



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

RESPUESTA SEROLOGICA DE AVES INOCULADAS CON  
DIFERENTES SEROTIPOS DE Haemophilus paragallinarum,  
UTILIZANDO ANTIGENO HOMOLOGO Y HETEROLOGO.

T E S I S

Que para obtener el Título de:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
p r e s e n t a

ROSA MARTHA SILVA MALDONADO

Cuautitlán, Edo. de Méx.

1 9 8 2



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## R E S U M E N

El objeto de esta investigación práctica, nació de la necesidad de participar en el control inmunológico de la enfermedad conocida como "Coriza Infecciosa" que ataca a las aves domésticas.

En el territorio nacional se ha reportado esta enfermedad infecciosa sin tener datos precisos de su aparición. Sin embargo son graves las pérdidas económicas causadas a la avicultura.

El método que se siguió fué detectando anticuerpos aglutinantes en las aves inmunizadas con 2 cepas diferentes, utilizando antígeno homólogo y heterólogo.

## I N D I C E

Capítulo I	
Introducción	1
Capítulo II	5
Características y serotipos del agente.	5
I.- Descripción de la enfermedad.	5
a).- Etiología	5
b).- Epizootiología	6
c).- Cuadro Clínico	6
d).- Patogenia	7
e).- Lesiones	8
f).- Diagnóstico	8
g).- Tratamiento	9
h).- Control	10
2.- Serotipos existentes.	12
Capítulo III	16
Material y Métodos	16
1.- Preparación del antígeno y la bacterina.	16
a).- Elaboración de la Bacterina	16

b).- Preparación del antígeno	19
2.- Grupos experimentales	20
a).- División del grupo experimental	20
b).- Obtención y manejo del suero	21
3.- Pruebas serológicas.	22
Capítulo IV	24
Resultados	24
1.- Método y evaluación.	24
2.- Lecturas y Gráficas	24
Capítulo V	43
Conclusiones y discusión	43
Bibliografía	45

## INTRODUCCION

La "Coriza Infecciosa", es una enfermedad infecciosa bacteriana de las aves producida por Haemophilus paragallinarum.

Es de distribución mundial, siendo un problema muy serio para la avicultura mexicana ya que se ha reportado en todo el país, principalmente en las zonas avícolas del Norte, el Bajío y el Valle de --- México. ( 5 )

Esta enfermedad produce grandes pérdidas económicas, considerando en términos de rentabilidad y en la producción de huevo, pues un brote de Coriza es peor que la muerte, ya que las aves que no mueren continúan comiendo, no obstante ponen algunos huevos.

Cuando la enfermedad se manifiesta, la cantidad de aves infectadas en los lotes de postura y en los de pollitas puede alcanzar hasta el 80%, y las pérdidas en la producción de huevo pueden ser de hasta un 40%. ( 7 ).

Se había observado que los brotes se presentaban principalmente en las pollas de reemplazo, pero ahora este problema ha sido reportado en pollos de engorda. ( 8 )

En un experimento de los Doctores Yamamoto y Matsumoto, (no publicado), en el cual al tercer día del desafío (en aves vacunadas y desafiadas con cepa 17756), el 100% de las aves vacunadas con un producto propagado en huevo presentaron signos de Coriza y solo el 11% de las vacunadas con un producto elaborado con caldo de infusión de pollo, mostraron signos de Coriza. Los sueros de estas aves en el momento del desafío, mostraron anticuerpos aglutinantes en el 82% de las aves vacunadas con el producto en caldo y solamente el 5% de las que recibieron el producto desarrollado en huevo. ( 7 )

En el presente estudio queremos establecer las bases para una prueba que nos permita valorar la respuesta inmune a las bacterinas, detectando anticuerpos aglutinantes contra Haemophilus paragallinarum, utilizando 2 cepas que se conocen como Modesto y W, correspondientes a los serotipos C y A clasificados por Page; para elaborar las bacterinas y antígenos y poder realizar aglutinaciones homólogas y heterólogas, lo cual nos permitirá en el futuro aplicar esta prueba en el campo y valorar la respuesta inmune a las bacterinas y la presencia de portadores sanos, ya que actualmente no sabemos los serotipos

prevalentes en México y en algunas ocasiones tampoco los serotipos que se utilizan para la producción de bacterinas contra este agente.

El control de este problema se ha venido realizando por medio de agentes inmunizantes preparados a partir de diferentes tipos de - caldo, embrión de pollo, exposición controlada o bien por combinación de los dos últimos .

De acuerdo a los últimos reportes, las bacterinas preparadas a partir de caldos son las más eficientes para proteger contra las lesiones en sacos aéreos, contra morbilidad, baja postura y presencia de portadores sanos. ( 8 )

La investigación referente a la respuesta inmune de las aves infectadas o inmunizadas contra Haemophilus paragallinarum, no ha tenido el mismo impulso que la utilización de agentes inmunizantes contra esta enfermedad o aún las características del agente mismo.

La respuesta inmune contra "Coriza infecciosa", incluye la inmunidad humoral y celular pero debido a la falta de una prueba que nos permita determinar la inmunidad celular, la humoral se usa como indica-dor de la resistencia general a la enfermedad (7).



Las pruebas serológicas de aglutinación y de inhibición de la hemoaglutinación ( HI ) han sido usadas para determinar la resistencia de las aves inmunizadas contra este agente. (12)

## CAPITULO II

### CARACTERISTICAS Y SEROTIPOS DEL AGENTE

#### 1.- Descripción de la enfermedad

##### a).- Etiología

Como se mencionó anteriormente, la Coriza Infecciosa es una enfermedad bacteriana que ataca a las aves de corral, es producida por Haemophilus paragallinarum. El cual es un cocobacilo pequeño gram negativo que mide de 1 a 3 milimicras de largo y 4.08 milimicras de ancho, es bipolar no móvil y - catalasa negativo, crece en agar sangre y para su crecimiento necesita de una bacteria nodriza como el Staphilococcus--epidermidis, que le confiere el Nicotin Adenin Dinucleotido (NADH) Factor V, indispensable para el crecimiento de esta bacteria ó bien se le adiciona en forma sintética a razón de 2.5 mg/lit. Es microaerofilico, sus colonias crecen satélites al Staphilococcus epidermidis ( 1, 14 ).

