



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



38
Zej

IDENTIFICACION DE Pasteurella haemolytica. A PARTIR
DE EXUDADO NASAL DE SEMENTALES OVINOS Y
DETERMINACION DE SU SUSCEPTIBILIDAD A
DIFERENTES ANTIBIOTICOS, EN EL EDO.
DE MEXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

RAUL MARTINEZ JIMENEZ

ASESOR: M. en C. MVZ. HUMBERTO ALEJANDRO
MARTINEZ RODRIGUEZ

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que re visamos la TESIS TITULADA:

" Identificación de Pasteurella Haemolytica a partir
de exudado nasal de sementales cerosos y su susceptibilidad
a diferentes antibióticos en el fdo. de México."

que presenta el pasante: Raúl Martínez Jiménez
con número de cuenta: 8406813-6 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 9 de febrero de 1996

PRESIDENTE	MVZ. Gilberto Ochoa Uribe	
VOCAL	M. en C. Raúl A. Mar Cruz	
SECRETARIO	M. en C. Humberto A. Martínez Rodríguez	
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Oswella Serna Huesca	
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Marco Antonio Mendoza Saavedra	

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el apoyo incondicional que me brindaron.

Al M.en C.MVZ Humberto Alejandro Martínez Rodríguez por el apoyo y la confianza brindada para la realización de este trabajo.

A todos los profesores de la facultad de medicina veterinaria (FES-Cuautitlán) quienes forman día con día a los futuros profesionistas con sus consejos y enseñanzas.

Al Honorable Jurado por la mejor disposición que prestó en la revisión de este trabajo.

Por último un agradecimiento muy afectuoso a mis amigos de la generación 88-92 que creyeron en mí, en especial a:

Angeles de Jesús Jesús
Castillo Marquez Ubaldo
Martínez Vega René

DEDICATORIAS

-A Dios por permitirme llegar al final, por darme la paz y serenidad necesaria para sortear este camino.

-A mi padre:
" IN MEMORIAM ".
Manuel Martínez Rosas
-A mi madre:
Dolores Jiménez Gil

Por ser los padres más comprensivos y carifosos que en afán de mi superación me lo dieron todo, sin miramientos y sacrificios ya que siempre creyeron en mí.

-A mis hermanos:
Rosalba
Clotilde
Francisco
María Guadalupe
María de la Cruz
José Manuel
María de la Paz
José Luis
María Dolores
Manuela

Quienes depositaron su apoyo y confianza en todo momento y por todos aquellos momentos de felicidad que me brindaron.

A ti Adriana Tovar R. que llegaste en los momentos más difíciles de mi vida y que fuiste una gran esperanza para seguir adelante.

INDICE

RESUMEN-----	1
INTRODUCCION-----	3
OBJETIVOS-----	16
MATERIAL Y METODOS-----	17
RESULTADOS-----	20
DISCUSION-----	32
CONCLUSIONES-----	35
BIBLIOGRAFIA-----	37

RESUMEN

La pasteurelisis produce grandes pérdidas económicas en ovinos, no sólo por muerte sino también por disminución en ganancia de peso con frecuentes cifras de morbilidad de un 40 % y una mortalidad de un 5 % .

Los objetivos del presente trabajo son: aislar y determinar los biotipos existentes de Pasteurella haemolytica en exudado nasal de ovinos y determinar la sensibilidad a diferentes antibióticos. Se trabajaron 114 muestras de exudado nasal de ovinos de raza, Suffolk, Rambouillet y criollos sin importar el peso, edad; Ubicados en los municipios de Xatatlaco, Cuautitlán Izcalli y Huehuetoca, pertenecientes al Edo. de Mex., Los cuales tienen un sistema de producción mixto; dichas muestras se trabajaron en el laboratorio de bacteriología de la FESQ. UNAM. Campo 4., Posteriormente se realizaron las pruebas primarias y secundarias según Cowan y Steel para determinar género y especie. después se identificó su biotipo por medio de la utilización de Arabinosa y Trehalosa.

Ya identificadas se procedió a realizar la prueba de sensibilidad a diferentes antibióticos, en base de agar de Muller-Hinton por medio de antibiogramas . Los resultados se determinaron expresando el porcentaje de sensibilidad a cada una de las cepas aisladas de los grupos muestreados determinándose

la media del porcentaje del halo de inhibición de cada grupo, e indicando la diferencia entre las tres explotaciones en cuanto a la resistencia (R), intermedio (I) y susceptibilidad (S) a cada uno de los antibióticos, mediante la prueba estadística de Chi-cuadrada.

Del total del muestreo se lograron aislar un total de 33 cepas de E. haemolytica (89.20%) y, 4 cepas de E. multocida (10.80%) a las cuales se les realizó la prueba de sensibilidad.

De los resultados obtenidos en las tres zonas estudiadas, se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa con una (P= .05) a los siguientes antibióticos: Eritromicina, Ampicilina, Penicilina, Cloranfenicol, Gentamicina y Trimetropin-sulfametoxazol, Cefalosporina.

