

Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

AGLUTININAS CONTRA SALMONELLA ENCONTRADAS  
EN LA YEMA DE HUEVO DE GALLINAS REPRODUC-  
TORAS EN EL DISTRITO FEDERAL

T E S I S

Que para obtener el Título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

p r e s e n t a:

CARLOS CARMONA NUÑEZ



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.

*A mis Padres*

*A mis Hermanos*

*A mis maestros y compañeros*

*A mis Amigos*



**BIBLIOTECA  
CENTRAL**

*Al H. Jurado*

*92115*

*Con sinceridad y afecto a mi asesor técnico Srta. M. V.  
Aurora Velázquez Echegaray, por su inestimable ayuda en la  
realización de este trabajo*

*Este trabajo fué realizado en el Laboratorio de Inmunolo-  
gía y Virología de la Escuela Nacional de Medicina Ve-  
terinaria y Zootécnia*

## INTRODUCCION

Dentro de la Industria Avícola existe una importante rama - cuya especialidad es la Incubación, en poco tiempo ha logrado desarrollo extraordinario; pero debido a la costumbre seguida por algunas -- plantas de incubación de comprar el huevo que en ellas se utiliza, en diferentes pequeñas granjas que se dedican a producirlo y no tienen - control sanitario satisfactorio sobre sus aves, o también al adquirirlo por medio de intermediarios cuyo negocio es la compra y venta de - huevo para incubación, existe la posibilidad de contaminación en las incubadoras y nacedoras de las Plantas comerciales dedicadas a la venta de pollitos y con ello la diseminación de infecciones como las causadas por especies del género Salmonella ( 2,12 ), que causan graves perjuicios sanitarios y económicos en las explotaciones avícolas (3).

Sabemos que en todas las especies animales ha adquirido una gran importancia el estudio de la inmunidad pasiva congénita, encontrándose que en las especies de mamíferos este tipo de inmunidad pasiva es transferida a través de la placenta o por la ingestión del calostro o en ambos (11). En las aves se ha comprobado que el medio adecuado para la transferencia de la inmunidad pasiva de la madre al hijo es el huevo y en forma especial la yema del mismo ( 5,10 ).

El método que se sigue en el presente trabajo tiene la intención de ayudar a descubrir los lotes afectados utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa con antígeno Pullorum coloreado y con la fracción acuosa de la yema del huevo ( 9,10 ).

En este trabajo, la presencia de estos anticuerpos específicos o aglutininas tiene el mismo significado que en las pruebas de suero-aglutinación en placa o en tubo, pues al descubrirlos declara -

al ave que produjo ese huevo como portadora de gérmenes del género -  
Salmonella causantes de enfermedades que debemos combatir, aplicando  
las medidas sanitarias propuestas para este fin ( 2,6,7,9 ).

Se ha procedido a comprobar por medio de la prueba de aglu-  
tinación en tubo los casos que resultaran positivos en el método de -  
placa, con el fin de observar la relación existente entre estos dos -  
tipos de pruebas ( 10 ).

## MATERIAL Y METODOS DE TRABAJO.

**MATERIAL:** El material utilizado para este trabajo fué el si siguiente:

- 1.- Antigenc Pullorum para pruebas en placa, elaborado en el Departamento de Virología de la E.N.M.V.Z.  
Antígeno Pullorum estandarizado para pruebas en tubo, proporcionado por el Dr. H. Dikken del Departamento de Microbiología Experimental de la misma E.N.M.V.Z.
- 2.- Caja con placa de aglutinación cuadrículada y material para aglutinación.
- 3.- Gradillas y tubos tipo "Wassermann" para aglutinación en tubo. Lámpara para lectura de las pruebas en tubo.
- 4.- 200 huevos para incubación, divididos como sigue:
  - a) Lote de 16 huevos procedentes de gallinas Rhode Island.
  - b) Lote de 14 huevos de gallinas Leghorn.
  - c) Lote de 10 huevos de gallinas Leghorn.
  - d) Lote de 10 huevos de gallinas Leghorn.
  - e) Lote de 60 huevos de gallinas Rhode Island.
  - f) Lote de 20 huevos procedentes de gallinas Leghorn.
  - g) Lote de 15 huevos de gallinas Rhode Island.
  - h) Lote de 30 huevos de gallinas Rhode Island.
  - i) Lote de 20 huevos de gallinas Leghorn.
  - j) Lote de 5 huevos procedentes de gallinas Rhode Island - iniciando la postura.

