



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LINFOCINAS OBTENIDAS DE AVES  
INMUNIZADAS CON *Salmonella enteritidis* EN LA  
INMUNOPROFILAXIS CONTRA LA INFECCION DE  
*Saimonella gallinarum* EN POLLOS DE ENGORDA**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A  
**ROSA ANA WONG GONZALEZ**

ASESORES: MVZ. Ph. D GUILLERMO TELLEZ ISAIAS  
MVZ JOSE ANTONIO QUINTANA LOPEZ  
MVZ RICARDO SALADO CARBAJAL  
DVM. Ph. D BILLY M. HARGIS



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO. D. F.

1993



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 está 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.

## CONTENIDO

|                            |    |
|----------------------------|----|
| RESUMEN.....               | 1  |
| INTRODUCCION.....          | 3  |
| HIPOTESIS Y OBJETIVOS..... | 10 |
| MATERIAL Y METODOS.....    | 11 |
| RESULTADOS.....            | 15 |
| DISCUSION.....             | 18 |
| CONCLUSIONES.....          | 22 |
| LITERATURA CITADA.....     | 23 |
| CUADROS.....               | 30 |

## RESUMEN

WONG GONZALEZ ROSA ANA. Evaluación de linfocinas obtenidas de aves inmunizadas con *Salmonella enteritidis* en la inmunoprofilaxis contra la infección de *Salmonella gallinarum* en pollos de engorda (bajo la dirección de: Guillermo Tellez Isaias, José A. Quintana López, Ricardo Salado Carbajal, Billy M. Hargis.

El presente estudio evaluó el efecto del sobrenadante obtenido de Linfocitos T de aves inmunizadas con *Salmonella enteritidis* en la profilaxis contra la infección por *Salmonella gallinarum*. Se utilizaron 200 pollos de engorda de un día de edad; fueron divididos en 3 grupos y recibieron vía intraperitoneal: a) Solución Salina Fosfatada estéril (grupo 1 testigo negativo), b) Sobrenadante obtenido de Linfocitos T de aves no inmunizadas con *Salmonella enteritidis* (grupo 2 testigo positivo), c) Sobrenadante obtenido de Linfocitos T de aves inmunizadas con *Salmonella enteritidis* (grupo 3 tratado); 30 min después, se aplicó vía oral Solución Salina Fosfatada estéril al grupo 1; *Salmonella gallinarum* 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colonia/ml a los grupos 2 y 3. En la mortalidad acumulada se obtuvieron (muertas/total): grupo 2 (59/60); del grupo 3 (53/60); no se registró mortalidad alguna en el grupo 1. Los signos clínicos en los grupos 2 y 3 fueron: depresión, anorexia, emaciación y diarrea. En estos mismos grupos se

presentaron lesiones en hígado, bazo, riñón, ojo e intestino. Los resultados del estudio bacteriológico de aves sobrevivientes fueron (positivas a *Salmonella gallinarum*/total): grupo 2 (1/1) de hígado, bazo y tonsilas cecales; grupo 3 (0/7) de bazo e hígado y (1/7) de tonsilas cecales. Al aislamiento de *Salmonella gallianarum* en aves muertas hubo una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los grupos 2 y 3 los días 4 y 5 posinoculación. Los pesos corporales fueron:  $\bar{X}207.6g$ ,  $80.6g$  y  $\bar{X}143.3g$  para los grupos 1, 2 y 3 respectivamente. En este trabajo se observó que con una dosis letal 100% de *Salmonella gallinarum*, el sobrenadante obtenido de Linfocitos T de aves inmunizadas con *Salmonella enteritidis* mostró al día 5 posinoculación una disminución significativa en la mortalidad ( $P < 0.05$ ) y en la invasión en órganos de aves muertas ( $P < 0.05$ ) en pollos de engorda.

## INTRODUCCION

La tifoidea aviar se encuentra presente en la avicultura comercial de algunos países latinoamericanos, Africa y medio oriente afectando principalmente a las aves productoras de huevo de consumo y a las aves reproductoras pesadas (20). En México la Tifoidea aviar ha venido ocasionando grandes pérdidas económicas a la avicultura a través de los años. Estudios realizados en 1987 sobre las repercusiones económicas de la Tifoidea aviar en reproductoras pesadas se calcula una pérdida aproximada de 80,000 millones de pesos; existiendo en el país 4 millones de aves, de estas el 40% estaban infectadas, dejando de producir 120,000 toneladas de carne anuales (24,27).

La Tifoidea aviar es causada por una bacteria perteneciente a la familia enterobacteriaceae, del género *Salmonella* especie *gallinarum*, es un bacilo gramnegativo, inmóvil no capsulado ni esporulado, anaerobio facultativo. Posee el antígeno "O" con sus variante 1, 9 y 12, este último parece no tener la forma de variación 12 como en *S. pullorum* (26).

*Salmonella gallinarum* (SG) crece en medios de enriquecimiento tales como caldo selenito F, caldo tetracionato, y en placas de medios diferenciales tales como MacConkey, salmonella-shigella y agar verde brillante entre

otros. Se ha mencionado que esta bacteria pierde sus características patogénicas en cultivos de agar (26).

