



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**Evaluación de 4 Bacterinas Comerciales de Pasteurella  
Multocida.**

**T E S I S   P R O F E S I O N A L**

**Que Para Obtener el Título de:**

**M E D I C O   V E T E R I N A R I O   Z O O T E C N I S T A**

**P r e s e n t a :**

**M A R I A   M I N E R V A   S O T O   R O S A L E S**

**V   G e n e r a c i ó n   1 9 6 8 - 1 9 7 3**

**GUADALAJARA, JAL.**

**JULIO DE 1974**

A LA MEMORIA DE MI PADRE  
GRAL. LUIS SOTO BENITEZ,  
CUYO UNICO DESEO FUE VER-  
ME HECHA EN UN SER UTIL.

A MI MADRE, MARIA ROSALES DE SOTO  
CON GRAN ADMIRACION Y CARINO, POR  
SUS CONSEJOS EN MI FORMACION.

A MI TIO, JOSE LUIS ROSALES O:  
POR SU APOYO MORAL Y CARINO,  
QUE ME HA BRINDADO.

AL DR. DON RAMON FERNANDEZ DE CEVALLOS  
FUNDADOR Y DIRECTOR DE TAN QUERIDA ES-  
CUELA, CON PROFUNDO RESPETO.

AL DR. JAVIER RIVERA HERNANDEZ,  
ASESOR DE ESTA TESIS, CON INFI-  
NITA GRATITUD Y RESPETO, EN SU  
AFAN DE MI SUPERACION.

A MIS MAESTROS; A QUIENES DE-  
BO LOS CONOCIMIENTOS ADQUIRI-  
DOS.

A MI HONORABLE  
JURADO.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS,  
DE LA INOLVIDABLE V GENERA-  
CION.

A MIS AMIGOS,  
Y PERSONAS QUE ME ESTIMAN.

CONTENIDO

INTRODUCCION

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

DISCUCION

CONCLUSIONES

RESUMEN

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

I N T R O D U C C I O N :-

## INTRODUCCION

La Pasteurellosis en Bovinos; recibe los nombres de: Fiebre de Embarque o Complejo de la Fiebre Patequial. (12) Esta Bacteria en estudios pfevios, se ha demostrado que esta presente como miembro de la mcicroflora nasal, en becerros de engorda recién destetados. (7)

Tambien la Pasteurella; se ha encontrado en conjunto del virus de la Parainfluenza - 3 en Bovinos, en los cuales se había diagnosticado una enfermedad respiratoria. (7) Así mismo, tambien se ha encontrado en asociación con Reovirus. (10)

En Cerdos; la enfermedad recibe los nombres de: Pasteurellosis o Sépticemia Hemorrágica.

En Cerdos; la enfermedad denota una infección, en la cual el organismo causal es Pasteurella Multocida o Pasteurella Hemolitica; y, el organo más afectado o en el que frecuentemente se localiza, es el Pulmón. La Pasteurellosis en Cerdos, tiene 2 presentaciones; una como Pasteurellosis primaria, y otra como Pasteurellosis secundaria, en la cual, el organismo invasor secundario es Pasteurella, y como agente causal Mycoplasma Sui pneumoniae, o el virus de la Neumonia Enzoótica. (9)

En E.U. esta afección es muy frecuente, ya que Hoerley et. al. en 1961, reportaron un 60% de casos positivos a Pasteurella en animales enfermos de Fiebre Patequial; y un 14% de positivos a Pasteurella, en animales tratados en forma intensa con antibioticos. (7)

En nuestro Pais; la Pasteurellosis es frecuente. Ricardo Garcia Lozano, en su trabajo reporta que la Pasteurellosis ocupa entre el 7mo. y 8vo. lugar en Bovinos; y el 6to. y 8vo. lugar en Porcinos, de las 10 enfermedades más importantes en el Laboratorio Central de Tlaquepaque, Jalisco. (5)

Debido a la frecuencia tan alta en la presentación de la Pasteurellosis, tanto en Bovinos como Porcinos, y siendo uno de los pa-

decimientos , en los que se procede a hacer una inmunización habitual entre los ganaderos, en nuestro medio. Creemos que sea de interes, el efectuar una "Evaluación de Bacterinas Comerciales" para el control de esta padecimiento.