### METODOS:

#### 1.- Método de Schmittle y Millen.

Tratamiento de la yema: Se usó el método descrito por Schmi-

ttle y Millen en 1948 (8) que consiste en la separación de la fracción acuosa de la yema de huevo fresco, utilizando Dicloruro de etileno ( 1.2. Dicloreto ) y Eter sulfúrico o dietílico.

De la fracción acuosa obtenida de la yema del huevo se coloca una gota sobre un cuadro de la placa de aglutinación mediante una pipeta.

Utilizando el gotero con el antígeno coloreado, se agrega una gota del mismo a la gota de fracción acuosa.

Con un palillo, se mezcla la gota de fracción acuosa y antígeno; se deja la placa en reposo durante un minuto y después se mueve suavemente durante otro minuto.

Se observa la reacción utilizando una luz indirecta sobre un fondo oscuro.

La reacción se interpreta como sigue:

Positiva + : cuando hay aglutinación.

Negativa - : cuando se conserva en suspensión.

Las aglutinaciones tardías no se toman en cuenta, es decir, cuando pasan más de 2 minutos de realizada la mezcla.

Se utiliza una pipeta diferente para cada reacción.

El antígeno se mantiene a una temperatura entre 2 y 10° C.

## 2.- Método de aglutinación en tubo.

Para la reacción de aglutinación macroscópica en tubo se sigue un método, hace mucho establecido ( 2,3,4,6,7,10,12 ). Consistente en añadir una dosis fija de antígeno a dosis variables de la fracción acuosa de la yema del huevo. Se emplean diluciones de 1:20 y 1:50, — pues se considera factible lograr un diagnóstico correcto utilizando estas diluciones ( 3,4,9,10 ).

Se emplean tubos tipo "Wassermann", de 12 por 100 mm. colocados en gradillas de alambre numeradas para identificar las muestras.

La fracción acuosa por probar se pipetea directamente en los tubos, en dosis de 0.05 ml. y 0.02 ml. correspondiendo estas a las diluciones finales 1:20 y 1:50 respectivamente. La medición se hace con pipeta graduada en centésimos de ml. usando una pipeta seca y limpia para cada muestra.

Se añade a cada tubo 1 ml. de antígeno estandarizado, mezclando perfectamente la fracción acuosa y el antígeno. Esto se logra con ayuda de un aparato de distribución mecánica.

La mezcla se coloca en la estufa a 37° C. durante 48 horas, a cuyo cumplimiento se leen los resultados ( 2,3,4,6 ).

La reacción positiva está indicada por el aclaramiento del líquido y agrupación de las bacterias en el fondo del tubo. La reacción, negativa está indicada porque las bacterias quedan en suspensión, ( 3 ).

Para realizar las lecturas es conveniente usar la lámpara adecuada a este fin y hacerlo contra fondo oscuro.

El antígeno Pullorum no coloreado debe también mantenerse a una temperatura adecuada de refrigeración, alrededor de 4° C.

## RESULTADOS

De los lotes probados se obtuvieron los siguientes resultados, mediante los dos métodos utilizados.

	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL	% POSITIVOS
Lote # 1	2	14	16	12.50
Lote # 2	1	13	14	7.14
Lote # 3	0	10	10	0.00
Lote # 4	4	6	10	40.00
Lote # 5	5	55	60	8.33
Lote # 6	0	20	20	0.00
Lote # 7	5	10	15	33.33
Lote # 8	1	29	30	3.33
Lote # 9	3	17	20	15.00
Lote # 10	0	5	5	0.00
TOTAL	<u>21</u>	<u>179</u>	<u>200</u>	<u>10.50</u>

## D I S C U S I O N .

El método de aglutinación macroscópica en placa utilizando la fracción acuosa de la yema de huevo, ha servido para descubrir las aglutininas contra *Salmonella pullorum* y otro tipo de salmonelas que al afectar a las aves reproductoras adquieren una enorme importancia económica y sanitaria ( 1,3,7,10 ). Los resultados han demostrado la bondad del método, fácil de realizar en un laboratorio debidamente -- equipado.

Sabemos que existe un gran programa de control para este tipo de enfermedades que se basa en el exámen de todos los animales que se utilizan para la reproducción, en el manejo sanitario de las parva das, en el cuidado necesario evitando el contagio de una granja a -- otra y como medida de mucho interés, la estricta vigilancia de las -- Plantas de incubación ( 2,4,7 ).