Dentro de las especies afectadas por la Tifoidea aviar encontramos gallinas domésticas, pavos, faisanes, codorniz y palomas (26). Jhonson y Anderson (15) reportaron brotes de la enfermedad en patos, pavos y gallinas de guinea. Padrón (24) menciona que las razas semipesadas y pesadas son más susceptibles de padecer la enfermedad. Por otra parte, estudios realizados por Beach (4), Baudette (5) y Komarov (17) han reportaron la enfermedad de Tifoidea aviar en pollos jóvenes. Ziprin (35) reporto que durante los primeros 5 días de edad los pollos son más susceptibles a la enfermedad por SG. Las aves infectadas por Tifoidea aviar y portadoras son el medio más importante de perpetuación y diseminación de la enfermedad, estas aves pueden infectarse no únicamente entre ellas misma, también en sucesivas generaciones a través del huevo (5,6,24); Moore (21) recuperó SG a partir de huevos de aves infectadas de forma natural y otras de forma experimental.

El período de incubación es de 4 a 5 días, aunque este varía por la virulencia de la cepa. El curso de la enfermedad es de 5 días pero puede extenderse hasta 2 a 3 semanas (24,27).

Las aves que nacen de huevos infectados por Tifoidea aviar se observan moribundas ó muertas, pobre crecimiento,

inapetencia y adherencia de material blanquecino en la cloaca. En aves adultas se observa una baja repentina en el consumo de alimento, diarrea, erizamiento de plumas, palidez, encojimiento de barbilla y cresta (26). Las lesiones presentes en pollitos se confinan principalmente a hígado, bazo y riñones. El hígado y bazo muestran un notable aumento de tamaño, puntos necróticos blanquecinos focales o multifocales; los riñones se observan inflamados y aumentados de tamaño; pulmones, corazón y mollejas pueden presentar abscesos. Las aves adultas que padecieron un curso crónico o subagudo presentan el hígado, bazo y riñón aumentados de tamaño, el hígado presenta un color verdoso o bronceado con puntillado necrótico blanquecino además una enteritis catarral hemorrágica, los ovarios se observan flácidos, hemorrágicos y algunas veces con ruptura (13,26,28).

Para el diagnóstico definitivo de Tifoidea aviar se requiere aislar e identificar la SG; la historia de la parvada, los signos clínicos y las lesiones son altamente sugestivas de Tifoidea aviar; en aves en crecimiento y adultas hallazgos serológicos mediante aglutinación en placa o hemoaglutinación pueden ser provechosos para llegar a un diagnóstico presuntivo (26). SG puede ser aislada de órganos viscerales, siendo el hígado y bazo los órganos de preferencia para el cultivo; ya que tiene la capacidad de penetrar al tracto digestivo y, a través del torrente sanguíneo invadir



los órganos internos (11).

La adherencia y subsecuente invasión de *Salmonella spp.* en la mucosa intestinal es un evento clave en las infecciones causadas por esta bacteria intracelular (6,7). El mecanismo por el cual la bacteria penetra a la mucosa epitelial todavía no es entendido claramente, sin embargo hay evidencia que la bacteria y la célula hospedera poseen factores de importancia en el proceso de penetración bacteriana (10).

Durante una respuesta inmune, el sistema inmunológico responde con el correcto reconocimiento del antígeno, y también induce las funciones apropiadas que resulten en la eliminación específica del patógeno involucrado en la infección. Por ejemplo, la defensa inmune contra una bacteria intracelular como *Salmonella* requiere de exacta inducción de la respuesta inmune mediada por Linfocitos "T" (LT), mientras que la neutralización de toxinas requiere de anticuerpos (2,3).

Las células T después de ser estimuladas con un antígeno responden dividiéndose repetidamente originando células de memoria y efectoras; estas últimas sintetizan y secretan proteínas llamadas linfocinas, las cuales son un importante componente de la Inmunidad celular, responsables de promover la proliferación, diferenciación y activación de dichas células efectoras resultando en un incremento de resistencia contra las bacterias (8).

Se menciona que las citocinas confieren a los macrófagos la capacidad de no sólo matar células alogénicas en forma inespecífica, sino de aumentar grandemente su capacidad bactericida contra microorganismos patógenos intracelulares. Por ejemplo, algunas bacterias, en particular *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*, estas pueden en condiciones normales proliferar dentro de los macrófagos (14,32).

Las citocinas tienen múltiples funciones y más de una citocina puede mediar la misma o varias funciones similares (30).

Las células T de ayuda CD4+ TH1 producen linfocinas como : Interleucina (IL)-2, Interferón (IFN)- $\delta$ , Factor de necrosis de tumores (TNF)- $\alpha$  entre otras que intervienen en diversas funciones relacionadas con citotoxicidad y reacciones inflamatorias locales; dichas linfocinas son particularmente importantes para combatir virus, parásitos y bacterias intracelulares, además activan el crecimiento, regulan y promueven la diferenciación de más CD4+ TH1, CD4+ TH2, CD8+ o Linfocito T citotóxico y células B; IFN- $\delta$  es inmunorregulador de citocinas, antiviral y antitumoral. También se producen TNF-B, TNF- $\alpha$ , Factor de inhibición de la migración (MIF). Cuando están presentes IFN- $\delta$  + TNF- $\alpha$  poseen un sinergismo poderoso y actividad citolítica (30).