Por lo anterior se ve que existe una relación en cuanto al comportamiento de los antibióticos en cada zona a Trimetropin-Sulfametoxazol, Gentamicina y Cloranfenicol.

Por lo que el tratamiento con un antibiótico específico va a depender de la zona, apoyándonos con estudios de laboratorio para determinar que antibiótico es el de elección en cada explotación, o valorar el que se utiliza de elección en cada una de las explotaciones, ya que muchas veces sirve como tratamiento de primera instancia cuando existen problemas de tipo respiratorio.

INTRODUCCION

MORFOLOGIA. o características del género.

La morfología del género *Pasteurella*, señala que son bacilos cocoides pequeños que tienen aspecto notablemente pleomórfico, aunque se pueden observar células alargadas, éstas son Gram negativas y se tiñen de manera más característica en sus polos, lo que da como resultado la típica propiedad de tinción bipolar, estos bacilos suelen poseer una cápsula cuando se aíslan en fresco, motilidad (-), Aerobios con poder fermentativo, catalasa(+), oxidasa (+), Acido de la glucosa(+), Además para diferenciar a *P. haemolytica* de *P. multocida* se debe tomar en cuenta que *P. haemolytica* es McDonkey (+), hémolisis, indol (-), lactosa (+). (36,20).

SINONIMIAS.

Pasteurelosis; Pulmonía contagiosa de los ovinos; Septicemia hemorrágica, Muermo ovino, Neumonía enzootica (19,31).

ASPECTOS GENERALES.

El término de neumonía enzootica es parte de un complicado complejo de neumonía-pleuresis en los ovinos, siendo una de las causas de mayor pérdida económica en la ovinocultura, por muertes, retardo en el crecimiento, reducción en la ganancia de peso, pérdidas por decomiso en rastros y por costos de medicamentos, ya que la patogenia de la pasterelosis

indica que actúa como agente secundario produciéndonos neumonía (7,13,32).

ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE LA BACTERIA.

La historia de esta bacteria comienza en 1880 con estudios de Pasteur, sobre el cólera de las gallinas, pero existen referencias anteriores (Rivolta 1877, Perroncito 1878 y Toussaint 1879). Trevisan en 1887 da nombre al género y en 1929 Rosen Bush emplea por primera vez el término Pasteurella multocida. En 1960 Talbot y Sneath diferencian los agentes de la pasterelosis de los de la peste y la Pseudotuberculosis.

El subcomité internacional de Pasterelosis individualiza tres géneros en 1967; Yersinia, Francisella y Pasteurella. En 1973 Sneath Johnson, después de estudios de taxonomía numérica, concluye que los géneros Pasteurella, Actinobacillus y Haemophilus, pertenecen a las mismas familias, denominada Pasteurelaceae por Pohl en 1981. Los cambios de denominación son frecuentemente a partir de los estudios bioquímicos y de hibridación del DNA (23).

Recientemente se han denominado varias subespecies de P. multocida, P. multocidae spp. multocida, P. multocida spp. septica, y P. multocida spp. gallicida.

El género comprendía seis especies: P. multocida, P. ureae, P. pneumotropica, P. haemolytica, P. gallinarum y P. aurogenes. Actualmente, según el internacional Journal de Sistema Bacteriológico, P. aurogenes desaparece del grupo, P. ureae pasa a denominarse Actinobacillus ureae y aparecen especies nuevas como: P. avium y P. volantium. En lo que respecta a P. haemolytica la tendencia actual entre los taxonomistas es a clasificarlas en un género nuevo (18,20,45).

Ya específicamente Galtier (1890) en Francia, Lienaux en Bélgica, Linieres (1898) en Argentina, así como Miessner y Schern (1909) en Alemania, fueron los primeros en describir la pasteurelosis de la oveja (24).

PATOGENESIS.

Sin embargo, la patogénesis dentro del complejo de enfermedades en los ovinos, se da en dos fases:

La primera fase, silenciosa o neumonía subclínica, probablemente causada por virus: parainfluenza-3, el respiratorio sincitial y los adenovirus, micoplasmas: M. ovipneumoniae M. mycoides, Clamidias spp. u organismos que actúan independientemente o combinados como E. coli, Corynebacterium spp., dando lugar a la recuperación del animal y manteniéndose en forma crónica,

o puede dar lugar posteriormente a un cuadro clínico de neumonía. La segunda fase es considerada generalmente el resultado de una infección bacteriana superpuesta a la condición clínica inicial, ya que: P. haemolytica y P. multocida son los organismos más frecuentemente involucrados, sin embargo algunos corderos nunca progresan de la fase subclínica a la forma clínica de la enfermedad. A pesar de lo mencionado anteriormente, existe el factor estrés que permite que la enfermedad pase de la primera a la segunda fase. (21,24,32,42).