La Pasteurella; es un bacilo bipolar corto, no movil, Gram(-), bastante pleomórfico en medios que contienen carbohidratos, crece a una temperatura de 37°C. y muere a 57°C. Es anaerobio facultativo y aeróbico. Crece en medios comunes (Gelosa Sangre y Triptosa Agar), sus colonias son finas translúcidas, y a veces de aspecto mucoso y con un olor característico. Cuando la cepa es muy virulenta; sus colonias son de tipo fluorescente e iridiscente, no produce hemolisis, es Indol (+), produce gas en algunos azúcares, y a otros los fermenta, entre los que tenemos: (I)

| No Fermentan |             |
|--------------|-------------|
| GLUCOSA      | LACTOSA     |
| MANOSA       | MALTOSA     |
| GALACTOSA    | RAFINOSA    |
| SACAROSA     | THREALOSA   |
| MANITOL      | RHAMNOSA    |
|              | INULINA     |
|              | SALICIN     |
|              | DEXTRINE    |
|              | ALMIDON (I) |

Referente a la Historia, de las Bacterinas, de Pasteurella Multocida; podemos decir que es de las más antiguas, puesto que Pasteur; en el año de 1880, empezó a cultivar las bacterias en medios líquidos, a partir de estos cultivos, inculcó a animales de experimentación (aves) causando el cuadro clínico y la muerte con cultivos recientes. Pero cuando se trataba de cultivos envejecidos, se presentaba un cierto grado de inmunidad. En esta forma se crearon 2 tipos de Bacterinas, cuya atenuación se achacaba a la acción del oxígeno del aire. Debido a la falta de la atenuación correcta de estas Bacterinas, se empezaron a presentar problemas infecciosos después de su aplicación, siendo la causa de que se dejaran de usar.



Meninger (1919) logró una vacuna avirulenta partiendo de otros procedimientos, y achacando la atenuación a los productos metabólicos que se formaban, en los líquidos de cultivo. Esta vacuna no forma mutantes, no forma capsulas y su avirulencia es constante. Los cultivos se emulsionan en solución salina fisiológica.

La vacuna dió buenos resultados. (4)

Staub (1925) utilizó las propiedades antigénicas de las variantes de las cepas, en las diferentes especies. Usando cepas de conejo, apatogenas para aves, logrando una inmunidad aceptable pero corta (4)

Más tarde se procedió a matar los germenos por medio del calor, fenol, formalina, etc. de esta forma se obtuvieron mejores efectos, de acuerdo con la cepa original y la cantidad del material empleado para lograr la muerte de los germenos. (4)

M A T R I A L Y M E T O D O S :-

## MATERIAL

**BIOLÓGICO:-** 2 Cepas de Pasteurella Multocida de Bovino  
2 Cepas de Pasteurella Multocida de Cerdo  
Vacuna I.B.P. - B.V.D. - P.I.-3 + Pasteurella  
Bacterina Pasteurella - Salmonella Cholerasuis  
Bacterina Mixta Porcina  
Bacterina Septicemia Hemorragica  
Ratones Blancos (No. 160)  
Suero sanguineos de ratones (No. 26)  
Agua Destilada

**MEDIOS Y REACTIVOS:-** Medios de Cultivo (Gelosa Sangre)

Alcohol Etilico  
Sol. de Acido Sulfúrico al 1%  
Sol. de Cloruro de Bario al 1%  
Sol. Salina Formolada al 1%  
Sol. Salina Merthiolatada  
Formol del 96%  
Eter  
Azucares: Glucosa  
Manosa  
Galactosa  
Sacarosa  
Manitol  
Rhamnosa  
Rafinosa  
Maltosa  
Threalosa  
Lactosa

**MATERIAL:-** Matraces Erlen Meyer (250, 500, 1000 ml.)  
(varios) Matraces Volumétricos (100 ml.)  
Vasos de Precipitado (250, 500 ml.)  
Pipetas (1, 5, 10 ml.)  
Tubos de cristal (15, 30 ml.)  
Tubos Graduados de Centrifuga (20 ml.)  
Tubos de Tapón de Baquelita (30 ml.)  
Porta - objetos y Cubre - objetos

Jeringa de Tuberculina  
Agujas Hipodérmicas (No. 25)  
Jaulas de Aluminio para Ratones (10)  
Bebedores y Comederos  
Mango de Bisturí (No. 4)  
Hojas de Bisturí  
Tijeras Rectas  
Tijeras Curvas  
Pinzas de Disección  
Pinzas de dientes de ratón  
Charola de Necropsias  
Algodón  
Espectrofotometro

## METODOS

Recibimos en el Laboratorio de Microbiología; 4 cepas de *Pasteurella Multocida*, del Laboratorio Central de Tlaquepaque, aisladas 2 de ellas de Bovino, y las otras 2 de Cerdo.

Las cuales al recibirlas, se sembraron en medios de Gelosa Sangre, al termino de la incubación, que es de 24 hrs. a una temperatura de 37°C., se observaron características de colonias, se efectuó la tinción de Gram para observar los cocobacilos gram (-) al microscopio, procediendo despues a hacer las bioquimicas (fermentacion de carbohidratos), para la identificación correcta de las *Pasteurellas Multocidas*, de las 2 especies animales.