La estimulación de células T de ayuda CD4+ TH2 conduce a

la secreción de IL-3 también llamado Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF); IL-4 actúa en células B para secretar una gran cantidad de IgG e IgE; IL-5 incrementa la secreción de IgA; IL-6 es capaz de estimular la secreción de todo tipo de inmunoglobulinas ; IL-9 activa a los mastocitos así como también IL-5 e IL-13; e IL-10 o Factor inhibidor de la síntesis de citocinas (CSIF). En todas estas reacciones, los macrófagos juegan un papel importante no sólo como células presentadoras de antígenos sino también por la secreción de citocinas tales como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, GM-CSF, Factor transformante de crecimiento (TGF) el cual inhibe la síntesis de citocinas, Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y el Factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF). TNF- $\alpha$  activa CD4+ TH1, CD4+ TH2, CD8+, Polimorfonucleares (PMN). Al mismo tiempo la activación y secreción de IFN- $\delta$  por CD4+ TH1 dirige la actividad de macrófagos.

Por otra parte CD8+ son capaces de secretar linfotoxinas, IFN- $\delta$  y TNF- $\alpha$ . Las células CD8+ poseen varios mecanismos para destruir patógenos, como al conjugarse con las células blanco provocando lisis de estas.

TNF- $\alpha$  juega un papel importante en la activación de la respuesta inmune por ejemplo: activa CD4+ y CD8+; activa eosinófilos, macrófagos y PMN; tiene efectos sinérgicos con IFN- $\delta$  y linfotoxinas.

Varias investigaciones han documentado que la administración exógena de citocinas causa un incremento de la resistencia contra infecciones por *Salmonella* (22,23,25).

Tellez y colaboradores identificaron sustancias solubles producidas por LT, que puede conferir protección inmediata contra la invasión orgánica por *Salmonella enteritidis* (SE) en pollos (31). En este trabajo describieron el papel que los mediadores solubles derivados de los LT o linfocinas pueden jugar en la respuesta del huésped contra la invasión por SE y reportaron una serie de experimentos en los cuales transfirieron protección contra SE a pollos, mediante el sobrenadante obtenido de LT de aves inmunizadas con SE (SE-SLT) (31). Estudios similares (19) reportan protección conferida por SE-SLT en pollos de un día de edad.

Ray y colaboradores (19), han demostrado previamente protección cruzada conferida por SE-SLT en infecciones causadas por *Salmonella thyphimurium* en pollos Leghorn.

## HIPOTESIS

La administración del sobrenadante obtenido de LT de aves inmunizadas contra SE puede proteger a pollos de engorda de un día de edad contra la invasión en los órganos y mortalidad causada por la infección de *Salmonella gallinarum*.

## OBJETIVO

Determinar el efecto profiláctico de SE-SLT en la infectividad y mortalidad causada por la infección en pollos de engorda inoculados experimentalmente con una dosis letal 100% de *Salmonella gallinarum*.

## MATERIAL Y METODOS

**Elaboración de SE-SLT.** Se utilizó una cepa de SE fagotipo 13 obtenida de National Veterinary Services Laboratory (NVSL) Ames, Iowa, seleccionada por su resistencia a Novobiocina y al Acido Nalidixico (NO-AN), que se utilizó para la inmunización de las aves en la obtención de SE-SLT. En una unidad de aislamiento independiente, se mantuvieron aves para la obtención del sobrenadante de LT de aves no inmunizadas con SE (NSE-SLT). El aislamiento de los LT y la preparación de linfoquinas se realizó mediante el procedimiento descrito por Tellez et al. (31).

**Salmonella gallinarum Para Desafío.** Se utilizó una cepa de campo patógena de SG (U-2 donada por el Dr. Mario Padrón), resistente al NO-AN. La concentración celular viable del inóculo fue determinada por el conteo de colonias en placas de Agar Verde Brillante (AVB). La cual fue estandarizada a  $10^8$  UFC/ml.

**Animales de Experimentación.** Se obtuvieron 200 pollos de engorda de una incubadora comercial de un día de edad (Arbor Acres x Arbor Acres); que fueron alojados en baterías eléctricas, ubicadas en las unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves, F.M.V.Z., U.N.A.M. Los

pollos fueron proveídos de una ración balanceada comercial y agua *ad libitum*. Antes del experimento se realizó un estudio bacteriológico de la paja de transporte, alimento y de 20 pollitos, para descartar la presencia de *Salmonella* utilizando métodos de cultivo estándar (1).

**Diseño Experimental.** Al primer día de edad, todas las aves fueron pesadas e inyectadas vía intraperitoneal (i.p.) con 0.5ml de Solución Salina Fosfatada estéril (PBS), NSE-SLT, o SE-SLT. Treinta minutos posinyección, se les aplicó vía oral (0.25ml) de PBS estéril, o SG 10<sup>8</sup> UFC/ml.