Una vez que la infección viral se ha establecido en el pulmón, la capacidad fagocítica del macrófago alveolar desciende significativamente, con lo cual las bacterias pueden proliferar y producir lesiones. Cuando se establece P. haemolytica en el tejido, se produce una neumonía intersticial fibrinosa, y cabe señalar que durante la fase logarítmica de crecimiento esta bacteria produce una endotoxina (leucotoxina) la cual causa lesión en el endotelio vascular, desarrollándose así el edema y exudado fibrinoso característico. Además, la endotoxina tiene un efecto citotóxico sobre los macrófagos alveolares, por lo cual, en cuanto la célula fagocítica captura varias bacterias sufre el efecto de la toxina. (9,10,25,36).

Por lo que respecta a la cápsula que presenta la pasteurela,

Esta es una envoltura de naturaleza glucídica que las protege del medio ambiente pulmonar y de sustancias tóxicas, le sirve de reservorio de nutrientes y, además, en los cultivos jóvenes, posee una actividad antifagocitaria (20).

ANATOMOPATOLOGÍA.

En el cuadro anatomopatológico en los casos agudos se observan únicamente petequias en las membranas serosas, mucosas y riñones, asimismo hinchazón moderada de los ganglios linfáticos y de la mucosa del tubo gastrointestinal.

En el curso subagudo las mucosas están inflamadas y enrojecidas, en ocasiones existen úlceras en la mucosa del cuajar.

El líquido de las cavidades orgánicas es seroso o fibrinoso. En el hígado aparecen numerosos focos pálidos de hasta 5mm de tamaño.

En el curso crónico hay delgadez, y en el pulmón pueden hallarse focos de neumonía crupal o grandes segmentos hepaticados, de color gris rojizo y con numerosos procesos necróticos enquistados en una cápsula de tejido conjuntivo (15,19).

P.haemolytica fue aislada experimentalmente en la mayoría de los procesos de consolidación extensa (14).

Hacer un diferencial con: Carbunco, piroplasmosis, infecciones

o intoxicaciones por clostridios, así como de neumonías de otros orígenes. (19,24,31).

EPIZOOTIOLOGIA.

Hay dos síndromes distintivos, dependiendo del biotipo de Pasteurella haemolytica implicada; las cepas de biotipo A, que comprenden 11 serotipos, causan neumonía en rebaños y esporádicamente en individuos, así como infecciones septicémicas en los corderos jóvenes. Las cepas de biotipo T, que comprenden 4 serotipos que causan enfermedad hiperaguda sistémica (7,25,30).

Usualmente en un mismo periodo estacional se presenta una gran incidencia de neumonía en ovejas y carneros, produciéndose un gran número de muertes en adultos, debido a la neumonía continua que se presenta en los rebaños (41).

La Pasteurella haemolytica es uno de los agentes más frecuentes que complican el proceso neumónico en los corderos, sin embargo en México existen pocos estudios que denoten la distribución regional del agente (46).

P.haemolytica y P.multocida son reconocidos como parte de la flora normal de nasofaringe y boca de algunos animales.

Así al realizar un muestreo de exudado nasal en 45 cabras normales, se aislaron once diferentes bacterias de la cavidad

nasal siendo muy importantes P.haemolytica y P.multocida (22,34).

Las infecciones del tracto respiratorio activan una muy compleja y efectiva defensa, ya que éstos agentes tiende a ocupar un sitio específico del aparato respiratorio (4).

Las defensas antimicrobianas pulmonares juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la esterilidad biológica del borrego sano, esas defensas incluyen el sistema mucociliar, fagocitos pulmonares y sustancias extracelulares (37).

La neumonía ovina es también una enfermedad infecciosa aguda de estos pequeños rumiantes particularmente cuando son sometidos a un extremo confinamiento, estrés, caracterizándose clínicamente por fiebre, depresión, descarga nasal, disnea y sonidos bronconeumáticos. (15,16,19,21,22,32,47).

CONTROL Y PROFILAXIS.

El control y la profilaxis de las neumonías en ovinos debe incluir inicialmente un estudio microbiológico y serológico para determinar cuales son los agentes importantes para el hato en particular. Además, parece ser que en forma experimental vacunas inactivadas del virus P13 con adyuvante confieren protección satisfactoria ya que es un agente desencadenante de la pasteurelisis en ovinos, con referencia a P.haemolytica,

se estima que los serotipos A1 y A6 actúan satisfactoriamente como inmunógenos en ovinos induciendo la formación de anticuerpos contra los antígenos capsulares bacterianos, mientras que el serotipo A2 no es un buen inmunógeno, es por esto que se debe de investigar primeramente cuales son los serotipos predominantes de esta bacteria en el hato a inmunizar antes de instituir un programa formal de vacunación. (8,21,30,36).

HISTORIA DE LAS PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS:

Las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos se inician con Alexander Fleming, ya que él tiene el mérito de haber descubierto la penicilina en 1928, anunciando el advenimiento de la moderna era de los antibióticos; primeramente se desarrollaron pruebas de susceptibilidad por dilución en caldo, posteriormente, pruebas de susceptibilidad con discos de papel, ya que con el advenimiento de varios nuevos antibióticos durante la década de 1940, los métodos de dilución en tubos dejaron de ser prácticos para cubrir el gran volumen de trabajo requerido.