También ha sido adaptado a crecer en medio de caldo como el de Casman, el de Infusión Cerebro Corazón y el de Pollo, a los cuales se les adiciona el NADH, en la misma propor-

ción antes mencionada y 5% de suero de caballo; en este medio el crecimiento se determina por turbidez 24 horas "Post-inoculación" ( 1 ).

b).- Epizootiología

El reservorio principal de esta enfermedad es por medio de portadores sanos y de parvadas recuperadas o bien, cuando se compran pollas en desarrollo o pelecha, que padecieron la enfermedad y que están aparentemente sanas y también en granjas en donde se tienen aves de diferentes edades ( 2 ).

La transmisión mecánica o biológica no ha sido comprobada ya que Haemophilus paragallinarum es poco resistente al medio ambiente y en el agua de bebida se inactiva de 3 - 4 horas ( 1 ) .

c).- Cuadro Clínico

La enfermedad se inicia con descarga nasal, la cual al principio es serosa, se torna mucopurulenta, propagándose hacia los senos nasales y la conjuntiva palpebral dando lugar al edema facial, también se presenta inflamación de las barbillas.

Hay estornudos y estertores traqueales; lo cual indica que la tráquea y los sacos aéreos se involucran en este cuadro.(2)

Hay además una marcada disminución en el consumo de alimento y en aves de postura ésta llega a disminuir hasta un 40%, en las que están en desarrollo también disminuye la tasa de crecimiento, y esto trae como consecuencia un aumento de aves eliminadas de la producción.

Normalmente la infección es de rápido desarrollo y de corta duración. Cuando sucede en la forma pura, los signos se observan de 1 a 3 días, pero generalmente los brotes de --- campo vienen complicados principalmente con Mycoplasma --- gallisepticum, en donde la enfermedad tiene una gran duración y rápido desarrollo; aunque también se puede complicar con --- Viruela, Bronquitis Infecciosa, Laringotraqueitis y Pasteurelisis Aviar; formando así el complejo de enfermedades respiratorias. (9).

d).- Patogenia

La gravedad y duración de la enfermedad en los diferentes brotes esta influida por la virulencia de la cepa infectante, ---

agentes complicantes y factores ambientales. Comúnmente la Coriza infecciosa causa poca mortalidad, aunque existen reportes en donde ha causado alta mortalidad. ( 1 )

También se ha observado que puede atacar aves de cuatro semanas de edad en adelante, pero los síntomas son más severos conforme aumenta la edad de los animales. Siendo más común en granjas de postura ya que éstas mantienen edades múltiples, además que las pérdidas económicas son mayores, pues además de la mortalidad y el número de aves eliminadas baja la producción de huevo. ( 7 )

e).- Lesiones

Microscópicamente las lesiones histopatológicas que generalmente se presentan en la cavidad nasal, senos infraorbitarios y tráquea es desprendimiento, desintegración e hiperplasia con infiltración granulocítica en la túnica propia de la membrana mucosa. ( 8 ).

f).- Diagnóstico

El diferencial se hace con las enfermedades respiratorias como enfermedad Crónica Respiratoria, Colera Aviar o bien con enfermedades carenciales como en el caso de Avitaminosis A. ( 8 )

El diagnóstico definitivo se realiza por el aislamiento del agente en las aves, cuando éstas se encuentran en la fase aguda; aislándose de los senos infraorbitarios, ( la piel sobre los senos es desinfectada quemándola con una espátula caliente y se incide con unas tijeras estériles, la muestra se obtiene introduciendo un hisopo de algodón estéril y se siembra en las condiciones que requiere esta bacteria).

g). Tratamiento

Este se ha venido realizando por medio de agentes antimicrobianos, como son los antibióticos ( eritromicina, oxitetraciclina y estreptomycin) y las sulfas como el sulfatiazol y la sulfadimetoxina. La elección del antibiótico va a depender de la resistencia de la bacteria, en base a los resultados en tratamientos anteriores o pruebas de sensibilidad. Durante un brote el consumo de alimento disminuye de un 5 a 10% y cualquier tratamiento que aumente el consumo es benéfico. ( 11 )

El principal problema que se presenta después del tratamiento con antimicrobianos es que frecuentemente hay recaídas y además no se eliminan a los portadores sanos, que son el principal reservorio de la enfermedad.( 1 )

h).- Control

Este se ha venido realizando por medio de agentes inmunizantes que incluyen diferentes tipos de bacterinas propagadas en embrión de pollo e inactivadas en formalina, estas casi siempre se preparan con un solo serotipo de Haemophilus paragallinarum y al ser inmunizadas las aves se protegen en un 5%.

Este porcentaje de inmunización se aumenta desafiando a las aves y así el porcentaje de inmunidad puede llegar a un 70%.

( 8 ).

El desaffo se realiza con organismos aislados de la misma granja e introduciéndolos en el agua de bebida o bien poniendo en contacto aves en desarrollo con aves que ya padecieron la enfermedad.

A pesar de que este método ha dado buenos resultados la principal e importante desventaja es que se presentan signos de la enfermedad como aerosaculitis, baja de postura y presencia de portadores sanos que prevalece en la granja, por lo que este método ha bajado su utilización en la avicultura ( 8 ).

Existen otros tipos de bacterinas como son las propagadas en caldo y su uso esta aumentando debido a que protegen en un

85%, disminuyendo el número de aves con signos clínicos y la presencia de portadores sanos. Estas bacterinas se preparan a partir de diferentes tipos de caldo como el Casman, Infusión - Cerebro Corazón y el de Pollo suplementados con suero de caballo y NADH e inactivadas con timerosal y absorbidas en -- Hidróxido de aluminio ( 1 ) .

Una de las características que deben reunir estas bacterinas para que den una buena respuesta inmune, es que usen por lo menos dos serotipos diferentes en la elaboración de éstas, debido a los diferentes antígenos existentes de esta bacteria ( 13 ).

También para controlar esta enfermedad se han realizado diferentes prácticas de manejo; una de ellas es la despoblación total de la granja afectada e introducir aves de un dfa como reemplazo o bien separar los alojamientos de crianza, desarrollo y producción ( 2 ).

Por lo anteriormente expuesto, se recomienda el uso de bacterinas propagadas en caldo y pruebas serológicas que nos permitan la detección de anticuerpos aglutinantes en portadoras sanas y - poder así eliminarlas y llegar a establecer programas de erradicación tanto a nivel nacional como regional.



2.- Serotipos existentes

Utilizando la prueba rápida de aglutinación en placa, Page (1977) clasificó 3 serotipos A, B, C. de Haemophilus para gallinarum; estos serotipos comparten fracciones antigénicas comunes ya que un antígeno preparado a partir de un serotipo detecta anticuerpos de aves afectadas o inmunizadas. ( 13 ).