Las aves fueron asignadas aleatoriamente en 3 grupos con 3 réplicas cada uno.

| GRUPO | TRATAMIENTO                       | No. de aves |
|-------|-----------------------------------|-------------|
| 1     | PBS/PBS                           | 20/réplica  |
| 2     | NSE-SLT/SG 10 <sup>8</sup> UFC/ml | 20/réplica  |
| 3     | SE-SLT/SG 10 <sup>8</sup> UFC/ml  | 20/réplica  |

**Grupo 1 (testigo negativo):** Las aves fueron inyectadas i.p. con PBS estéril (0.5ml), treinta minutos posinyección se les aplicó vía oral (0.25ml) PBS estéril.

**Grupo 2 (testigo positivo):** Las aves fueron inyectadas i.p. con NSE-SLT (0.5ml), treinta minutos posinyección se les aplicó vía oral (0.25ml) SG 10<sup>8</sup> UFC/ml.

Grupo 3 (grupo tratado): Las aves fueron inyectadas i.p. con SE-SLT (0.5ml), treinta minutos posinyección se les aplicó vía oral (0.25ml) SG 10<sup>8</sup> UFC/ml.

Se registró diariamente morbilidad, peso corporal y mortalidad de aves; a partir de la mortalidad se realizó cultivo primario de hígado para determinar SG. El promedio de lesión en órganos fue determinado mediante el procedimiento empleado por Johnson et al. (16).

El día diez posinoculación los pollos fueron pesados, sacrificados y se tomaron bazo, hígado y tonsilas cecales para su posterior cultivo para determinar SG.

Invasión de Organos por *Salmonella gallinarum*. Los órganos se cultivaron de acuerdo al Plan Nacional de Mejoramiento Avícola (NPIP) (33). El hígado, bazo y tonsilas cecales fueron colectados asepticamente y cultivados; trabajando bazo e hígado como una muestra combinada. Los órganos fueron incubados por 24 horas a 37°C en caldo tetratoato. Después de incubación, el caldo fue agitado y se procedió a realizar una siembra en placas de AVB conteniendo 200µg/ml de AN y 25 µg/ml de NO, las cuales fueron incubadas 24 horas a 37°C y examinadas para determinar la presencia de colonias típicas de SG resistentes a NO-AN. Además se hicieron pruebas bioquímicas para confirmar la presencia de SG (1).



**Análisis Estadístico.** Se utilizó análisis de Ji-cuadrada para determinar diferencias estadísticas significativas entre las tasas de infección de SG entre grupos, así como la mortalidad (34). Para determinar posibles diferencias en los pesos de las aves se utilizó análisis de varianza. Las diferencias estadísticas fueron evaluadas mediante la prueba de Duncan utilizándose el paquete estadístico SAS (18).

## RESULTADOS

**Signos clínicos.** Los signos observados en aves de los grupos testigo positivo y tratado fueron depresión, inapetencia, amontonamiento, deshidratación, anorexia, emaciación, diarrea y debilidad. Sin embargo los signos fueron más leves en el grupo tratado. En el grupo testigo negativo no se observó ningún signo.

**Mortalidad.** La mortalidad se presentó a partir del cuarto día posinoculación y el pico de está al día 8-10 posinoculación. Se observó una disminución significativa del grupo tratado en comparación con los testigos en los días 5 posinoculación ( $P < 0.01$ ) y 7 ( $P < 0.05$ ). En el grupo testigo positivo se reportaron 59 aves muertas de 60 (98.3%) a los diez días posinoculación contra 53 muertas de 60 (88.3%) de las aves tratadas. En el grupo testigo negativo no hubo mortalidad (Cuadro 1).

**Lesiones.** La necropsia de aves del grupo testigo positivo como del grupo tratado reveló lesiones en hígado, bazo, riñón, ojo e intestino. En el testigo negativo no se observaron lesiones patológicas aparentes (Cuadro 2).

**Invasión en órganos por *Salmonella gallinarum* de aves muertas.** El resultado del cultivo primario de hígado a los 4 días posinoculación, no se aisló SG de 5 cultivos del grupo tratado; a diferencia del grupo testigo positivo que 5 de 9 (55.5%) cultivos fueron positivos a SG. Al día 5 posinoculación en el grupo tratado se aisló SG en 9 de 11 (81.8%) cultivos y en el testigo positivo 21 de 21 (100%) cultivos se aisló SG. Se obtuvo en los días 4 y 5 posinoculación una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre ambos grupos. A partir del día 6 hasta el 10 posinoculación no se observaron diferencias significativas en ambos grupos (Cuadro 4).

**Invasión en órganos por *Salmonella gallinarum* de aves sobrevivientes.** De las aves del grupo tratado, a los 10 días posinoculación, se observaron 0 de 7 aves negativas al aislamiento de SG en órganos (bazo e hígado) y 1 de 7 (14.2%) positiva a SG en tonsilas cecales. La única ave sobreviviente de el grupo testigo positivo, resultó positiva al cultivo de SG a partir de órganos (bazo e hígado) así como de tonsilas cecales. Estos resultados se resumen en el cuadro 5.

