como se observará en el cuadro No. 3.

De las aves testigos sacrificadas sólo se aislaron pasteurellas a partir de un hígado aparentemente sin lesiones (Hy-Llne).

### RESULTADOS DE SEROLOGIA

En el cuadro No. 5 se aprecian los resultados obtenidos con los sueros de los animales inoculados y de los testigos; mientras que en el siguiente cuadro (No. 6) se observan los resultados que se obtuvieron con el resto de los sueros trabajados (cuya procedencia ya se anotó).

### CUADRO No. 2

Reacciones Bioquímicas de las 2 cepas utilizadas, con referencia a la descrita por Heddleston.

	REFERENCIA	TATEPOSCO	ZAMORA
1 ARABINOSA	Usual	—	+
2 DEXTRINA		—	—
3 DULCITOL	Usual	—	+
4 GALACTOSA		+	+
5 INOSITOL		—	—
6 INULINA		—	—
7 LEVULOSA		+	+
8 MALTOSA	Usual	—	+
9 MANNOSA		+	+
10 MANITOL		+	+
11 RAFFINOSA	Usual	—	+
12 RHAMNOSA		—	—
13 TREHALOSA	Usual	—	+
14 XILOSA	Usual	+	+
15 SORBITOL		+	+

## DISCUSION

Basándose en los resultados obtenidos en la prueba de fermentación de azúcares, se determinó que las dos cepas se comportaron como *P. Multocida*, de acuerdo a las características descritas por Heddleston (6). Rosenbuck y Merchant, clasificaron a *Pasteurella M.* en tres subtipos, basándose en el comportamiento de esta bacteria en presencia de Xilosa, Arabinosa y Dulcitol.

A continuación se expone el cuadro descrito por estos autores (9).

Grupo I	—	+	+	
Grupo II	+	—	—	
Grupo III	+	+	+	
TATEPOSCO	+	—	—	(Grupo II)
ZAMORA	+	+	+	(Grupo III)

Por lo tanto, se concluyó que la cepa Tateposco corresponde al Grupo II, y la cepa Zamora al grupo III.

Las aves fueron inoculadas entre las 6 y 7 semanas, debido a que a esta edad el saco vitelino ha sido reabsorbido totalmente (11). Después de la inoculación, las aves infectadas, se dejaron a la intemperie con el propósito de originar un estado de stress, pues Heddleston afirma que aves menores de 16 semanas enferman de Pasteurellosis solamente en presencia de un factor concomitante (6).

Se utilizaron dos líneas diferentes de aves (una de ellas fue Honegger Blonde y la otra Hy-Line) dadas las facilidades prestadas por las Empresas donadoras.

Se realizaron pruebas serológicas para detectar anticuerpos contra *Micoplasma* y *Salmonella*, con la finalidad de descartar en esas aves la presencia de las enfermedades causadas por estos agentes.

Se utilizaron las siguientes vías de inoculación: Intramuscular, intraocular, intrabarrillas, intraperitoneal, intracardiaca y a través de la hendidura palatina. No utilizamos la vía oral ya que Arsov (1918), demostró que *Pasteurella* se inactivaba en esófago, divertículo esofágico y proventrículo (6).

La diversificación de las vías y cantidad de inóculo, se hizo con la finalidad de reproducir la enfermedad y valorar la patogenicidad por cada una de estas vías; así como determinar el curso de la enfermedad.

En las inoculaciones llevadas a cabo con las dos cepas, se apreció una patogenicidad variable, dependiendo de la vía y el tipo de cepa inoculada, así tenemos que en los animales inoculados con cepa Tateposco, la ruta en la que la mortalidad fue mayor, correspondió a la Vía Intracardíaca ya que de 4 aves inoculadas por esta vía murieron 3 (75% del total); seguida por la inoculación a través de la Hendidura Palatina con 25% de mortalidad (1 de 4), en tercer lugar tenemos al grupo inoculado por Vía Intraperitoneal con 22.2% (2 de 9). En las aves inoculadas por Vía Intramuscular, Intraocular e Intraabarcillas la mortalidad fue nula, ocurriendo lo mismo con el grupo Testigo.

En las aves infectadas con cepa Zamora, la mortalidad fue sensiblemente menor en relación con el grupo inoculado utilizando cepa Tateposco: solamente murió una de las 4 aves que fueron inoculadas por vía Intracardíaca (25% Mortalidad), mientras que en los grupos restantes no hubo mortalidad.