El método que se ha seguido en el presente trabajo ha sido utilizado hasta ahora con fines de investigación pero quizá teniendo en cuenta las condiciones que reinan en la industria a que nos referi mos se podría aplicar en las Plantas avícolas dedicadas a la produc-- ción comercial de pollitos, recomendándose por su sencillez.

La obtención de las muestras utilizables se lleva a cabo -- con el cuidado necesario para conservar la integridad y limpieza que debe tener este producto de origen animal, resultando muy sencillo de manejar.

Las muestras de huevo se recolectaron en diversas granjas, proceden de animales aparentemente sanos, pero debemos señalar que --

gran parte de estas granjas no aplican las medidas sanitarias indispensables para mejorar sus lotes de reproductoras ( 2,4 ).

De las 200 muestras elaboradas y probadas se encontró que 21 resultaron positivas, lo que corresponde a un 10.5% del total. Tomando en cuenta estos resultados se podría proceder al saneamiento de los lotes de reproductoras de donde proceden tales huevos, induciendo a los propietarios a la aplicación de las medidas de control ya especificadas para evitar la difusión de estas enfermedades ( pullorosis, tifoidea aviar, paratifoidea ) ( 7 ).

Como no es factible marcar el huevo que se incuba con el número de la gallina que lo puso, si un lote de ese huevo para incubación resulta con muestras positivas se procede a realizar una prueba de cada ave del lote en producción ya sea mediante la prueba de aglutinación rápida en placa con sangre completa o la de tubo utilizando suero.

Las pruebas de aglutinación de tubo corroboran la positividad de las reacciones en placa, considerando útiles para el diagnóstico las diluciones empleadas ( 3,4,9,10 ).

Todas las pruebas se llevaron a cabo con huevos frescos de no más de 4 días de edad para lograr así la detección correcta de los anticuerpos, pues se sabe que en huevos con mayor edad que la descrita los anticuerpos van desapareciendo ( 5,8 ).

Esta prueba de aglutinación es fácilmente realizada y quizá de utilidad para lograr un efectivo control de los lotes de reproductoras que abastecen el mercado de la incubación por las condiciones en que se realiza; pudiendo también reprimir la afluencia de huevos contaminados que causan la diseminación de enfermedades que perjudican seriamente la economía de la Industria Avícola ( 1,3,5 ).

### CONCLUSIONES.

Utilizando la prueba macroscópica de aglutinación en placa, se demostró la presencia de aglutininas contra Salmonella en el 10.5% de un total de 200 huevos recolectados en diez lotes de reproductoras en el Distrito Federal.

## REFERENCIAS.

- 1.- A. Blanco Loizelier; J. Barrera Pozas, J.A. Vindel Caurin. *Avicultura Técnica*, 34, marzo 1964, México.
- 2.- Biester. *Diseases of Poultry*. Third Edition, Ames Iowa: - The Iowa State College Press.
- 3.- Guillermo Pérez Calva. *Elaboración de Antígeno Pullorum y Pruebas Comparativas con Antígenos Comerciales*, tesis, 1959 U.N.A.
- 4.- López y López. *Enfermedades de las gallinas, Salmonelosis*, 1953
- 5.- Ma. Dolores Vázquez Fraire. *Relación de los títulos de anticuerpos contra el virus del newcastle, encontrados en la yema de huevo y en el suero de gallinas reproductoras de granjas del Distrito Federal*; tesis, 1963.
- 6.- R. A. Kelser. *Manual de Bacteriología Veterinaria*, p. --- 25,602, 613,614.
- 7.- *Reglamento de Policía Sanitaria Veterinaria*.
- 8.- Schmittle S.C. and Millen T.W. *Detection of hemagglutination inhibition antibodies in unincubated eggs*; *Cornell Vet.*, 38, ( 1948 ) : 306.
- 9.- *The Merck Veterinary Manual*. Second Edition; p. 1267.
- 10.- *Tratado de Doenças das aves*. Vol. II. Pulorose.
- 11.- William Arthur Hagan D.V.M. D.S.O. y Dorsey William Brunes D.V.M. Ph. D. *Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos*; pp. 23, 24, 25 ( 1957 ).
- 12.- *Zinsser Bacteriología*, p. 168,457.