Los resultados del estudio bacteriológico realizado a los pollos, paja de transporte y alimento fueron negativos a la presencia de *Salmonella spp.*

**Peso corporal.** El grupo de aves testigo negativo obtuvo un promedio de 207.6g de peso corporal a los 10 días posinoculación; las aves del grupo tratado tuvieron un promedio de 143.3g de peso corporal a los 10 días posinoculación, mientras que el ave sobreviviente del grupo testigo positivo tuvo un peso de 80.6g. Se observó una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre grupos experimentales al día 5, 7 y 8 posinoculación (Cuadro 6).

## DISCUSION

El presente estudio evaluó el efecto profiláctico del SE-SLT administrando a pollos de engorda de un día de edad contra la infección experimental con una dosis letal 100% de SG.

Varios estudios han documentado que la administración exógena de citocinas causa un efecto protector al hospedador, disminuyendo la infección por bacterias como *Listeria monocytogenes* (9), *Bacteroides fragilis* (12), *S. enteritidis* (19,31).

En el presente estudio, se observó que la mortalidad fue significativamente menor a los 5 ( $P < 0.01$ ) y 7 ( $P < 0.05$ ) días posinoculación en el grupo tratado en comparación con el testigo positivo respectivamente. Al día 10 posinoculación se observó una diferencia del 10% de mortalidad entre los grupos testigo positivo y tratado. Es posible que la disminución de la mortalidad en el grupo tratado durante los 5 y 7 días se deba a una protección temporal causada por el efecto de SE-SLT en la Respuesta inmune.

En cuanto al estudio bacteriológico de aves sobrevivientes del grupo tratado no se aisló SG de 7 aves a partir de órganos (bazo e hígado), en tonsilas cecales una de 7 (14.2%) fue positiva a SG; mientras que la única ave sobreviviente del grupo testigo positivo se aisló SG tanto de

órganos como de tonsilas cecales. A pesar de que sólo sobrevivieron 7 aves del grupo tratado, sólo de un ave se logró aislar SG, por lo que se puede mencionar que hubo una disminución en la invasión de órganos por SG.

El cultivo bacteriológico de aves muertas durante el experimento manifestó una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) del grupo tratado en los días 4 y 5 posinoculación comparado con el grupo testigo positivo; en los siguientes días no se observaron diferencias significativas entre grupos. Es posible que durante los primeros 5 días posinoculación se presentó un efecto profiláctico por SE-SLT que se vio reflejado en una disminución en la invasión de órganos por SG y posteriormente verse aumentada debido a la dosis administrada de SG. Investigaciones reportadas por Mc Gruder et al. (19) observaron una disminución significativa en la invasión de órganos por SE en pollos de un día de edad sacrificados a las 24 hrs. posdesafío inoculados con SE-SLT. Estudios realizados por Tellez et al. (37) han demostrado que la administración i.p. de SE-SLT reduce significativamente la invasión en órganos por SE en aves de 18 días de edad sacrificadas y cultivadas al primer y sexto día posinoculación.

Las lesiones observadas en bazo, riñón, intestino e hígado en las aves de los grupos testigo positivo y tratado fueron similares a las reportadas en estudios previos (26).

Los signos clínicos observados en aves de los grupos testigo positivo y tratado fueron similares a los reportados previamente (26) como depresión, inapetencia, amontonamiento, deshidratación, anorexia, emaciación, diarrea y debilidad. No se observaron signos clínicos en aves del testigo negativo.

El promedio diario en peso del grupo testigo negativo como de aves del grupo tratado, siempre fue mayor que el testigo positivo quedando al día 10 posinoculación: testigo negativo con media de  $207.6 \pm 15.7$ , grupo tratado con media de  $143.3 \pm 17.7$ , una ave del testigo positivo con 80.6g.

Los resultados observados en el presente estudio indican que es posible que la administración de SE-SLT haya causado una protección temporal durante los primeros 5 días posinoculación en mortalidad e invasión de órganos en aves muertas. Ziprin et al. (35) menciona que la protección contra infecciones por *Salmonella spp.* puede ser conferida en pollos durante los primeros 5 días de vida en los que son más susceptibles de infección por esta bacteria. Sin embargo en el presente estudio se presentó un porcentaje alto de mortalidad en el grupo tratado, esto pudo deberse a la cantidad de bacterias utilizadas como desafío  $10^8$  UFC/ml de SG (dosis letal 100%), que posiblemente sobrepasó a la protección conferida por SE-SLT ante la infección causada por SG en pollo de engorda de un día de edad, por lo que se recomienda realizar estudios con dosis menores, para una mejor evaluación

del SE-SLT.

Los resultados de este experimento indican que con una dosis letal 100% (10<sup>8</sup> UPC/ml) de SG, SE-SLT mostró al día 5 posinoculación una disminución significativa en mortalidad (P<0.05) e invasión en órganos de aves muertas (P<0.05) en pollos de engorda.



## CONCLUSIONES

- El sobrenadante obtenido a partir de LT de aves inmunizadas con SE disminuye la invasión a órganos y mortalidad causada por la infección de SG evaluada a los 5 días posinoculación, este efecto se vio también reflejado en la ganancia diaria de peso.