Pero aparentemente para el ave, utilizar un solo serotipo no es suficiente para protegerla contra el desafío heterólogo ( 12 ).

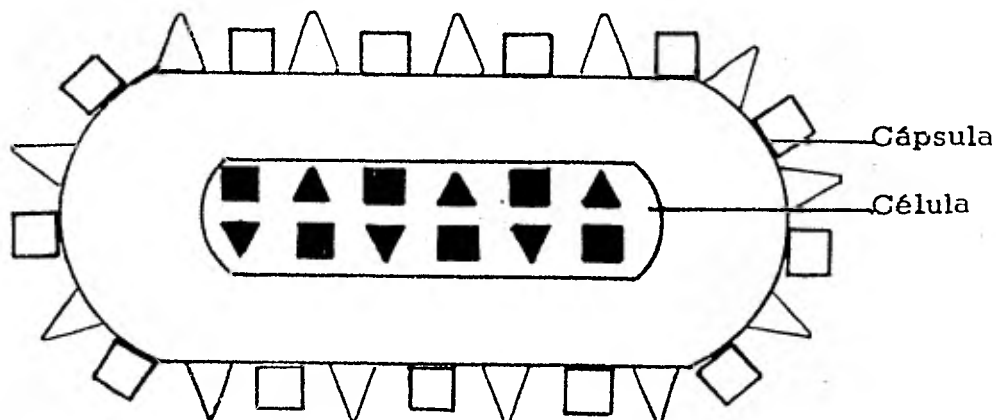
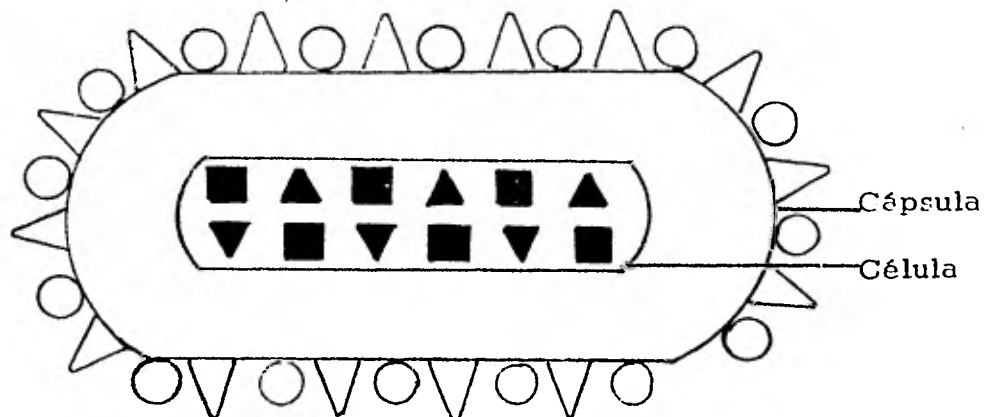
Ejemplo :

	<u>Patógeno</u> <u>Aves</u>	<u>Anticuerpos</u> <u>HI</u>	<u>Anticuerpo I</u> <u>Vs.</u> <u>Antiserotipo I</u>	<u>Anticuerpo II</u> <u>Vs.</u> <u>Antiserotipo II</u>
Serotipo I	+	+	+	-
Serotipo II	+	-	-	+

En trabajos más recientes realizados en el Japón han reportado la existencia de solo dos serotipos I y II (correspondientes al A y C de Page), en los que las propiedades protectoras están relacionadas a un antígeno sensible a la tripsina ( L<sub>I</sub> L<sub>II</sub>), cuando éste se inocula en aves produce una aglutinina específica del -

serotipo y las aves que desarrollan anticuerpos están protegidas contra el desafío homólogo pero no contra el heterólogo ( 3 ).

ESTRUCTURA ANTIGENICA DE HAEMOPHILUS PARAGALLINARUM



En estos esquemas se expresa que ambos serotipos comparten fracciones antigénicas somáticas pero no capsulares.

○ = L<sub>1</sub> = A Termolabil

□ = L<sub>2</sub> = C Sensible a la tripsina

△ = L<sub>3</sub> = A y C sensible a la tripsina y termolabil ( 3 ) .

En Alemania Hinz ( 1976 ), reportó la presencia de dos serotipos el A y B.

COMPARACION DE LOS SEROTIPOS RECONOCIDOS

<u>U.S.A.</u> <u>PAGE</u>	<u>ALEMANIA</u> <u>HINZ</u>	<u>JAPON</u> <u>KUME</u>
A	A	1
B	B	--
C	--	2

Por lo anteriormente expuesto nos hace suponer que en México prevalecen los serotipos A y C que han sido los que más comunmente se han reconocido en Japón y Estados Unidos de Norte América.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

1.- Preparación del antígeno y la bacterina.

Para la preparación del antígeno y bacterina se emplearon las cepas Mdesto y W, proporcionadas por los Laboratorios Farm, S.A. - procedentes de los Doctores Richard B. Davis y R.B. Rimbler del -- Centro de Investigaciones de Enfermedades Aviares y la Universidad de Georgia ( U.S.A. ); en donde también se desarrollo una de las - bacterinas propagada en caldo.

a).- Elaboración de la bacterina

El medio utilizado para la elaboración de esta bacterina es el caldo Casman que contiene los siguientes ingredientes:

Por cada litro de agua destilada.

Polipeptona	10.0 g.
Biotriptasa	10.0 g.
Extracto de levadura	3.0 g.
Nicotinamida	0.05 g.
Acido para Amino Benzóico	0.05 g.
Almidón soluble	1.0 ml
Dextrosa	0.5 g.

Cloruro de sodio	9.0
Tween 80	1.0 ml
Medio de Leptospira base	2.3 g.

Esterilizar a 121 °C por 15 minutos

Con un pH final de 7.5 ( 7 ).

Ambas cepas Modesto y W, son conservadas en congelación y se recuperan de esta forma para iniciar la bacterina, inoculando 5 embriones libres de patógenos específicos ( SPF ) de 7 días de edad por cada cepa, vía saco vitelino, inoculando 0.1 ml por --- embrión.

24 horas post-inoculación y si los embriones han muerto, se procede a inocular tubos de ensaye, los cuales previamente serán preparados con 50 ml de medio, suplementado con NADH a razón de 2.5 mg/lt. y 5% de suero de caballo. A cada tubo se le adiciona 2.5 ml del cultivo del saco vitelino y se incuba por 24 horas.