Al hacer uso de las 4 Bacterinas Comerciales, se formaron lotes de 35 ratones por Bacterina; estos ratones tenian un peso aproximado de 16 a 20 grs. cada uno. Cada lote de ratones, se inmunizaron con 0.2 dec. de c.c. por vía subcutanea, de la Bacterina correspondiente al lote. (13) Se esperaron 20 días, al cabo de los cuales, se hizo la inoculación de reto o desafío.

Para determinar la dosis letal media (D.L.50), se preparó en un tubo con 9 c.c. de Caldo Lactosado esteril, al cual se le agregaron colonias de *Pasteurella* con una asa de punta redonda, y se sometió a incubación durante 18 hrs. Posteriormente; en 9 tubos de tapón de Baquelita, previamente esterilizados, se colocaron 9 c.c. de Caldo Lactosado, haciendo las diluciones de la siguiente forma: se tomó un c.c. del preparado rico en *Pasteurellas* (inóculo) agregándose en el 1er. tubo, se homogenizó perfectamente; de este tubo se tomó otro c.c. para colocarlo en el 2do. tubo, se volvió a agitar y a tomar un c.c. y agregarlo en el 3er. tubo, y así sucesivamente hasta el tubo No. 9, quedando las diluciones como sigue: IO-I, IO-2, IO-3, IO-4, IO-5, IO-6, IO-7, IO-8, y IO-9. Se inocularon despues 2 ratones por dilución.

La concentración de bacterias de la D.L. 50, se determinó, haciendo la lectura en el Espectofotómetro, por medio de la escala

del Nefelómetro de Mc Farland,

La lectura de las Bacterinas Comerciales, se hizo de la misma forma, que la del inóculo de desafío.

Los inóculos de desafío o reto de las 2 cepas, se prepararon en base de Caldo Lactosado pero en cantidades mayores (80 ml.), haciendo las diluciones en la misma forma en que se efectuaron para determinar la D.L.50, y siendo la cantidad del inóculo, rico en germen, de 8 c.c., la que se agrega al primer tubo, en este caso, utilizé matraces, debido a la cantidad.

Las pruebas de desafío se hicieron, inoculando 0.2 dec. de c.c. por vía subcutánea. En 2 lotes, se utilizó la de Bovino, y en los otros 2 la de Cerdo.(I3)

Los ratones; posteriormente a la inoculación de reto, se mantuvieron en observación durante 20 días, (I3)

Los animales que murieron durante este lapso, se les efectuó la necropsia, y se hicieron siembras principalmente de Pulmón, Corazón y Bazo en medios de Gelosa Sangre, recuperando de nuevo la cepa de Pasteurella, ya que se hizo la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas.

Los animales que no murieron; al término de los 20 días, se les anestesió con eter, por medio de un algodón, evitando producir la muerte. Con el fin de extraer la mayor cantidad de sangre posible (2.5 c.c.), por punción intracarotídea, para obtener de esa forma algo de suero, y proseguir con la Titulación de Anticuerpos.

#### Preparación del Antígeno:- (2)

I.- En 2 matraces de Erlen Meyer de 250 ml., se preparó 100 c.c. de Infusión de Carne sin suero, se esterilizó a 120°C. durante 15 min. Sembrando después en el caldo, con las cepas ya conocidas de Pasteurella. Cultivar a 37°C. durante 24 hrs.

- 2.- Estos cultivos se inactivaron después de haber efectuado la siembra, en Gelosa Sangre, con formol puro, 1c.c. por cada 100 ml. Dejar reposar, durante 12 hrs. aproximadamente.
- 3.- El cultivo se recupera por centrifugación, a 3,300 R.P.M. durante una hora. Se lava el sedimento, con solución Salina Fisiológica con el 1% de formol, se vuelve a centrifugar a 3,300 R.P.M. durante una hora.
- 4.- Se deshecha el líquido sobrenadante. Se reesuspende el sedimento en 1:10 del volumen original, en solución Salina que contenga 1:10,000 de Merthiolate (Thimerosal Eli. Lilly Co). Se agita hasta tener disolución de los grumos.
- 5.- Se filtra a través de una doble capa de algodón. Se conserva en refrigeración.

Para su uso, en las pruebas de aglutinación, se diluye en solución Salina Merthiolatada, hasta tener la densidad correspondiente al número de la escala de Mc Farland (58-60% a 600 milimicrones en colorímetro).