- El porcentaje alto de mortalidad, así como el grado de lesiones presentadas en el grupo tratado puede deberse a la cantidad de bacterias inoculadas ( $10^8$  UFC/ml) la cual es una Dosis letal 100%, por lo que probablemente sobrepasó la protección conferida por SE-SLT ante la infección causada por SG en pollitos de un día de edad.

- Se sugiere repetir el estudio utilizando dosis más bajas de SG ( $10^4$  y  $10^6$  UFC/ml) para tener una mejor evaluación de la actividad profiláctica de SE-SLT.

## LITERATURA CITADA

1. Andrews, W.H., Poelma P.L., Wilson C.R. and Romero, A.: Isolation and identification of *Salmonella*. In: Bacteriological Analytical and Manual, 5th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1-29 1978.
2. Ashley, M.P., Neoh, S., Kotlarski, P. and Hardy, D.: Local and systemic effects on the non-specific tumor resistance induced by attenuated *Salmonella enteritidis* 11RX in mice. Aust. J. Exp. Biol. Med., 54:157-168 (1976).
3. Ashley, M.P., Kotlarski, P. and Hardy D.: Involvement of T cells in the recall of *Salmonella*-induced resistance to tumors. Immunology, 32:1-10 (1977).
4. Beach, J.R. and Davis, D.E.: Acute infection of chicks and chronic infection of the ovaries of hens caused by the fowl-typhoid organism. Hilgardia, 2:411-424 (1927).
5. Beaudette, F.R.: Fowl typhoid and bacillary white diarrhea. Proc. 11th Int. Vet. Congr., 3:7-723 (1930).

6. Bohnhoff, M., Miller, C.P. and Martin, W.R.: Resistance of the mouse's intestinal tract to experimental *Salmonella* infection. I. Factors which interfere with the initiation of infection by oral inoculation. J. Exp. Med., 120:805-816 (1964).
7. Bohnhoff, M., Miller, C.P. and Martin, W.R.: Resistance of the mouse's intestinal tract to experimental *Salmonella* infection. II. Factors responsible for its loss following streptomycin treatment. J. Exp. Med., 120:817-822 (1964).
8. Campbell, P.A.: What T cells tell macrophages to do during resistance to listeriosis. Adv. Exp. Med. Biol., 239:13-22 (1988).
9. Czuprynski, C.J., Brown, J.F., Young, K.M., Cooley, A.J. and Kurtz, R.S.: Effects of murine recombinant interleukin 1 on the host response to bacterial infection. J. of Immun., 140:962-968 (1988).
10. Finlay, B., Hefferon, F. and Falkow, S.: Epithelial cell surfaces induces *Salmonella* proteins required for bacterial adherence and invasion. Scienza, 341:940-943 (1989).

11. Gillingham, S.: Algunos aspectos del control de *Salmonella enteritidis*. XVII Convención Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, Puerto Vallarta, Jalisco, México, 83-94 1992.
  
12. Gollapudi, S.S., Gupta, A., Thadepalli, H. and Pérez A.: Use of lymphokines in treatment of experimental intracellular abdominal abscess caused by *Bacteroides fragilis*. Infect. Immun., 56:2369-2372 (1988).
  
13. Gómez, J.J., Mosqueda, A.T. y Ocampo, L.C.: Terapéutica avícola. 2a ed. Editado por: Gómez, J.J., Mosqueda, A.T., Ocampo, L.C., México D.F., sin año de publicación.
  
14. Hsu, H.: Pathogenesis and immunity in murine salmonellosis. Microbiol. Rev., 53:390-409 (1989).
  
15. Johnson, E.A. and Anderson, G.W.: An outbreak of fowl typhoid in guinea fowls (*Numida meleagris*). J. Am. Vet. Med. Assn., 82:258-259 (1993).
  
16. Johnson, J. and Reid, W.M.: Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floorpen experiments with chickens. Exp. Parasitol., 28:30-36 (1970).

17. Komarov, A.: Fowl typhoid in baby chicks. Vet. Rec., 12:1455-1457 (1932).
18. Luginbuke, R.C., and Schlotzhaver, S.D.: SAS/STAT guide for personal computers, 6th ed., SAS Institute, Cary, N.C. 555-573, 1987.
19. Mcgruder, E.D., Ray, P.M., Tellez, G.I., Kogut, M.H., Corrier, D.E., Deloach, J.R. and Hargis, B.M.: *Salmonella enteritidis* Immune leukocyte-stimulated soluble. Factor: Effects on increased resistance to *Salmonella* organ invasion in day-old Leghorn chicks. Poultry Sci., En prensa (1993).
20. Mitchell, D.F.: Incidence and control of poultry diseases in Central and South America. Preventive Vet. Med., 2:269-276 (1984).
21. Moore, V.A.: Infectious leukemia in fowls-a bacterial disease frequently mistaken for fowl cholera. USDA BAI 12th, 13th Annu Rep., 185-205 (1895).
22. Nakano, Y., Onozuka, K., Terada, Y., Shinomiya, H. and Nakano, M.: Protective effect of recombinant tumor necrosis factor- $\alpha$  in murine salmonellosis. J. Immunol., 144:1935-1941 (1990).

23. Nauciel, C. and Espinasse-Maes, F.: Role of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha in resistance to *Salmonella thyphimurium* infection. Infect. Immun., 60:450-461 (1992).