Transcurrido este tiempo si la bacteria ha crecido se procede a inocular matraces Erlenmeyer de rosca de 500 ml (conteniendo 400 ml de medio Casman enriquecido ), con 5 ml del contenido de los tubos, se vuelve a incubar 24 horas, determinando el crecimiento por turbidez.

Garrafrones que contienen 20 litros de medio enriquecido son inoculados con el contenido de los matraces y se incuban nuevamente.

Transcurridas las 24 horas se inactiva la bacterina con Time rosal a una concentración de 1: 10,000.

Cada cepa se prepara por separado y antes de adicionar el adyuvante se pone 50% de cada cepa para formar la bacterina bivalente, (es como comercialmente se elabora ).

El adyuvante utilizado es el Gel de Hidróxido de aluminio al 25% ( 4 ) .

#### Titulación' de la Bacterina

Cada cepa se titula por separado, se toman muestras de cada una antes de inactivar, para determinar el recuento viable (Número de micro-organismos por ml. ).

Esta titulación se realiza en embriones de pollo de 7 días de edad, usando como base para las diluciones, caldo de tripticaseína y fosfato.

Las diluciones son decimales, debiendo tener un título mínimo de  $10^8$  D.L. ( Dosis letal embrión ), 50% por ml de bacterias, que

debe contener una dosis ( 6 ).

Prueba de pureza. - Libre de contaminantes, esta se realiza en medio de Agar de Infusión Cerebro Corazón, para detección de bacterias y Dextrosa Sabouraud para hongos.

Almacenamiento. - En refrigeración entre 2 y 4 °C

b).- Preparación del antígeno

Este se elaboró adaptando el método descrito por los doctores R. Yamamoto y D.T. Somersset ( 12 ).

Durante la elaboración de la bacterina, después que haya sido inactivada, se toma un litro de cada cepa. Esto es centrifugado a 6,000 rpm. durante 20 minutos y lavado tres veces con solución salina amortiguadora de fosfatos ( PBS ), para ser cosechado.

De lo anterior se obtuvo un concentrado de 100 ml, el cual contenía  $10^9$  organismos por ml., se realizaron diferentes diluciones del antígeno para determinar la dilución óptima.

Para este fin se utilizaron sueros positivos de referencia los cuales se diluyeron por PBS como sigue:



<u>Dilución del antígeno</u>	<u>Diluciones del Suero</u>					
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
1:1	+++	+++	++	+	+	+
1:2	+++	++	+	+	+	+
1:3	++	++	++	+	+	+
1:4	++	+	+	+	+	+
1:5	+	+	+	-	-	-
1:6	+	-	-	-	-	-

Se seleccionó la dilución 1:4 del antígeno, ya que en ésta, la reacción de aglutinación se mantuvo más uniforme, clara y dió menor cantidad de sueros dudosos, mientras que las diluciones más bajas, se formaban tantos grumos que era difícil determinar el grado de aglutinación.

## 2.- Grupos experimentales

a).- Se utilizaron 100 aves de postura de la Unidad de Producción Agropecuaria de la FES - Cuautitlán, de la raza Babcock de 70 semanas de edad, que estaban en su primer ciclo de producción y que no habían padecido clínicamente Coriza-Infeciosa; el estar libres de la enfermedad, se comprobó realizando pruebas de aglutinación en tubo para la detección de anticuerpos contra H. paragallinarum.

El lote fué dividido de la siguiente manera:

- Grupo I 10 aves que fungieron como testigos y no recibieron ninguna inoculación.
- Grupo II Constó de 30 aves, las cuales fueron inoculadas con 2 dosis de 1 ml. cada una, una ( intramuscular ) con un intervalo de 15 días con una bacterina preparada a partir de la cepa W.
- Grupo III Con igual número de aves y la misma metodología, solo que aquí se empleó la cepa Modesto.
- Grupo IV También con 30 aves e igual inoculación pero aquí se utilizó una bacterina preparada con ambas cepas.

Quince días después de la primera dosis, las aves fueron sangradadas para obtener suero y se les aplicó la segunda y última dosis de bacterina en la misma forma que la primera. Pasados 15 días de la segunda aplicación se volvieron a sangrar para obtener suero nuevamente.

b).- Obtención y manejo del Suero

El sangrado se realizó de la vena axial obteniéndose aproximadamente 5 ml de cada animal, la sangre se depositaba en tubos de ensaye de 10 ml, los cuales se dejaban inclinados por 24 horas a

Temperatura ambiente, de tal manera que se obtuviera la mayor cantidad posible del suero. Cada muestra dió un promedio de 1.5 ml de suero.

Posteriormente fueron centrifugados para clarificarlos a 2,500 rpm. durante 10 minutos y posteriormente congelados para su conservación.

### 3.- Pruebas Serológicas.

Una vez que se obtuvo la dilución óptima para el antígeno y que se obtuvieron los sueros, se realizó la prueba serológica de aglutinación lenta en tubo, por medio de diluciones dobles de los sueros que fueron de 1:2 a 1:64 ( primera aglutinación ) y de 1:2 a 1:128 ( segunda aglutinación ) usando como base para diluir el PBS; posteriormente se adiciona el antígeno diluido (1:4) a razón de 0.5 ml. a cada dilución, mezclándolo y se incubaron a 37°C por 24 horas.

Las pruebas serológicas se realizaron en los grupos experimentales de la siguiente manera:

Al grupo I testigo, se realizaron las pruebas usando ambos antígenos por separado.

Grupos II y III, fueron probados con su antígeno homólogo y heterólogo.

Grupo IV, se probó combinando en la misma proporción los antígenos de ambas cepas, ya que este lote se inmunizó con bacterina bivalente, que es como se utiliza en forma comercial.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### 1.- Método de evaluación.

Para evaluar las reacciones de aglutinación se estableció una escala de cruces ( +++ ), ( ++ ), ( + ) y ( - ) Negativo, dependiendo del grado de aglutinación de cada tubo y se tomó como positivo hasta la última cruz; ó sea el último tubo que mostraba reacción.

A cada dilución se le dió un valor numérico progresivo a la última muestra en la cual se obtuvo reacción positiva se le denominó Título Logarítmico ( TL ).

Los Títulos Geométricos medios de cada grupo se obtuvieron mediante la suma de los Títulos Logarítmicos individuales, dividido entre el número de muestras.