En 1943, Foster y Woodruff comunicaron por vez primera el uso de tiras de papel filtro impregnadas con antibióticos en la ejecución de pruebas de susceptibilidad. Vincent y Vincent introdujeron el uso de discos de papel en 1944, aumentando aún más la cantidad de antibióticos que se pueden probar,

simultáneamente. Un año después, Morley, agregó otra variante demostrando que los discos de papel se podían secar luego de aplicar la solución de antibiótico, obviando la necesidad de tener soluciones de reserva frescas disponibles cada vez que se debiera llevar a cabo una prueba.

Este descubrimiento condujo poco después a la fabricación comercial de discos para antibiogramas, no muy diferentes de los utilizados actualmente. Eddy y Col. fueron los primeros en establecer estándares para las diversas concentraciones de antibióticos por utilizar en diferentes discos, a partir de lo cual se desarrollaron las primeras pautas para las aplicaciones clínicas prácticas en el tratamiento de pacientes con enfermedades infecciosas (26).

El empleo de antibióticos en el tratamiento de la pastereulosis neumónica se considera como una medida racional en la terapia. Por lo cual se espera que se produzcan variaciones en la sensibilidad a los antimicrobianos en los aislamientos del agente (46).

El efecto de algunos agentes quimioterapéuticos como la penicilina no son eficaces para el tratamiento de la pastereulosis ya que el microorganismo crea resistencia (49).

La resistencia mostrada por los microorganismos a drogas

usadas terapéuticamente es debido a que es un reservorio de plásmidos y trasposones mediando la resistencia a ampicilina, estreptomina, sulfonamidas y otros antibióticos en las pastereelas y enterobacterias. Algunos de ellos pueden cambiar la línea familiar y ayudar a que los cambios genéticos formen resistencia a los antibióticos en patogenicidad normal (38).

Por lo dicho anteriormente, y debido a la constante aparición de cepas resistentes a las drogas antimicrobianas más comúnmente empleadas en la terapéutica de una enfermedad infecciosa, es conveniente realizar pruebas de susceptibilidad bacteriana in vitro para ser utilizadas como guía para el establecimiento de esquemas terapéuticos que ofrezcan mejores posibilidades de éxito.

La susceptibilidad de los microorganismos in vitro puede medirse por diferentes técnicas que son:

- a) difusión en agar.
- b) dilución en agar o medio líquido.
- c) Métodos automatizados.

En 1943, Foster y Woodruff comunicaron por primera vez el uso de tiras de papel de filtro impregnadas con antibióticos en la ejecución de pruebas de susceptibilidad. Esta técnica presenta

la ventaja sobre la de dilución en tubos de que se puede ensayar más en un antibiótico simplemente colocando múltiples tiras impregnadas con antibióticos en la misma placa (26).

QUIMIOTERAPIA Y FARMACOS DE APOYO AL TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR PASTEURELA.

Las pasteurelas son sensibles a la penicilina, las tetraciclinas, la neomicina, el cloranfenicol, la estreptomina, los compuestos sulfonamídicos y el trimetopim. (21).

Sin embargo, se ha observado que algunas cepas del biotipo A son resistentes a la penicilina. En EE.UU., Chang y Carter descubrieron que la mitad de sus cepas eran resistentes a penicilina, estreptomina y terramicina (30,33).

Experimentalmente en cabras tratadas con dexametasona infectadas con Pasteurella haemolytica A2, ninguna presentó lesiones pulmonares ya que la dexametasona no deja que el proceso infeccioso prospere, por lo cual no deja ninguna duda en el tratamiento de P. haemolytica, excepto en combinación con otros factores como el estrés que predispone inmunosupresión y, por lo tanto, si se presentan lesiones pulmonares (2,42).

Otras sustancias de apoyo para la pasteurelisis donde se valora la susceptibilidad in vitro de bacterias patógenas en veterinaria a Ciprofloxacín, Enrofloxacin y Norfloxacín en donde

la actividad de susceptibilidad de Norfloxacin queda muy por debajo de la actividad antimicrobiana que presenta, Ciprofloxacín y Enrofloxacin que funcionan con una actividad notable contra gérmenes Gram(-) entre éstas se encuentran P.haemolytica y P.multocida (39).

Otros estudios muestran que en el tratamiento con ac. clavulánico y amoxicilina después de la infección reduce enormemente la patología clínica y las manifestaciones bacteriológicas de pasteurela. (17)

El Ceftiofur sódico, una cefalosporina se evaluó in vivo y in vitro en ratones, determinándose que la concentración mínima inhibitoria evaluada fue obtenida con 264 cepas representando 9 géneros y 12 especies de bacterias patógenas en vacas, cerdos, ovejas, caballos, pollos, perros, gatos y seres humanos, teniendo una actividad más amplia que ampicilina en todas las especies incluyendo organismos productores de B-lactamasas ya que éstos pueden emplearse como tratamiento de protección, en infecciones con: E.coli, Haemophilus pleuropneumoniae, H.somnus, P.haemolytica, P.multocida, S.typhi, en comparación con cefalotina y cefamandole, Ceftiofur resultó ser más efectivo nuevamente en P.haemolytica (48).