La Titulación de Anticuerpos, se hizo con los sueros sanguíneos de los ratones que no murieron; de la siguiente forma:

Se utilizaron 6 tubos de 15 c.c. de capacidad por suero, se colocaron 5 c.c. de Sol. Salina en cada uno, más un c.c. de Antígeno, agregando 0.4 en el 1er. tubo; 0.2 en el 2do. tubo; 0.1 en el 3er. tubo; 0.05 en el 4to. tubo; 0.02 en el 5to. tubo y 0.01 en el 6to. tubo, de ml. de suero. Se colocaron en la estufa de Incubación, durante 30 min. a una temperatura de 37°C. (2)

A los 30 min. se hace la lectura, frente a una buena fuente de luz.

Cuando la reacción es positiva (+) se observa la aglutinación en el fondo del tubo. Si es negativa (-) la mezcla se conserva turbia.

RESULTADOS:-



## RESULTADOS

Después de la inmunización, con las 4 Bacterinas Comerciales, no se observó alteración alguna, en la conducta de los ratones, durante los 20 días.

Los resultados que se obtuvieron, en los ratones que se utilizaron para determinar la D.L. 50, inoculándose 2 ratones por dilución, fueron los siguientes:

| DILUCION | No. DE ANIMALES<br>INOCULADOS | TOTAL DE<br>MUERTOS | D.L.50 |
|----------|-------------------------------|---------------------|--------|
| IO-1     | 2                             | 2                   |        |
| IO-2     | 2                             | 2                   |        |
| IO-3     | 2                             | 2                   |        |
| IO-4     | 2                             | 2                   |        |
| IO-5     | 2                             | 1                   | IO-5.5 |
| IO-6     | 2                             | 1                   |        |
| IO-7     | 2                             |                     |        |
| IO-8     | 2                             |                     |        |
| IO-9     | 2                             |                     |        |

Al realizar la inoculación de reto, con la cepa de Cerdo en 2 lotes; en uno de ellos, se utilizó el diluyente de una vacuna de Importación Americana; que además, contenía un liofilizado con los virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina y Parainfluenza - 3. En el otro lote, se utilizó una Bacterina que contenía Pasteurella - Salmonella Choleraesuis. Durante los 20 días que se esperaron; los ratones que murieron, presentaron antes los siguientes síntomas: asnea, convulsiones, cianosis en mucosas y orejas.

De los ratones que se utilizaron como control, 3 murieron a los 2 días posterior a la inoculación. De los ratones que se vacunaron

murieron entre los 10 y 12 días. Al practicarseles la necropsia, se encontró Pulmón e Hígado hemorrágico y esplenomegalia.

Los resultados, fueron:

VACUNA PASTEURELLA + VIRUS

| No. de Ratones Inoculados | Ratones Control | Concentrac. inóculo           | Concentrac. Bacterina            | No. de Muertos | No. de Vivos | % de Vivos |
|---------------------------|-----------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------|--------------|------------|
| 35                        | 5, murieron 3.  | 685 millones de Bacterias/ml. | 1,850 millones de Bacterias /ml. | 3              | 32           | 93.7%      |

BACTERINA PASTEURELLA - SALMONELLA CHOLERASUIS

| No. de Ratones Inoculados | Ratones Control | Concentrac. Inóculo           | Concentrac. Bacterina            | No. de Muertos | No. de Vivos | % de Vivos |
|---------------------------|-----------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------|--------------|------------|
| 35                        | 5, murieron 3.  | 685 millones de Bacterias/ml. | 2,500 millones de Bacterias /ml. | ---            | 35           | 100%       |

Los resultados que se obtuvieron, en los 2 lotes que se usó la cepa de Bovino, cuyos ratones se inmunizaron con una Bacterina Mixta, y otra monovalente. Los animales que taráaron en moris, presentaron el siguiente cuadro: postración total, respiración rápida, y superficial, cianosis en mucosas y orejas, se amontonaban entre sí.

BACTERINA MIXTA

| No. de Ratones Inoculados | Ratones Control    | Concentrac. Inóculo           | Concentrac. Bacterina            | No. de Muertos | No. de Vivos | % de Vivos |
|---------------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------|--------------|------------|
| 35                        | 5, murieron todos, | 800 millones de Bacterias/ml. | 2,200 millones de Bacterias /ml. | 35             | --           | 0%         |

BACTERINA SEPTICEMIA HEMORRAGICA

| No. de Ratones Inoculados | Ratones Control | Concentrac. Inóculo | Concentrac. Bacterina | No. de Muertos | No. de Vivos | % de Vivos |
|---------------------------|-----------------|---------------------|-----------------------|----------------|--------------|------------|
|---------------------------|-----------------|---------------------|-----------------------|----------------|--------------|------------|

|    |                    |                               |                                 |    |    |    |
|----|--------------------|-------------------------------|---------------------------------|----|----|----|
| 35 | 5, murieron todos. | 800 millones de Bacterias/ml. | 5,700 millones de Bacterias/ml. | 35 | -- | 0% |
|----|--------------------|-------------------------------|---------------------------------|----|----|----|