A cada serie de tubos en prueba, se ponía un tubo testigo que contenía 50% de PBS y 50% de suero, si éste aglutinaba se daba a toda la prueba como negativa.

#### 2.- Lecturas y Gráficas

Los resultados correspondientes a la primera y segunda aglutinación se dan al calce de los cuadros correspondientes a la lectura de cada cepa.

Iniciales utilizadas en los cuadros de lectura.

T.L. = Título Logarítmico

HOM = Homólogo

HET = Heterólogo

NH = No se hizo

1' 2' 3' = Antígeno Heterólogo

1, 2, 3 = Antígeno Homólogo

LECTURA DE LA PRIMERA PRUEBA DE AGLUTINACION

CEPA W

Número del Suero	DILUCION DEL SUERO					T.L.	T.L.
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	HOM	HET
1	+++	+++	++	+	-	4	/
1'	/	/	/	/	/	/	NH
2	-	-	-	-	-	0	/
2'	-	-	-	-	-	/	0
3	-	-	-	-	-	0	/
3'	-	-	-	-	-	/	0
4	±	±	-	-	-	1	/
4'	-	-	-	-	-	/	0
5	+++	+++	++	+	-	4	/
5'	++	++	+	-	-	/	3
6	+++	+++	+++	++	+	5	/
6'	+++	++	+	+	+	/	5
7	+++	++	-	-	-	2	/
7'	++	++	+	-	-	/	3
8	+++	+++	++	±	±	4	/
8'	++	++	+	+	-	/	4
9	++	+	+	+	+	5	/
9'	-	-	-	-	-	/	0

						T.L.	T.L.
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	HOM	HET
10	++	++	++	±	±	4	/
10'	++	+	+	-	-	/	3
11	+	+	-	-	-	2	/
11'	/	/	/	/	/	/	NH
12	+	-	-	-	-	1	/
12'	/	/	/	/	/	/	NH
13	-	-	-	-	-	0	/
13'	/	/	/	/	/	/	NH
14	+++	++	++	+	-	4	/
14'	+	-	-	-	-	/	1
15	++	+	+	+	+	5	/
15'	/	/	/	/	/	/	NH
16	++	+	+	+	-	4	/
16'	/	/	/	/	/	/	NH
17	++	+	+	+	+	5	/
17'	/	/	/	/	/	/	NH
18	+++	++	+	-	-	3	/
18'	-	-	-	-	-	/	0
19	-	-	-	-	-	0	/
19'	/	/	/	/	/	/	NH
20	++	++	++	+	+	5	/
20'	-	-	-	-	-	/	0



						T.L.	T.L.
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	HOM	HET
21	++	++	++	+	+	5	/
21'	/	/	/	/	/	/	NH
22	-	-	-	-	-	0	/
22'	-	-	-	-	-	/	0
23	-	-	-	-	-	0	/
23'	/	/	/	/	/	/	NH
24	++	+	+	-	-	3	/
24'	/	/	/	/	/	/	NH
25	-	-	-	-	-	0	/
25'	-	-	-	-	-	/	0

La suma de los títulos logarítmicos ( T. L. ) en el homólogo fué de 66, entre 25 muestras nos dan:

2.64 = Título geométrico medio ( ver gráfica I ).

El Heterólogo nos dá una suma de T.L. 19 dividido entre 14 muestras

1:36 = Título geométrico medio ( Ver gráfica I ).

CEPA MODESTO

No. del Suero	Dilución del Suero					T.L. HOM	T.L. HET
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32		
1	+++	++	+	-	-	3	/
1'	/	/	/	/	/	/	N.H.
2	+	-	-	-	-	1	/
2'	-	-	-	-	-	/	0
3	-	-	-	-	-	0	/
3'	/	/	/	/	/	/	N.H.
4	++	++	-	-	-	2	/
4'	/	/	/	/	/	/	N.H.
5	+++	+++	++	+	+	/	/
5'	+	+	-	-	-	/	2
6	+	+	+	+	-	4	/
6'	-	-	-	-	-	/	0
7	++	++	+	+	+	5	/
7'	/	/	/	/	/	/	N.H.
8	++	++	+	-	-	3	N.H.
8'	/	/	/	/	/	/	N.H.
9	++	-	-	-	-	1	/
9'	/	/	/	/	/	/	N.H.



	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	T.L. HOM	T.L. HET
20	++	++	-	-	-	2	/
20'	/	/	/	/	/	/	H.H.
21	++	++	+	-	-	3	/
21'	/	/	/	/	/	/	N.H.
22	+++	+++	++	<u>±</u>	-	3	0
22'	/	/	/	/	/	/	N.H.

Cepa Modesto

Homólogo, la suma de los TL es de 46 entre 22 muestras.

$$\text{TGM} = 2.09$$

Heterólogo = TL 6 entre 9 muestras.

$$\text{TGM} = .66$$

( Ver gráfica I ).

CEPAS MODESTO Y W

(Combinadas)

No. del Suero	Dilución del Suero					T.L.
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
1	+++	+++	++	+	-	4
2	++	++	-	-	-	2
3	-	-	-	-	-	0
4	+++	+++	++	++	+	5
5	++	++	-	-	-	2
6	-	-	-	-	-	0
7	-	-	-	-	-	0
8	+	-	-	-	-	1

Modesto y W la suma de T.L. es de 14 entre 8 muestras

TGM = 1.75

( Ver gráfica 1 ).

LECURA DE LA SEGUNDA PRUEBA  
DE AGLUTINACION

CEPA W

No. del Suero	<u>CEPA W</u>							T.L. HOM	T.L. HET
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128		
1	++	+	+	+	-	-	-	4	/
1'	+	+	+	-	-	-	-	/	3
2	+	+	+	-	-	-	-	3	/
2'	+	+	-	-	-	-	-	/	2
3	++	+	+	-	-	-	-	3	/
3'	++	+	+	-	-	-	-	/	3
4	++	++	+	-	-	-	-	2	/
4'	++	++	+	-	-	-	-	/	3
5	++	+	+	+	-	-	-	4	/
5'	++	+	+	-	-	-	-	/	3
6	++	+	+	-	-	-	-	3	/
6'	++	+	-	-	-	-	-	/	2
7	++	++	+	+	+	-	-	5	/
7'	++	++	+	-	-	-	-	/	3
8	++	++	+	-	-	-	-	3	/
8'	++	++	-	-	-	-	-	/	2