La acción sinérgica antimicrobiana de Tilosina y

Oxitetraciclina contra la pasteurela bovina nos indica buenos resultados de susceptibilidad de Pasteurela a estos antibióticos (35).

OBJETIVOS:

- a).- Aislar y determinar los biotipos existentes de Pasteurella haemolytica, en sementales ovinos.

- b).- Determinación de su susceptibilidad de Pasteurella haemolytica a diferentes tipos de antibióticos.

MATERIAL Y METODOS

Se tomaron 114 muestras de exudado nasal de sementales ovinos de once hatos, los cuales son de raza Suffolk, Pombouillet y criollos, sin importar el peso, edad, están ubicados en los municipios de Xalatlaco Edo. México 54 muestras, Cuautitlán Izcalli Edo. México (FESC-C) 20 muestras y Huehuetoca Edo. México 40 muestras. En un sistema mixto de producción encierro nocturno y pastoreo durante el día.

Las muestras colectadas se conservarán en un medio de transporte (Stuart) refrigerados hasta el laboratorio de bacteriología FESC-UNAM, Campo 4. Posteriormente, se sembraron en medio de gelosa sangre enriquecido para su aislamiento e identificación mediante la técnica americana de dilución de colonias, después de 24 hrs. de crecimiento en la estufa bacteriológica a 37 grados centígrados, se seleccionaron las colonias por su morfología al realizarles la tinción de Gram, posteriormente a todas aquellas con características de cocobacilo Gram negativo se resembraron para obtener colonias puras, posteriormente a las colonias puras se les realizaron las pruebas siguientes: Gram, Catalasa, Oxidasa, O/F, MacConkey, T.S.T., S.I.M., según la metodología descrita por Cowan y Steel, para determinar género y especie, e identificar su biotipo por medio de la utilización de Arabinosa o Trehalosa.

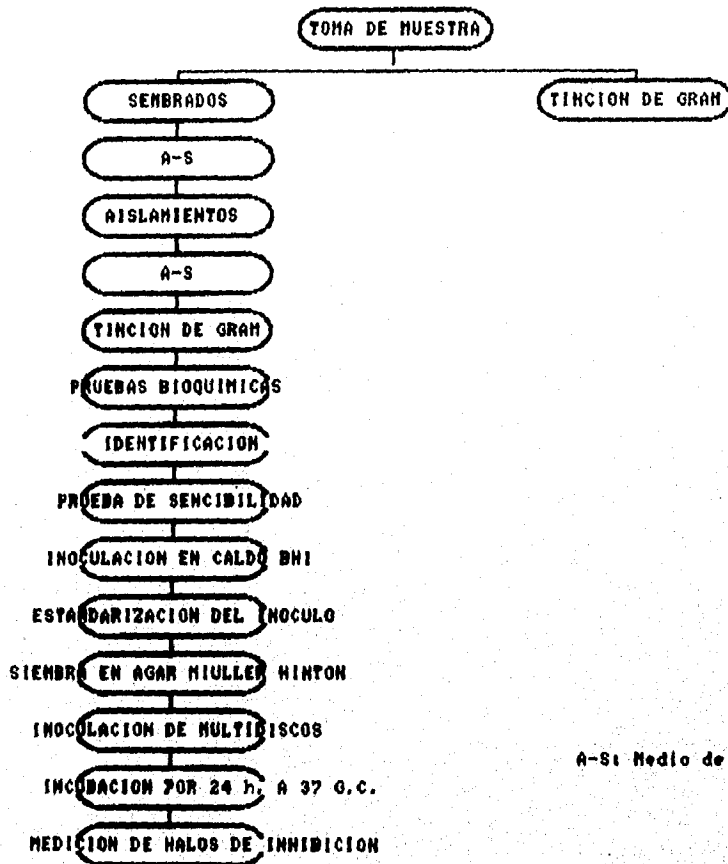
Ya identificadas se procedió a realizar la prueba de sensibilidad a diferentes antibióticos, en base de agar de Muller Hinton. Con una asa de inocular se tomaron unas colonias y se inocularon en 4 ml. de caldo de soya-caseína, se deja incubar a 35 grados centígrados hasta aparecer una turbidez ligeramente visible (2-5 hrs.) la turbidez del cultivo en caldo se ajusta con solución fisiológica para que sea visiblemente comparable al 0.5 del nefelómetro de MacFarlan (10 a la 8 microorganismos/ml.) Posteriormente se inoculó el medio de agar con la suspensión mediante un hisopo de algodón estéril en la suspensión estandarizada, el hisopo se pasó en franjas uniformes en tres direcciones sobre la superficie de la placa de agar para obtener un inóculo uniforme, a los 15 minutos después de inocular la placa, se aplican discos impregnados de antimicrobianos a la superficie de las placas inoculadas y se incuban a 35 grados centígrados durante 48 hrs. Posteriormente se llevó a cabo la medición de los diámetros de inhibición en mm. (ver diagrama #1). Los diámetros de zonas para antimicrobianos individuales se traducen a las categorías de susceptibilidad, intermedios ó resistentes con referencia a una tabla interpretativa. Las interpretaciones para los antimicrobianos son aquellas actualmente recomendadas por la Food and Drug Administration.