En cuanto a los resultados de los sueros, que se obtuvieron de los ratones que no murieron, y con los que se hizo la Titulación de Anticuerpos, fueron los siguientes:

TITULACION

| Vacuna Pasteurella | Suero No. | TITULACION |      |       |       |       |        |
|--------------------|-----------|------------|------|-------|-------|-------|--------|
|                    |           | I/25       | I/50 | I/100 | I/200 | I/500 | I/1000 |
|                    | I         | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 2         | +          | +    | +     | -     | -     | -      |
|                    | 3         | +          | +    | +     | +     | +     | -      |
|                    | 4         | +          | +    | +     | +     | -     | -      |
|                    | 5         | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 6         | +          | +    | +     | +     | -     | -      |
|                    | 7         | +          | +    | +     | -     | +     | -      |
|                    | 8         | +          | +    | -     | -     | -     | -      |
|                    | 9         | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 10        | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 11        | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 12        | +          | +    | +     | +     | -     | -      |
|                    | 13        | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 14        | +          | +    | +     | +     | -     | -      |
|                    | 15        | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 16        | +          | +    | +     | +     | +     | -      |
|                    | 17        | +          | +    | +     | +     | +     | +      |
|                    | 18        | +          | +    | +     | +     | +     | +      |

## TITULACION

Bacterina Pasteurella-  
Salmonella Cholerasuis

| Sueros<br>No. | I/25 | I/50 | I/100 | I/200 | I/500 | I/1000 |
|---------------|------|------|-------|-------|-------|--------|
| 1             | +    | +    | +     | +     | +     | +      |
| 2             | +    | -    | -     | -     | -     | -      |
| 3             | +    | +    | +     | -     | -     | -      |
| 4             | +    | -    | -     | -     | -     | -      |
| 5             | +    | +    | +     | +     | +     | +      |
| 6             | -    | -    | -     | -     | -     | -      |
| 7             | +    | +    | +     | +     | -     | -      |
| 8             | +    | +    | +     | +     | -     | -      |

DISCUSSION:-

## DISCUCION

De acuerdo con la U.S.D.A. (Departamento de Agricultura de E. U. Div. Biológica Veterinaria), se utilizó la dilución logarítmica  $10^{-5.5}$ , en las inoculaciones de desafío. (13)

La D.L. 50, se determinó inculando a 2 ratones con 0.2 dec. de c.c. por dilución, observandolos durante 20 días, para determinar hasta que dilución causó la muerte de estos animales. Las diluciones que se usaron fueron de;  $10^{-1}$  a la  $10^{-9}$ , como se podrá observar la cepa mató a los ratones, entre la dilución 5 y 6, por lo que nuestra dosis letal media (D.L. 50) fué de  $10^{-5.5}$ . (8) E.E. Ose et. al. en un trabajo similar la D.L. 50 que ellos obtuvieron fué de  $10^{-5.2}$  (13)

Por la regla que impone la U.S.D.A., los ratones que se usaron para comprobar la D.L. 50, se tienen el observación durante 7 días. A lo que nosotros, dimos 20 días. (13)

Las Bacterinas que utilizamos fueron 4, siendo una de ellas de importación americana, que servía como diluyente. Esta además; trae un liofilizado con virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina y Parainfluenza - 3.

Las otras 3; son nacionales, una de ellas monovalente, y las otras 2 polivalentes.

E.E. Ose et. al. trabajaron, en su estudio sobre evaluación de este tipo de Bacterinas, 7 diluciones de la cepa de reto, inoculando 10 ratones por dilución, previamente aplicada la Bacterina. (13)

Nosotros a diferencia; trabajamos solo una dilución de reto, que fué la dilución a  $10^{-5.5}$  como D.L. 50, inoculando a 35 ratones con esta sola dilución.

Sobre los resultados obtenidos, en el lote que se utilizó la Vacuna de Importación, aplicando solamente el diluyente, cuya concentración era de 1,850 millones de Bacterias/ml. Después de haber hecho la prueba de reto, con la cepa de Cerdo, se observó que el % de

animales que sobrevivieron a dicho feto, fué del 93.7%. El inóculo tenía una concentración de 685 millones de Bacterias/ ml.

Ose; reporta, también con una Bacterina de este tipo, en la cual retó con una cepa de Cerdo, un logaritmo de protección de 0.2 (I3)

En cuanto a la Bacterina polivalente, en la que se desafió con la cepa de Cerdo, y cuya concentración era de 2,500 millones de Bacterias/ ml. El % de vivos, fué del 100%, ya que de los ratones vacunados, no murió ninguno después del reto, durante los 20 días.