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	T.L. HOM	T.L. HET
9	++	++	++	++	++	++	+	7	/
9'	++	++	+	+	+	-	-	/	5
10	-	-	-	-	-	-	-	0	/
10'	-	-	-	-	-	-	-	/	0
11	+++	++	++	+	+	-	-	5	/
11'	/	/	/	/	/	/	/	/	NH
12	++	++	++	++	+	+	+	7	/
12'	++	++	+	+	+	-	-	/	5
13	+	+	-	-	-	-	-	2	/
13'	+	+	+	-	-	-	-	/	2
14	+	+	+	+	+	+	+	7	/
14'	+	+	-	-	-	-	-	/	2
15	+	+	+	+	-	-	-	4	/
15'	+	+	+	+	-	-	-	/	4
16	++	++	++	++	++	+	+	7	/
16'	++	++	+	+	+	-	-	/	5
17	++	+	+	+	-	-	-	4	/
17'	++	+	+	+	-	-	-	/	4
18	++	++	+	+	+	-	-	5	/
18'	++	++	+	+	-	-	-	/	4

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	T.L. HOM	T.L. HET /
19	-	-	-	-	-	-	-	0	/
19'	-	-	-	-	-	-	-	/	0
20	++	++	+	+	-	-	-	4	/
20'	++	+	+	+	-	-	-	/	4
21	++	+	+	-	-	-	-	3	/
21'	+	+	-	-	-	-	-	/	2
22	+++	+	+	-	-	-	-	3	/
22'	++	+	+	+	-	-	-	/	4
23	-	-	-	-	-	-	-	0	/
23	-	-	-	-	-	-	-	/	0
24	+	+	+	-	-	-	-	3	/
24'	-	-	-	-	-	-	-	/	0
25	++	++	+	+	+	-	-	5	/
25'	+	+	+	-	-	-	-	/	3
26	+	-	-	-	-	-	-	1	/
26'	+	+	+	-	-	-	-	/	3

**Cepa W**

Homólogo, la suma de los TL es de 94 dividido entre 26 muestras

TGM = 3.61

Heterólogo, la suma de los TL es de 64 dividido entre 25 muestras

TGM = 2.72

( Ver gráfica II ).



CEPA MODESTO

Número de Sueros	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	T.L HOM	TL HET
1	++	+	+	+	+	-	-	5	/
1'	++	+	+	+	+	-	-	/	5
2	++	+	+	+	+	-	-	5	/
2'	+	+	+	+	+	-	-	/	5
3	+	+	+	+	-	-	-	4	/
3'	+	+	+	+	+	-	-	/	5
4	++	++	++	+	+	-	-	5	/
4'	++	++	+	+	+	-	-	/	5
5	++	+	+	-	-	-	-	3	/
5'	+	+	-	-	-	-	-	/	2
6	+	+	+	+	-	-	-	4	/
6'	+	-	-	-	-	-	-	/	1
7	-	-	-	-	-	-	-	0	/
7'	-	-	-	-	-	-	-	/	0
8	++	++	+	+	+	-	-	5	/
8'	+	+	+	+	-	-	-	/	4
9	+	+	+	-	-	-	-	3	/
9'	+	+	+	-	-	-	-	/	3
10	++	+	+	+	+	-	-	5	/
10'	+	+	+	-	-	-	-	/	3

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	TL HOM	TL HET
11	+	+	+	-	-	-	-	3	/
11'	+	+	+	-	-	-	-	/	3
12	++	++	+	+	-	-	-	4	/
12'	++	+	+	+	-	-	-	/	4
13	++	+	-	-	-	-	-	2	/
13'	++	++	+	+	+	-	-	/	5
14	++	+	+	=	+	-	-	5	/
14'	++	+	+	+	-	-	-	/	5
15	++	++	+	+	+	-	-	5	/
15'	++	+	+	+	+	-	-	/	5
16	+	+	+	+	-	-	-	4	/
16'	+	+	-	-	-	-	-	/	2
17	++	++	+	+	+	-	-	5	/
17'	++	+	+	-	-	-	-	/	3
18	-	-	-	-	-	-	-	0	/
18'	-	-	-	-	-	-	-	/	0
19	+	+	+	+	-	-	-	4	/
19'	+	+	+	-	-	-	-	/	4
20	++	+	+	+	-	-	-	4	/
20'	++	++	+	+	-	-	-	/	3
21	+	+	+	+	+	-	-	5	/
21'	+	+	-	-	-	-	-	/	2

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	TL HOM	TL HET
22	++	++	+	+	+	-	-	5	/
22'	++	+	+	-	-	-	-	/	2
23	+	+	-	-	-	-	-	2	/
23'	+	+	+	-	-	-	-	/	2
24	++	-	-	-	-	-	-	1	/
24'	-	-	-	-	-	-	-	/	0
25	+	+	-	-	-	-	-	2	/
25'	+	+	-	-	-	-	-	/	2
26	++	+	+	+	+	-	-	5	/
26'	+	+	+	-	-	-	-	/	3
27	++	++	+	+	+	-	-	5	/
27'	+	+	+	-	-	-	-	/	3

Cepa Modesto

Homólogo, la suma de TL es de 100 dividido entre 27 muestras.

$$TGM = 3.70$$

Heterólogo, suma de TL dividido entre 27 muestras

$$TGM = 2.92$$

( Ver gráfica II ).

CEPAS MODESTO Y W

No. del Suero	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	T.L.
1	+	+	+	+	-	-	-	4
2	++	++	+	+	+	-	-	5
3	++	++	+	+	+	-	-	5
4	+	+	+	+	+	-	-	5
5	+++	++	++	+	+	-	-	5
6	++	++	+	+	+	-	-	5
7	++	++	+	+	+	-	-	5
8	++	+	+	+	-	-	-	4
9	++	++	+	+	+	-	-	5
10	++	+	+	+	-	-	-	4
11	++	++	+	+	+	-	-	5
12	++	++	+	+	-	-	-	4
13	++	+	+	+	+	-	-	5
14	+	+	+	+	-	-	-	4
15	++	+	+	+	-	-	-	4
16	++	++	+	+	-	-	-	4
17	+++	++	++	++	++	-	-	5
18	++	+	+	+	+	-	-	5
19	++	++	+	+	+	-	-	5

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1: 64	1:128	TL
20	+	+	+	+	+	-	-	5
21	++	+	+	+	+	-	-	5
22	+	+	+	+	+	-	-	5
23	+	+	+	+	+	-	-	5
24	++	++	+	-	-	-	-	6

Modesto y W.