24. Padrón, M.: Generalidades sobre pulorosis y tifoidea aviar. VII Congreso sobre Control y Erradicación de la Tifoidea Aviar. Monterrey, N.L., México 13-21 1987

25. Paul, C., Shalala, K. and Warren, R.: Adoptive transfer of murine host protection to salmonellosis with T cell growth factor dependent, *Salmonella*-specific T cell line. Infect. Immun., 48:40-43 (1985).

26. Pomeroy B.S., and K.V. Nagaraja. Fowl typhoid. In: Diseases of Poultry. Edited by Calnek, B.W., Barnes, H.J., eard, C.W., Raid, W.M., and Yoder, H.W. 9th Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. 87-98 1991.

27. Ramírez, J.H.: Repercusiones económicas de la tifoidea aviar en reproductoras pesadas. VII Congreso sobre Control y Erradicación de la Tifoidea Aviar. Monterrey, N.L., México, 33-39 1987.

28. Randall, C.J.: Enfermedades de las aves domésticas y de corral. Nueva Editorial Interamericana, Madrid, España, 1989.
29. Ray, P.M., McGruder, E., Kogut, M.H., and Hargis, B.M.: The specificity of *Salmonella enteritidis* (SE) immunelymphokine and its protection against other *Salmonella* serovars in day-old Leghorn chicks. J. of Immun., 150:315 (1993).
30. Street, N.E. and Mosmann, T.R.: Functional diversity of T lymphocytes due to secretion of different cytokine patterns. FASEB J., 5:171-177 (1991).
31. Tellez, I.G., Kogut, M.H., and Hargis, B.M.: Immunoprophylaxis of *Salmonella enteritidis* infection by lymphokines in Leghorn chicks. Avian Dis. En prensa (1993).
32. Tizard, I.: *Inmunologia Veterinaria*. 3a ed. Nueva Editorial Interamericana, México, D.F., 1989.
33. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. National Poultry Improvement Plan and Auxiliary Provisions. Veterinary Services, Publication APHIS 91-40. U.S. Government Printing Office. August, 1989.

34. Zar, J.: Biostatistical analysis, 2nd ed. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J. 384-351 1984.

35. Ziprin, R.L., Corrier, R.L. and Elissalde, M.H.: Maturation of resistance to salmonellosis in newly hatched chicks: Inhibition by cycloporine. Poul. Sci., 68:1637-1642 (1989).



Cuadro 1

MORTALIDAD ACUMULADA CAUSADA CON  $10^8$  UFC/ml *Salmonella gallinarum* EN POLLO DE ENGORDA DEL GRUPO TRATADO Y TESTIGOS

| DIA POST<br>INOCULACION | TESTIGO<br>NEGATIVO* | TESTIGO<br>POSITIVO* | SE-SLT<br>+ SG*            |
|-------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|
| Día 3                   | 0/60 (0.00%)         | 0/60 (0.00%)         | 0/60 (0.00%)               |
| Día 4                   | 0/60 (0.00%)         | 9/60 (15.0%)         | 5/60 (8.3%)                |
| Día 5                   | 0/60 (0.00%)         | 30/60 (50.0%)        | 16/60 (26.6%) <sup>b</sup> |
| Día 6                   | 0/60 (0.00%)         | 45/60 (75.0%)        | 36/60 (60.0%)              |
| Día 7                   | 0/60 (0.00%)         | 57/60 (95.0%)        | 50/60 (83.3%) <sup>a</sup> |
| Día 8                   | 0/60 (0.00%)         | 59/60 (98.3%)        | 52/60 (86.6%)              |
| Día 9                   | 0/60 (0.00%)         | 59/60 (98.3%)        | 52/60 (86.6%)              |
| Día 10                  | 0/60 (0.00%)         | 59/60 (98.3%)        | 53/60 (88.3%)              |

a Indica que el valor es significativamente diferente entre los grupos testigo positivo y tratado ( $P < 0.05$ ).

b Indica que el valor es significativamente diferente entre los grupos testigo positivo y tratado ( $P < 0.01$ ).

\* El asterisco indica el No. de muertos sobre el total de aves

Cuadro 2

LESIONES CAUSADAS CON  $10^8$  UFC/ml *Salmonella gallinarum* EN  
POLLO DE ENGORDA DEL GRUPO TRATADO Y TESTIGO

| GRADO DE LESION  | TESTIGO  | TESTIGO  | SE-SLT |
|------------------|----------|----------|--------|
|                  | NEGATIVO | POSITIVO | +SG    |
| Hígado*          | 0.00     | 2.75     | 2.26   |
| (No. aves/total) | 0/60     | 55/60    | 49/60  |
| Bazo *           | 0.00     | 0.85     | 0.86   |
| (No. aves/total) | 0/60     | 36/60    | 28/60  |
| Riñón*           | 0.00     | 1.96     | 1.66   |
| (No. aves/total) | 0/60     | 59/60    | 50/60  |
| Ojo *            | 0.00     | 1.85     | 1.3    |
| (No. aves/total) | 0/60     | 48/60    | 44/60  |
| Intestino*       | 0.00     | 0.5      | 0.46   |
| (No. aves/total) | 0/60     | 15/60    | 11/60  |

\* El asterisco indica el promedio de lesion presentado en los órganos

Cuadro 3 .