Haciendo una comparación del logaritmo de protección que obtuvieron los anteriores Autores, con este tipo de Bacterinas, varió entre 0.7 y 0.1, que es una ligera protección. (I3)

Las otras 2 Bacterinas; una de ellas mixta y la otra monovalente, que se desafiaron los lotes, con la cepa de Bovino, cuya concentración era de 800 millones de Bacterias/ ml.

La concentración de la Bacterina Mixta era de 2,200 millones de Bacterias/ ml. El % de vivos fué del 0%, y los animales murieron entre las 24 y 40 hrs. posterior a la inoculación de reto.

Antes de morir, los ratones presentaban el siguiente cuadro: Cianosis en mucosas y orejas, respiración rápida y superficial, posturación total. Al practicar la necropsia, se encontró Hígado y Pulmón hemorrágicos y Esplenomegalia.

Con las Bacterinas polivalentes y utilizando una cepa de Bovino, E.E. Ose et. al. obtuvieron un logaritmo de protección que varió entre 4.5 y 5.7 (I3)

En cuanto a la Bacterina monovalente, con una concentración de 5,700 millones de Bacterias/ ml. en la que el lote, también se desafió con la cepa de Bovino, el % de vivos fué del 0%. También en el estudio hecho por E.E. Ose et. al. la protección fué ligera, ya que el logaritmo de protección fué de 0.1 (I3)

Se han hecho diversos estudios, sobre la efectividad de las Bacte-

rinas de *Pasteurella Multocida* en forma experimental, como tambien en el campo, principalmente en Bovinos, en E. U.

Las Bacterinas conteniendo varias combinaciones de microorganismos, se han venido usando por muchos años. Pero de nuevo, tal como en el caso de los antisueros, los resultados, en la efectividad de su uso, han sido variables. (14)

Es obvio que la Pasteurellosis, no es el único factor en el complejo de la Fiebre de Embarque, como se pensó en algun tiempo. Sin embargo, tambien es obvio, que la *Pasteurella* juega, un papel importante en la patogenesis y pérdidas económicas, asociadas con este Complejo Respiratorio. (3)

En 1932, Farley; reportó sobre pruebas de Bacterinas que estaban en uso en aquel tiempo. Este reporte no era favorable para las Bacterinas, ya que se encontraron efectos contrarios después de su aplicación. (3)

Estas Bacterinas eran utilizadas en la siguiente forma:

El ganado era vacunado en el campo o, lugar de embarque, como tambien en su destino, o en ambas partes. Las pérdidas más pesadas se reportaron, en el ganado, que se le aplicó 2 veces la dosis.

Las indicaciones son; que una dosis de Bacterina, hizo susceptible al ganado a la enfermedad, y; 2 dosis de Bacterina hacen más susceptible al ganado, aun a la enfermedad. Se administró el producto 2 semanas antes, de que el ganado fuera expuesto a la enfermedad, o condiciones de Stress. (3)

En 1963, un reporte interesante de Palotay y Colaboradores; sobre el uso de Bacterinas para Pasteurellosis. En este estudio, se vacunaron becerros mucho antes de destetarlos, o al rededor de un mes antes del tiempo que se tenían que sujetar a condiciones de Stress.

Se reportó, un grado de morbilidad reducido, como resultado de la administración de un producto unactivado de *Pasteurella*. (3)

Los estudios de Schiper y Colaboradores; 2 dosis de Bacterina de *Pasteurella*, fallaron en dar protección adecuada al ganado, Sin embargo; la primera dosis, fué aplicada al ganado cuando los



reunieron en el campo de venta. En ese caso es probable, que no se hubiera efectuado la inmunización adecuada, antes de que el ganado fuera sujetado a tensión y expuesto a los agentes causantes de la Fiebre de Embarque. (3)

Hay un número de trabajos, en los cuales han investigado productos multivalentes, para la inmunización de un virus predisponente o varios virus desencadenantes de la enfermedad, con el fin de construir resistencia a los organismos de Pasteurella, ya que esta ataca en su fase más virulenta. Por lo que se aconseja, combinar agentes virales y bacterianos en una vacuna. (3)

Hamdy y Frap; usaron una vacuna combinada, que consistía: de virus de la Parainfluenza - 3, Pasteurella Hemolítica y Pasteurella Multocida, tipo II, III y IV, inactivados con formol. Bajo condiciones experimentales, esta vacuna proporcionó protección adecuada (6)

Pero, en dos pruebas de campo con este producto, la protección no fué significativa. El ganado fué vacunado 3 semanas antes de ser embarcado, inmediatamente antes del embarque y, a la llegada. (6)

Matsouka y Colaboradores; descubrieron también, una bacterina inactivada con formol, consistente en virus de la Parainfluenza - 3, Pasteurella Multocida y Pasteurella Hemolítica, que proporcionaba inmunidad bajo condiciones experimentales, no siendo así en el campo. (6)

La Titulación de Anticuerpos, se efectuó con los sueros de los ratones que no murieron durante los 20 días, posterior a la inoculación de reto.