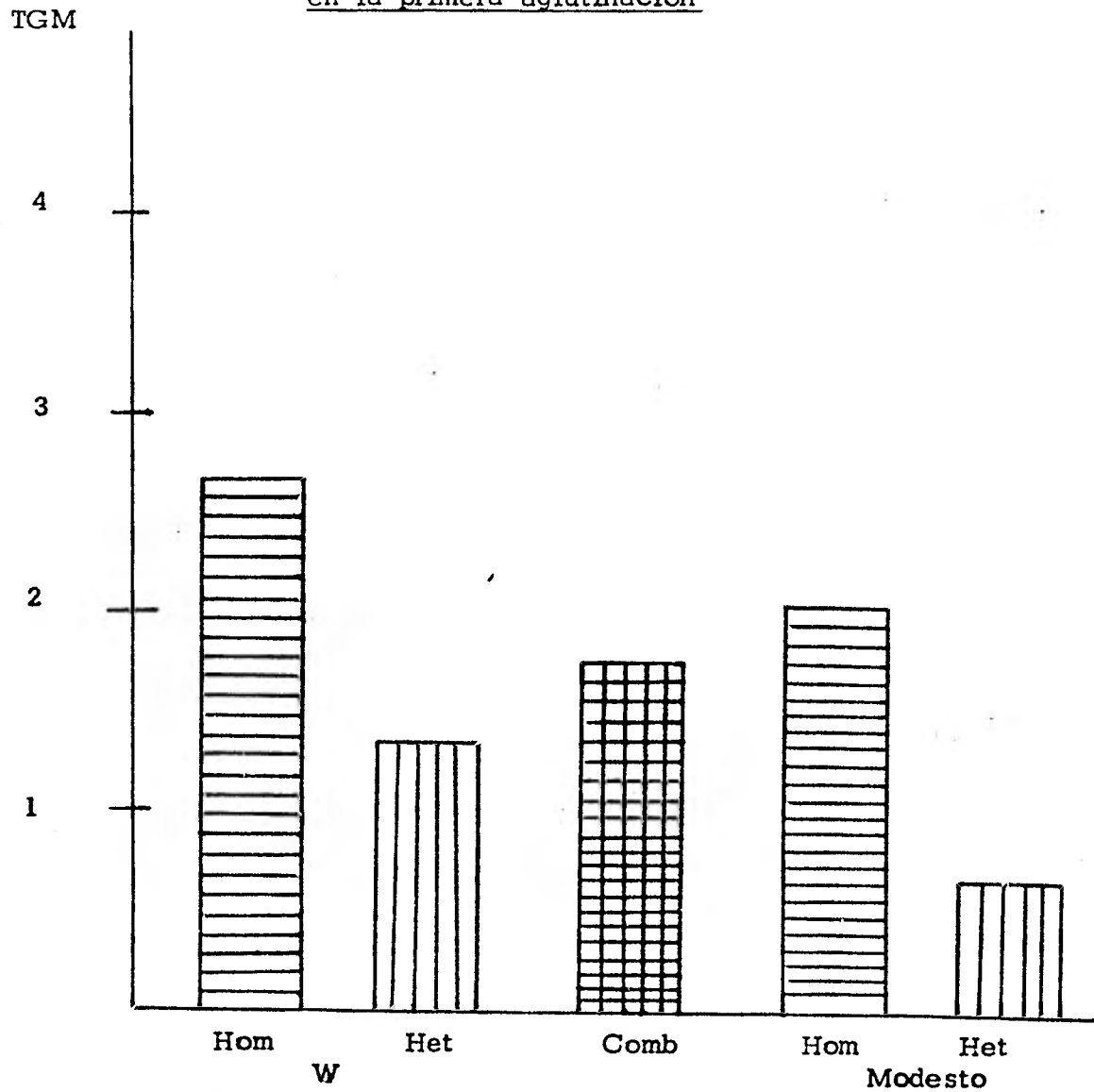
La suma de TL es de 113, dividido entre 24 muestras

TGM = 4.70

( Ver gráfica II ).

GRAFICA I

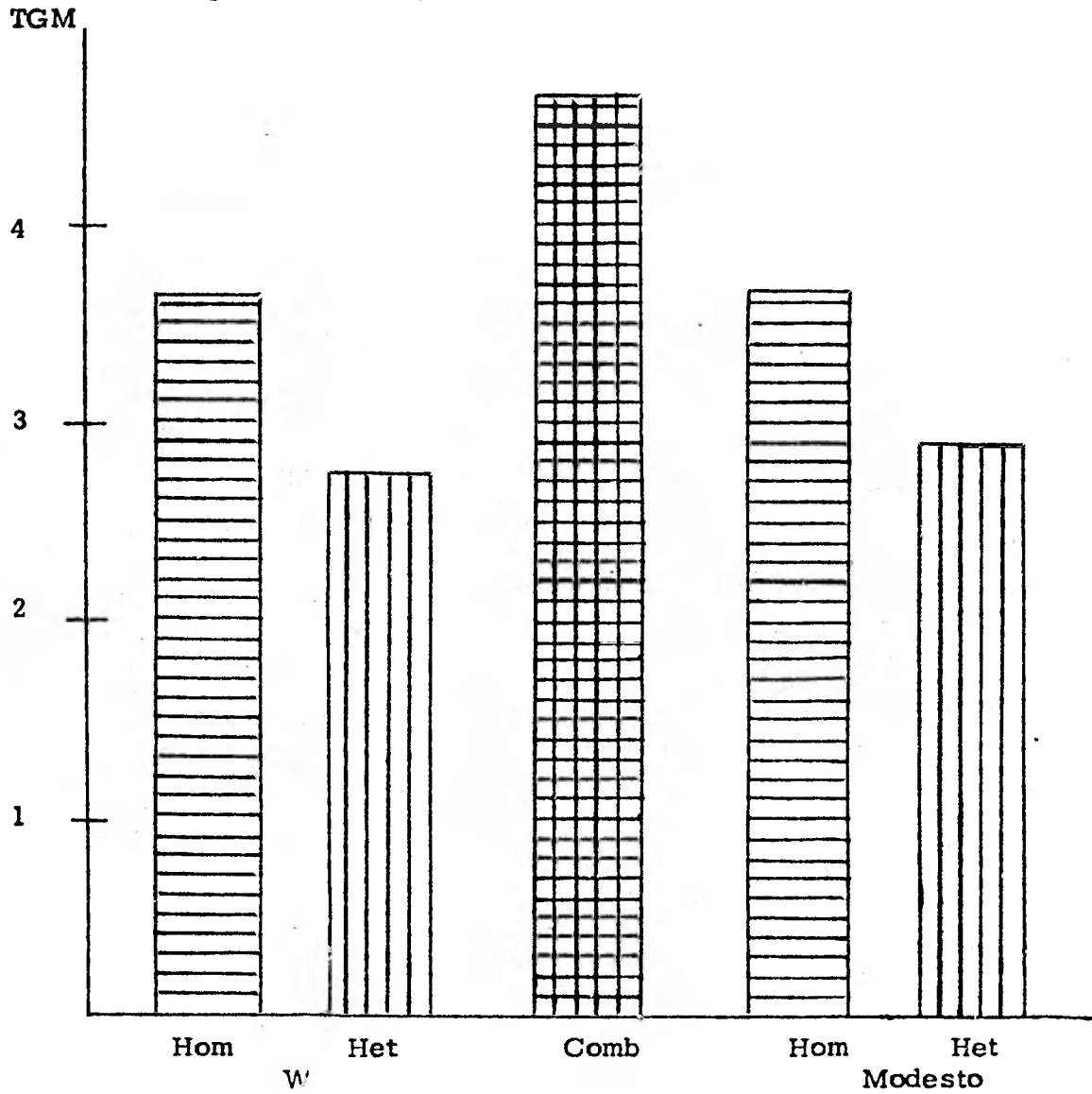
Títulos Geométricos Medios, obtenidos ( TGM ) .  
en la primera aglutinación