Las lesiones predominantes encontradas en las aves muertas son las siguientes (en orden decreciente de importancia):

#### **AVES INOCULADAS CON CEPA TATEPOSCO:**

- 1) Pericarditis.
- 2) Perihepatitis.
- 3) Hemorragias hepáticas.
- 4) Hepatomegalia.
- 5) Traqueítis.
- 6) Senos nasales Hemorrágicos.
- 7) Bazo hemorrágico.
- 8) Una ave que fue infectada con un ml. de inóculo murió al día siguiente. A la necropsia se encontró hemorragias en corazón, hígado, bazo, cerebro y músculos; concordando ampliamente este cuadro con las lesiones descritas por el Dr. Garrido Melo; con la aclaración de que estas observaciones las hizo en pavos

(4). Además, Heddleston afirma que cuando el curso de la enfermedad es agudo, muchas de las lesiones Post Mortem se asocian con disturbios vasculares (6).

#### **AVES INOCULADAS CON CEPA ZAMORA:**

- 1) Pericarditis.
- 2) Enteritis en duodeno.
- 3) Perihepatitis.
- 4) Traqueítis.
- 5) Hemorragias Hepáticas.
- 6) Senos Nasales Congestionados.

Una vez transcurridos 35 días después de la inoculación, las aves que no murieron fueron sacrificadas, tomando en cuenta que el período de incubación de la enfermedad varía de 8 horas a 9 días, dependiendo del tipo de cepas (1). En estas aves sacrificadas las lesiones encontradas, fueron las siguientes:

#### **TATEPOSCO:**

- 1) Pericarditis.
- 2) Perihepatitis.
- 3) Hemorragias Hepáticas.
- 4) Hígado Friable.
- 5) Senos Nasales Congestionados.
- 6) Exudado en tráquea.

#### **ZAMORA:**

- 1) Pericarditis.
- 2) Hígado Friable.
- 3) Perihepatitis.
- 4) Una ave inoculada en lass barbillas, presentaba un absceso en ese sitio.

Las lesiones antes descritas, coinciden parcialmente con las que menciona Heddleston (Hemorragias en hígado, Pericardio y Subepicardio; enteritis duodenal; conjuntivitis; focos necróticos en hígado; aumento de líquido pericardíaco y peritoneal; abscesos en barbillas, huesos y articulaciones). Este investigador no hace

mención a la Pericarditis ni a la Perihepatitis; pero en una de las fotografías que presenta para ahcer más objetivas las lesiones hepáticas, se aprecia claramente una pericarditis muy marcada. Ignoramos el por qué dicho investigador no hizo hincapié en señalar dicha lesión (6).

W. R. Hinshaw, menciona a la pericarditis como una lesión muy frecuente en los brotes de Pasteurellosis en pavos (1).

P. Anatipestifer (agente etiológico de Serositis infecciosa de los patos), produce lesiones semejantes a las que se observaron en los animales inoculados (Pericarditis y Perihepatitis), pero las características bioquímicas de esta bacteria no coinciden con los resultados obtenidos con las cepas trabajadas, ya que P. Anatipestifer no fermenta Carbohidratos. (6)

No se observaron lesiones cerebrales ni tortícolis en las aves inoculadas a través de la hendidura palatina. Olson describe estas lesiones en las inoculaciones por esta vía; utilizando pavos en su trabajo (14).

Las lesiones encontradas y descritas, aseguramos que son producidas por P. Multocida, ya que de ellas aislamos a dicho germen; sin encontrar contaminantes.

Como anteriormente explicamos, las 2 cepas de P. Multocida son diferenciables entre sí por métodos bioquímicos y por lo tanto pertenecientes a 2 grupos o subtipos diferentes. Por esta razón consideramos que fuera de interés el conocer si también había algunas diferencias antigénicas en ambos grupos, por lo que se decidió llevar a cabo la prueba de Aglutinación Capilar. Donde encontramos que los sueros de las aves inoculadas con la cepa Tateposco, presentaban Aglutinación con los dos antígenos y a su vez los sueros de las aves inoculadas con cepa Zamora, presentaban idéntica reacción al igual que los sueros obtenidos en las granjas donde ocurrieron los brotes y en la otra explotación avícola. estos resultados concuerdan con los estudios de Prince y Smith (1966) los cuales demostraron que había reacciones cruzadas entre serotipos diferentes de P. Multocida debido a que existen 16 antígenos comunes que fueron demostrados uti-

lizando la prueba de Inmunolectroforecís (6) (7) (13). Namioka y Bruner (1963), utilizando la prueba de Seroaglutinación en conjunción con la prueba de Hemoaglutinación Indirecta (no la describe), fundaron 4 Serotipos 5:A 8:A y 9:A, y 2:D asociados con Cólera Aviar; los Serotipos 5A BA y 9A, contienen un Antígeno Hemoaglutinante común (A) y también antígenos aglutinantes específicos (6).

Heddleston (1927) preparó un antígeno termostable extractado con solución salina formolada y lo utilizó en la prueba de difusión de precipitinas en Gel; con este método clasificó cepas de *P. Multocida*, asociado con Cólera Aviar, dentro de 5 Serotipos (7).