Se trabajaron, un total de 26 sueros.

Los títulos que se hicieron, fueron de 1/25 hasta 1/1000.

Los resultados que se obtuvieron, en los sueros de los ratones que se inmunizaron con la Vacuna Pasteurella + Virus (import. americana)

fueron como sigue:

I/1000 fué del 50% de positivos; I/500 fué de 16.6%; I/200 fué de 22.2%; I/100 fué de 11.1%; I/50 fué de 5.5%.

El total de sueros, en este lote fueron; 18.

En los sueros de los ratones que se protegió con la Bacterina polivalente (nacional), en los diferentes títulos, los resultados fueron así:

I/1000 fué de 4%; I/500 fué de 0%; I/200 fué de 4%; I/100 fué de .8%; I/50 fué de 0%; I/25 fué de 4%.

El total de sueros, fueron 8.

El Departamento de Agricultura (U.S.D.A.) reporta; no ha sido aceptada ninguna prueba serológica, que mida los Anticuerpos de Pasteurella Multocida, tanto en Bovinos como en Porcinos. (13)

El Antígeno que se utilizó para la Titulación de Anticuerpos; se hizo a partir de cultivos de Pasteurella Multocida de Cerdo, y; los sueros eran de los ratones que se habían desafiado con el inóculo de Pasteurella Multocida de Cerdo.

Las Pasteurellas Multocidas; serológicamente se clasifican en 3 grupos, de acuerdo con Bergay's y Rosenbusch, (I) (II) por la fermentación de carbohidratos como; la Xilosa, Arabinosa y Dulcitol.

| GRUPO | XILOSA | ARABINOSA | MANITOL |                |
|-------|--------|-----------|---------|----------------|
| I     | -      | +         | +       |                |
| II    | +      | -         | -       |                |
| III   | +      | +         | +       |                |
| II    | +      | -         | -       | Cepa de Cerdo  |
| III   | +      | +         | +       | Cepa de Bovino |

La Vacuna de importación, contiene el Bio Tipo 6II, que tiene los tipos serológicos II y III. y ambos estan al 50%. A esta vacuna tambien la denominarémos No I.

La Bacterina Polivalente No. 2, contiene los tipos I y II; al

25% los 2 tipos serológicos.

La Bacterina Mixta o No. 3, contiene los tipos I, II y III al 25%.

La Bacterina monovalente o No. 4, contiene los tipos I, II y III al 100%.

Little y et. al., demostraron que todas las cepas altamente virulentas, representando cada tipo serológico, fallaron en dar reacciones aglutinativas con los antisueros de tipo heterologo. Así mismo, los antisueros monovalentes, protegieron a ratones de morir por organismos pertenecientes al tipo homologo, pero no pudieron protegerlos, con organismos de tipo heterologo. (II)

CONCLUSIONES:-

## CONCLUSIONES

- 1ra.- La D.L.50, de las cepas obtenidas fué de IO-5.5
- 2da.- La protección que hubo en la Vacuna No. I Fué del 93,7%.
- 3ra.- La protección que hubo en la Bacterina No. 2 fué del 100%
- 4ta.- La protección que hubo en la Bacterina No. 3 fué del 0%
- 5ta.- La protección que hubo en la Bacterina No. 4 fué del 0%
- 6ta.- No. de bacterias virulentas, que se utilizaron para la prueba de reto, de la cepa de Cerdo, fué de 685 millones de bacterias/ml.
- 7ma.- No. de bacterias virulentas, que se utilizaron en la prueba de reto, de la cepa de Bovino, fué de 800 millones de bacterias/ml.
- 8va.- No. de germen en la Vacuna No. I fué de 1,850 millones de Bacterias/ml.  
Bacterina No. 2, fue de 2,500 millones de bacterias/ml.  
Bacterina No. 3, fué de 2,200 millones de bacterias/ml.  
Bacterina No. 4, fué de 5,700 millones de bacterias/ml.

RESUMEN:-

## SUMARIO

La Evaluación de las Bacterinas de Pasteurella Multocida, para comprobar su efectividad tanto, en las tipo monovalente como, de tipo polivalente. Se hizo de acuerdo con la metodología para este tipo de Bacterinas.