( RMSM )

GRAFICA II

Título Geométrico Medio ( TGM ), obtenidos 15 días después de la segunda inmunización.



( RMSM )

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y DISCUSION

En el presente estudio podemos observar que los títulos de anticuerpos aglutinantes fueron mayores cuando se utiliza un antígeno homólogo que cuando se utiliza un antígeno heterólogo.

La aglutinación cruzada es debida a que ambos serotipos comparten antígenos capsulares comunes; mientras que el mayor título es cuando se utiliza el antígeno homólogo, podemos explicarlo en base a la existencia de antígenos específicos del serotipo. ( 3)

En el caso del antígeno combinado los títulos son mayores, debido a la interacción de antígenos homólogos y heterólogos; (mientras que la primera aglutinación inexplicablemente no se presentó este fenómeno).

Los títulos de aglutinación fueron más altos y las reacciones más claras después de la segunda inmunización y como se ha demostrado que los títulos de aglutinación están relacionados con la resistencia al desaffo.



Recomendaciones: utilizar dos aplicaciones de bacterina la cual, deberá estar elaborada con 2 serotipos diferentes de --- H. paragallinarum ( 7 ).

Así mismo y en virtud que desconocemos los serotipos prevalentes en México, tanto en el campo como en la elaboración de bacterinas; recomendamos también el uso de antígenos polivalentes para los estudios de resistencia (después de la aplicación de bacterinas) epizootiología, presencia de portadores y serotipos existentes en el campo.

No hay razón para pensar que en México existan serotipos diferentes a los reportados en, los Estados Unidos, Alemania y Japón y aparentemente el serotipo B, careció de antígenos específicos del serotipo ( 10 ), por lo que para la elaboración de - bacterinas y antígenos, podemos recomendar la utilización de los serotipos A y C de Page, que corresponden al 1 y 2 de Kume, mientras no existan estudios específicos para nuestro país.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Gordon R.F. Enfermedades de las Aves

Cap. I ( Enfermedades bacterianas ).

Ed. I pags. 52 - 58

ED. El Manual Moderno, México 1980.

- 2.- Hofstad, MS. Diseases of Poultry, 7Th ed Ames,

Iowa State University Press,

1978.

- 3.- Kume K., Sawata A., Nakase Y., Relationship

between protective activity and antigen

structure of Haemophilus paragallinarum

serotype I and 2

Am. J. Vet. Res. 41:97-100 1980.

- 4.- Matsumoto M., Yamamoto R., Protective quality of

aluminum Hidroxide - absorbed broth

bacterin against infectious coriza.

Am. J. Vet. Res. 36:579-582

1975 Part. II

5.- Mesa Redonda sobre Coriza Infecciosa de las Aves.

Conferencia sustentada ante la A.P.Y.Z.A.N.  
en la ciudad de Guaymas Son.  
Diciembre de 1972.

6.- Methods for Examining Poultry Biologics and for

Identifying and Cuantifying Avian Pathogens  
1968.

7.- Orfz, Yamamoto R., La Relación entre la respuesta de

anticuerpos aglutinantes y la resistencia a  
Coriza Infecciosa ( Haemophilus gallinarum ),  
en aves vacúnadas con diferentes tipos de  
bacterinas.

Proc. 15 th World, poultry Cong.  
586-588 1974.

8.- Orfz A., Yamamoto R., Garrido C. Estudio comparativo  
de Bacterinas propagadas en caldo contra Cori  
za Infecciosa.

Departamento de Epidemiología y Medicina  
Preventiva de la Universidad de California,  
Davis 95616, 1974.

- 9.- Page L.A., Haemophilus Infections in chickens and characteristics of 12 Haemophilus isolates recovered from diseased chickens.  
Am. J. Vet. Rs. 23: 85 - 95 1962.
- 10.- Rimler R.B., Shotts B. and Davis R. Agrwth Medium for the production of a bacterin for immunization against Infectius Coryza.  
Avian Dis. Vol. 19 No. 2 3218 - 322 1972.
- 11.- Yamamoto R. Infectius Coryza In Diseases of Poultry  
M.S. Hofstad, The Iowa State University Press  
7th Edition 1978.
- 12.- Yamamoto R. and Somersett D.T. antibody response in chickens to infection with Heamophilus gallinarum  
Avian Dis. Vol. VIII No. 3 441 - 452.  
August 1964.
- 13.- Yamamoto R. Up date on infectious Coryza. Preparado para el quinto Congreso de la Asociación Nacional de especialistas en Ciencias Avícolas (ANECA) and the 29th Poultry Disease Conference (WPDC), April 22 - 26 Acapulco México 1980.

14.- Zinnemann, K. and Biberstein, Genus Haemophilus In.  
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology

8th ed. pags. 364 - 368 1974.

15.- Zuwaglif, General applied statistics

pag. 116 - 128. 1970.