## CONCLUSIONES

- 1) Las dos cepas trabajadas pertenecen a subgrupos diferentes; la cepa Tateposco al Subgrupo II y la cepa Zamora al Subgrupo III.
- 2) La cepa Tateposco mostró una patogenicidad mayor que la cepa Zamora, ya que en Tateposco la mortalidad fue de 18.75% en forma global; en tanto en las aves inoculadas con cepa Zamora la mortalidad fue de 3.84%.
- 3) La vía que en ambas cepas mostró ser la más patógena fue la intracardíaca, ya que la mortalidad fue de 75% en las aves inoculadas por esa ruta con cepa Tateposco, mientras que las aves infectadas con cepa Zamora, fue de 25%.
- 4) Las lesiones predominantes en ambas cepas fueron: Pericarditis, Perihepatitis y Hemorragias Hepáticas.
- 5) Utilizando la prueba de Aglutinación Capilar, se determinó que las dos cepas de *Pasteurella Multocida* tienen relaciones antihigiénicas.

## SUMARIO

Un grupo compuesto por 72 aves de dos variedades diferentes, fueron inoculados con 2 cepas de *P. Multocida* a través de 6 vías. Cada línea contaba con un grupo testigo.

Se llevaron registros del consumo de agua y alimento, sintomatología, estado general de las aves y mortalidad durante un período de 35 días posteriores a la inoculación, después de los cuales se sacrificó a las aves inoculadas sobrevivientes y a los testigos.

A las aves que murieron durante el transcurso del experimento (7 animales) y a las que fueron sacrificadas, se les hizo siembras bacteriológicas y se apuntó las lesiones encontradas a la necropsia.

Se recuperó la bacteria de todas las aves muertas como consecuencia de la inoculación y de aquellas que presentaban lesiones en la necropsia.

Las lesiones predominantes en ambas cepas fueron: Pericarditis, Perihepatitis y Hemorragias Hepáticas.

En las aves testigos no se observaron lesiones y los cultivos bacteriológicos resultaron negativos.

Se elaboró un antígeno por cada cepa trabajada que fueron utilizados en la prueba de aglutinación capilar. En total se estudiaron 61 sueros, y se llegó a la conclusión que ambas cepas tienen relaciones Antigénicas.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Biester y Swarte. Enfermedades de las aves. 1a. Edición: 281,1007.
- 2) Boletín Zoosanitario de la Dirección General de Sanidad Animal. 1972: 7, 9, 13, 18, 28.
- 3) Cowan and K. J. Steel. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge, University. 1965: 381.
- 4) Garrido Melo. Referencias Personales. Lab. de Patología Aviaria. Miguel Alemán 212 Sur. Cd. Obregón, Son.
- 5) García Lozano. Estudio Comparativo de las Enfermedades Reportadas en el Lab. de Diagnóstico Central Regional de Tlaquepaque, Jal., en 7 años de Referencia (1965-1972): 8, 10, 16.

- 6) Heddleston K. L. Diseases of Poultry. Sixth Edition. Chapter 5: 219-234-, 242-250, 394.
- 7) Heddleston K. L. Fowl Cholera: Gel Diffusion Precipitin Test for Serotyping Pasteurella M. from Avian Species. Avian Diseases, Vol. 16, No. 4, July-September, 1972: 915.
- 8) Heddleston K. L. Serological and Biochemical Characteristics of Pasteurella M. from Free-Flying Birds and Poultry. Avian Diseases, Vol. 16, No. 4 July-September, 1972: 733.
- 9) Heddleston K. L. Studies on Pasteurellosis. V. Two Immunogenic Types of Pasteurella M. Associated with Fowl Cholera. Avian Diseases, Vol. VI, No. 3, August 1962: 319.
- 10) Jawetz. Microbiología Médica. 3a. Edición: 243.
- 11) Kaupp and Surface. Poultry Sanitation and Diseases Control: 376.
- 12) Merchant y Packer. Bacteriología y Virología Veterinarias. 3a. Edición: 350.
- 13) Methods for the Examination of Poultry Biologics. National Academy of Sciences. National Research Council. 2nd. Edition. Vol. 2: 171.
- 14) Olson and Mc Cune. Experimental Production of the Cranial Form of Fowl Cholera in Turkeys. Journal Veterinary Research. Vol. 29 No. 8: 1665, 1674.
- 15) Runnells, Monlux. Principios de Patología Veterinaria: 399, 493, 494.
- 16) Zapién Solís. Elaboración de un Antígeno de Erisipela para Prueba de Aglutinación en Tubo: 11.
- 17) Zinsser Microbiology. 3rd. Edition: 781.