SISTEMA UTILIZADO PARA DESCRIBIR EL GRADO DE LESION EN ORGANOS

|        |  |
|--------|--|
| Hígado | 0 - sin lesion visible   |
|        | 1 - hepatomegalia  |
|        | 2 - hepatomegalia con marcada congestión e incremento de la friabilidad  |
|        | 3 - hepatomegalia con marcada congestión e incremento de la friabilidad, hemorragias petequiales, extensas áreas de necrosis y aumento de la vesícula biliar |
| Bazo   | 0 - sin lesion visible   |
|        | 1 - esplenomegalia y congestión  |
|        | 2 - esplenomegalia, congestión y extensas áreas de necrosis  |
| Riñón  | 0 - sin lesion visible   |
|        | 1 - nefromegalia y congestión  |
|        | 2 - nefromegalia, congestión y extensas áreas de necrosis, hemorragias petequiales y engrosamiento de ureteres con uratos                                    |

Ojos        0 - sin lesión visible  
            1 - opacidad de cornea  
            2 - material caseoso cubriendo la retina  
            3 - tumefacción, hipopión y panofalmitis

Intestino 0 - sin lesión visible  
           1 - inflamación moderada  
           2 - ulceración de la mucosa cecal y duodeno

Cuadro 4

POLLOS DE ENGORDA POSITIVOS A *Salmonella gallinarum* A PARTIR DE CULTIVO PRIMARIO DE HIGADO EN LA MORTALIDAD CAUSADA POR  $10^8$  UFC/ml de *Salmonella gallinarum* EN GRUPO TRATADO Y TESTIGOS

| DIA POST INOCULACION | TESTIGO NEGATIVO* | TESTIGO POSITIVO* | SE-SLT +SG*               |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|
| Día 3                | 0/60 (0.00%)      | 0/0 (0.00%)       | 0/0 (0.00%)               |
| Día 4                | 0/60 (0.00%)      | 5/9 (55.5%)       | 0/5 (0.00%) <sup>a</sup>  |
| Día 5                | 0/60 (0.00%)      | 21/21 (100%)      | 9/11 (81.8%) <sup>a</sup> |
| Día 6                | 0/60 (0.00%)      | 14/15 (93.3%)     | 20/20 (100%)              |
| Día 7                | 0/60 (0.00%)      | 8/12 (66.6%)      | 12/14 (85.7%)             |
| Día 8                | 0/60 (0.00%)      | 2/2 (100%)        | 2/2 (100%)                |
| Día 9                | 0/60 (0.00%)      | 0/0 (0.00%)       | 0/0 (0.00%)               |
| Día 10               | 0/60 (0.00%)      | 0/0 (0.00%)       | 1/1 (12.5%)               |

a Indica que el valor es significativamente diferente entre los grupos testigo positivo y tratado ( $P < 0.05$ )

\* El asterisco indica el No. de cultivos positivos a *Salmonella* sobre el total de cultivados

Cuadro 5

INVASION DE ORGANOS POR *Salmonella gallinarum* EN AVES  
SOBREVIVIENTES A LOS 10 DIAS POSINOCULACION

| Grupos<br>experimentales | Organos<br>(bazo e hígado)* | Tonsilas cecales* |
|--------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Testigo negativo         | 0/60 (0.00 %)               | 0/60 (0.00 %)     |
| Testigo positivo         | 1/1 (100 %)                 | 1/1 (100 %)       |
| SE-SLT+SG                | 0/7 (0.00%)                 | 1/7 (14.2 %)      |

\* El asterisco indica el No. de cultivo positivo a *Salmonella* sobre el total de cultivados

Cuadro 6

PESO CORPORAL EN POLLO DE ENGORDA INFECTADO CON  $10^8$  UFC/ml DE *Salmonella gallinarum* EN GRUPO TRATADO Y TESTIGOS

| Día    | Testigo       | Testigo      | SE-SLT*       |
|--------|---------------|--------------|---------------|
| P.i.** | Negativo*     | Positivo*    |               |
| Día 1  | 39.7 ± 3.7a   | 38.4 ± 2.8a  | 39.2 ± 3.1a   |
| Día 5  | 115.3 ± 12.1a | 61.3 ± 20.3c | 70.7 ± 17.8b  |
| Día 6  | 133.7 ± 13.3a | 72.8 ± 17.4b | 79.4 ± 16.8b  |
| Día 7  | 149.8 ± 15.4a | 69.3 ± 15.5c | 87.2 ± 14.7b  |
| Día 8  | 169.1 ± 13.7a | 77.3 ± 19.1c | 108.1 ± 12.7b |
| Día 9  | 187.9 ± 16.4a | 81.5         | 129.2 ± 19.9  |
| Día 10 | 207.6 ± 15.7a | 80.6         | 143.3 ± 17.7  |

\* Valores reportados en gramos. Medias ± D.E. Medias con diferente literal son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) Evaluado mediante la prueba de Duncan

\*\* Posinoculación