Los antibiogramas utilizados contienen, los siguientes antibióticos: Cefalosporina, Eritromicina, Ampicilina, Trimetropim-Sulfametoxazol, Penicilina, Cloranfenicol, Gentamicina.

Los resultados se graficaron, determinando el porcentaje de sensibilidad que presentaron las pasteurelas aisladas, a los diferentes antibióticos y determinándose la media del porcentaje del halo de inhibición de cada grupo y determinando si existe diferencia entre las tres explotaciones en cuanto a la resistencia, susceptibilidad e intermedio a cada uno de los antibióticos antes mencionados.

El análisis de resultados se llevó a cabo mediante el programa estadístico: Stargraphics (chi-cuadrada). Para estimar si existe o no una relación a la respuesta de susceptibilidad, resistencia o intermedio a cada uno de los antibióticos en los tres diferentes municipios.

PLAN DE TRABAJO **DIAGRAMA N 1**



A-S: Medio de Agar-Sangre.

RESULTADOS

Se trabajaron 114 muestras de exudado nasal de ovinos de tres diferentes municipios del Edo. de México, en un periodo de Diciembre a Marzo, lográndose aislar 37 Pasteurellas spp. de las cuales se tipificaron 4 cepas de P. multocida, y 33 cepas de P. haemolytica (ver tabla 1,2,3), y dándonos un porcentaje de aislamiento de 10.8 % y 89.2 % respectivamente (ver grafica #1), a las cuales se les determinó la media del halo de inhibición y pruebas de sensibilidad a diferentes antibióticos (ver tabla 4,5) encontrándose diferencias para cada uno de los antibióticos en las diferentes explotaciones. Además de compararlos entre si con la prueba de chi-cuadrada (ver tabla 6).

Los resultados obtenidos en las tres zonas estudiadas, demostraron que hay una diferencia aparente, estadísticamente significativa con una $(P = .05)$ a todos los antibióticos: Eritromicina, Ampicilina, Penicilina, Cloranfenicol, Gentamicina, Cefalosporina, Trimetropin-Sulfametoxazol (ver graficas de la 2 a la 8).

TABLA 1.
CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DE PASTEURELLA.

	Crecimiento en MacConkey	Hemolisis	Indol	Urea	Laetosa	Manitol
<i>P. multocida</i>	-	-	+	-	-	+
<i>P. haemolytica</i>	+	+	-	-	+	+
<i>P. pneumotropica</i>	-	-	+	+	+	-
<i>P. gallinarum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. aerogenes</i>	+	-	-	+	-	-
<i>P. ureae</i>	-	-	-	+	-	+

TABLA 2.
PORCENTAJE DE PASTEURELAS AISLADAS EN LOS DIFERENTES MUNICIPIOS.

	# de muestras	# de aislamientos	% de aislamientos.
XALATLACO.	54	23	42.59%
HUEHUETOCA.	40	9	22.50%
FES-C.	20	5	25.00%
Total	114	37	32.45%

TABLA 3.
TIPO Y NUMERO DE PASTEURELAS SPP. AISLADAS.

ZONA.	<i>P. multocida</i> .		<i>P. haemolytica</i> .		n=37
	biotipo	A	T		
XALATLACO.	1	10	12		
FES-C.	1	1	3		
HUEHUETOCA.	2	3	4		
total.	4	14	19		

TABLA 4.

DETERMINACION DE LA MEDIA DEL HALO DE INHIBICION DE CADA GRUPO EN CENTIMETRO.

ANTIBIOTICO	XALATLACO	FES-C	HUEHUETOCA
CEFALOTINA	1.01	2.32	2.07
ERITROMICINA	1.45	1.30	0.0
AMPICILINA	0.93	2.52	2.17
TRI-SULFAMETOXAXOL	2.26	2.84	2.70
PENICILINA	0.52	1.34	0.13
CLORANFENICOL	2.35	2.10	2.30
GENTAMICINA	1.93	2.04	1.83

TABLA 5.

DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE INHIBICION DE CADA GRUPO.