Se formaron 4 lotes de 35 ratones, cada uno, correspondientes al número de Bacterinas que se trabajaron. Los ratones fueron vacunados con 0.2 dec. de c.c. de la Bacterina correspondiente al lote, por vía subcutánea, esperando un tiempo de 20 días, durante el cual no se observó alteración alguna en la conducta de los ratones. Al término, de este tiempo se llevó a cabo la prueba de desafío o reto; inoculando 0.2 dec. de c.c. también por vía subcutánea, utilizándose 2 cepas Pasteurella Multocida, procedentes una de ellas de Bovino y la otra de Cerdo.

En los dos lotes; que se inocularon con la cepa de Cerdo, el % de vivos, en el que se utilizó la Vacuna fué de 93.7%. De los 5 ratones control, murieron 3.

El % de Vivos, en el lote que se aplicó la Bacterina Polivalente, fué del 100%. Muriendo 3 de los ratones control.

Los ratones desafiados con la cepa de Bovino, el % de vivos, tanto en los protegidos con la Bacterina monovalente como, con la polivalente, fué del 0%.

La variabilidad de su efectividad, es notoria, como muchos autores en pruebas similares, ya lo habían comprobado.

Respecto a la Titulación de Anticuerpos, que se llevó a cabo con los sueros de los ratones que no murieron. El % de positivos en el título 1/1000 fue del 50%, con los sueros de los ratones que se inmunizaron con la vacuna. Y el % de positivos, en el título 1/1000 fué del 4%, en los sueros, de los animales protegidos con la Bacterina polivalente. Este tipo de pruebas serológicas para medir la cantidad de Ac., no se usan, por sus variantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:-



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Bergey's. Manual of Determinative Bacteriology 7ma. Ed. Baltimore, The Williams & Wilkins Company. 1957. 395-397 P.
- 2.- Delgado Cardenas, J. Jesus. Estudio Epizootiológico de Anticuerpos de Erisipela, por Aglutinación en Tubo, en Cerdos de Diferentes Areas del Pais. (Tesis) Guadalajara, U. de G. 1973.
- 3.- Engelbrecht, Harlen. Present Status of Immunization Procedures for Pasteurellosis. J.A.V.M.A. Vol. 152, 6 (March 15, 1968): 881 - 884 P
- 4.- Fehner, Joachim. Vacunas y Vacunaciones de los Animales Domésticos. Trad. por: Clemente Sanchez. G. M. Zaragoza (España), Edit. Acribia, 1966. 131 - 133 P.
- 5.- Garcia Lozano, Ricardo. Estudios Comparativos de las Enfermedades reportadas en el Laboratorio de Diagnóstico Central Regional de Tlaquepaque, Jalisco. En 7 años de diferencia (1965-1971) (Tesis) U.de G. 1973.
6. Glynn H. Frank. Comentation immunization Procedures for Pasteurellosis. J.A.V.M. A. Vol. 152, 6 (March. 15, 1968):884-886 P.
- 7.- A. H. Hamdy. Comenta. on Bovine Mixovirus Parainfluenza - 3. J.A.V.M.A. Vol. 152, 6 (March 15, 1968): 777 - 779 P
- 8.- Herbert, W. J. Inmunologia Veterinaria. Trad. por: J.M. Tarazona, Vilas. Zaragoza (España), Edit. Acribia, 1972. II4
- 9.- Howard W. Dunne. Disease of Swine. Third, Edition.

- 10.- P. H. Lamont. Reovirus. J.A.V.M.A. Vol. 152, 6 (March 15, 1968): 807 - 813 P
- 11.- Little, P.H; & Lyon, B.M.: Demonstration of Serological Types Within The Nonhemolytic Pasteurella. A.M.J. Vet. Res. 4, (Jan; 1943): 110 - 112 P.
- 12.- El Manual de Merck de Veterinaria. Primera Edición. Edit. por: Merck & Co. Inc. 1970. 283 P.
- 13.- E.E. Ose, & O.A. Muenster. A Method for Evaluation of Vaccines Containing Pasteurella Multocida. J.A.V.M.A. Vol. 99, 2 (September, 1968): 1863 -1866 P.
- 14.- Sulton, Max "L". Comments on Immunization Procedures for Pasteurellosis. J.A.V.M.A. Vol. 152, 6 (March 15, 1968): 886 - 888 P.

## PE DE ERRATAS

Dice: Matrial

Debe decir: Material

Dice: 0.2 dec. de c.c.

Debe decir: 0.2 c.c.

Dice: Discusión

Debe decir: Discución

Dice: Conclusiones

Debe decir: Conclusiones.

Dice: Tant

Debe decir: Tanto