ANTIBIOTICO	XALATLACO			FES-C			HUEHUETOCA		
	S	R	I	S	R	I	S	R	I
CEFALOTINA	43.48	47.82	8.70	100	0	0	100	0	0
ERITROMICINA	47.82	43.48	8.70	40	40	20	0	100	0
AMPICILINA	4.35	65.22	30.43	20	20	60	0	11.11	88.89
TRI-SULFAS	100	0	0	100	0	0	100	0	0
PENICILINA	17.39	82.61	0	20	40	40	0	88.89	11.11
CLORANFENICOL	86.96	0	13.04	80	0	20	100	0	0
GENTAMICINA	91.30	8.70	0	100	0	0	88.89	11.11	0

S= Susceptibilidad R= Resistente I= Intermedio

TABLA 6.

CHI-CUADRADA NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE .05
GRADOS DE LIBERTAD 4

	T.calculada	T.tablas
CEFALOSPORINA	12.18	9.48
ERITROMICINA	9.80	9.48
AMPICILINA	12.19	9.48
TRI-SULFAMETOXAXOL	1.98	9.48
PENICILINA	11.06	9.48
GENTAMICINA	1.65	9.48
CLORANFENICDL	2.50	9.48

HIPOTESIS.

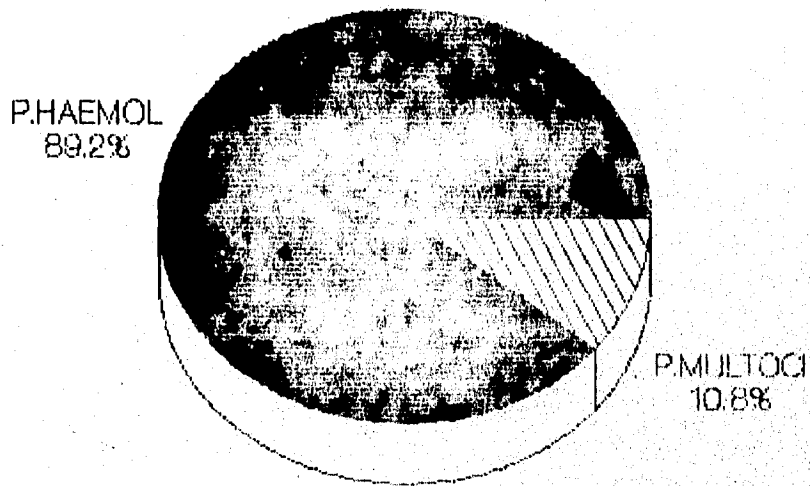
H.O: Existe relación entre las tres explotaciones
en cuanto al comportamiento de los
antibióticos a su sensibilidad.

H.I: No existe relación.

PARAMETRO PARA RECHAZAR O ACEPTAR
LA PRUEBA.

(T. calculada es > T. tablas . . se rechaza H.O)

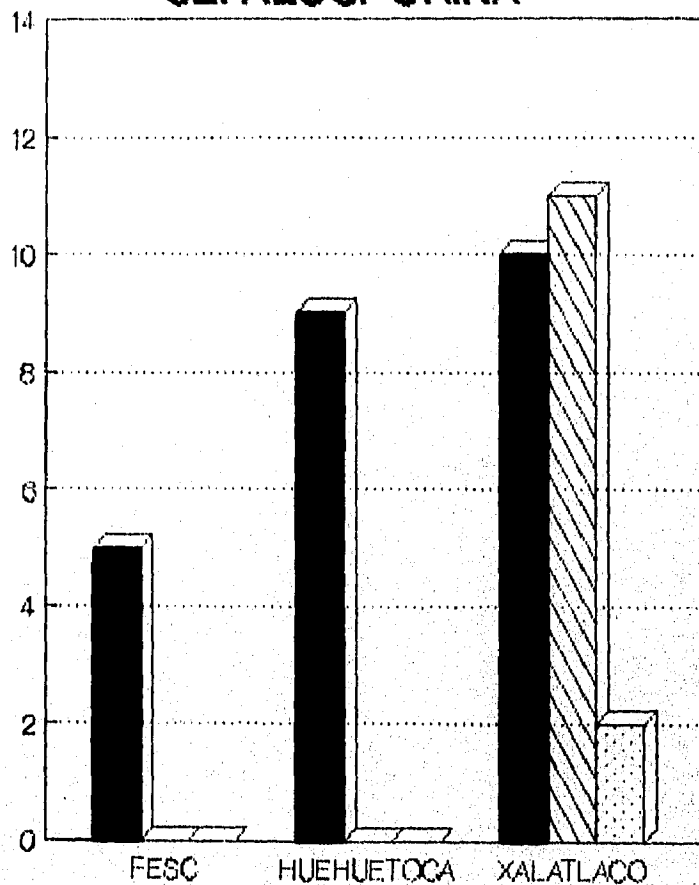
**DISTRIBUCION EN % DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 1**



PORCENTAJE DE CEPAS AISLADAS

(n=37)

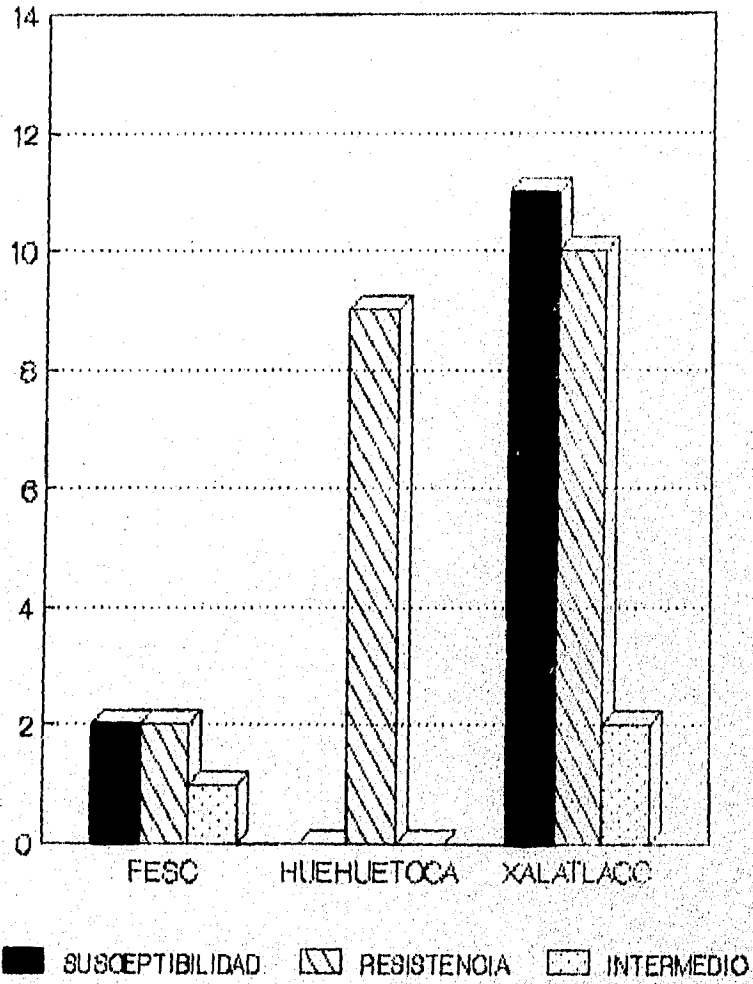
DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 2
CEFALOSPORINA



■ SUSCEPTIBILIDAD ▨ RESISTENCIA ▩ INTERMEDIO

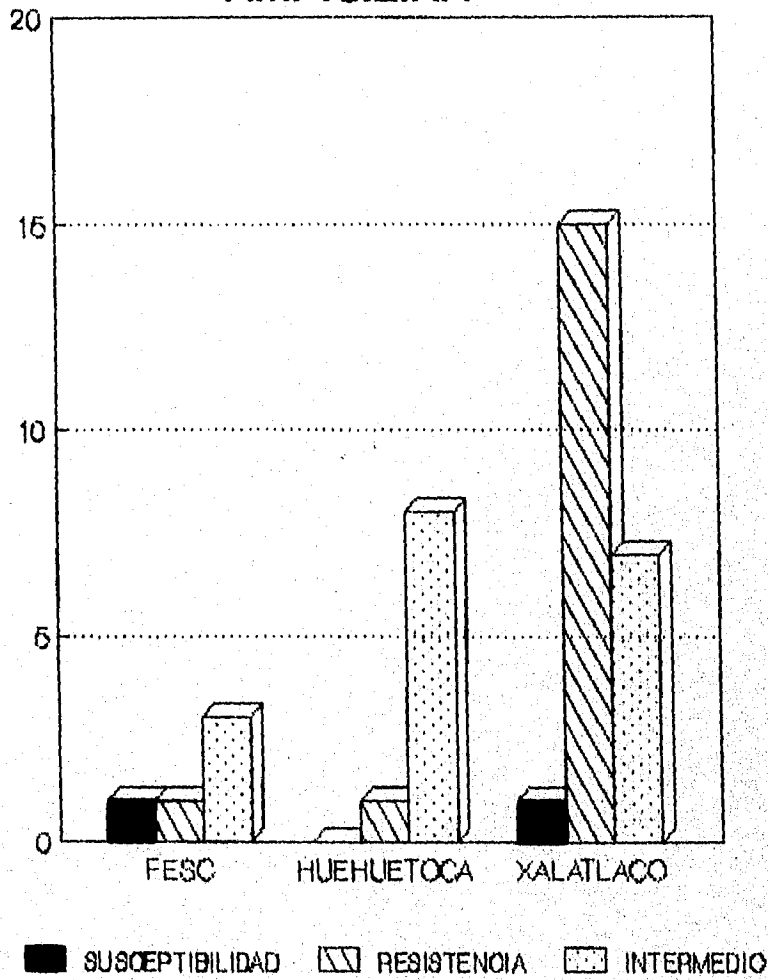
n-37

DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 3
ERITROMICINA



n-37

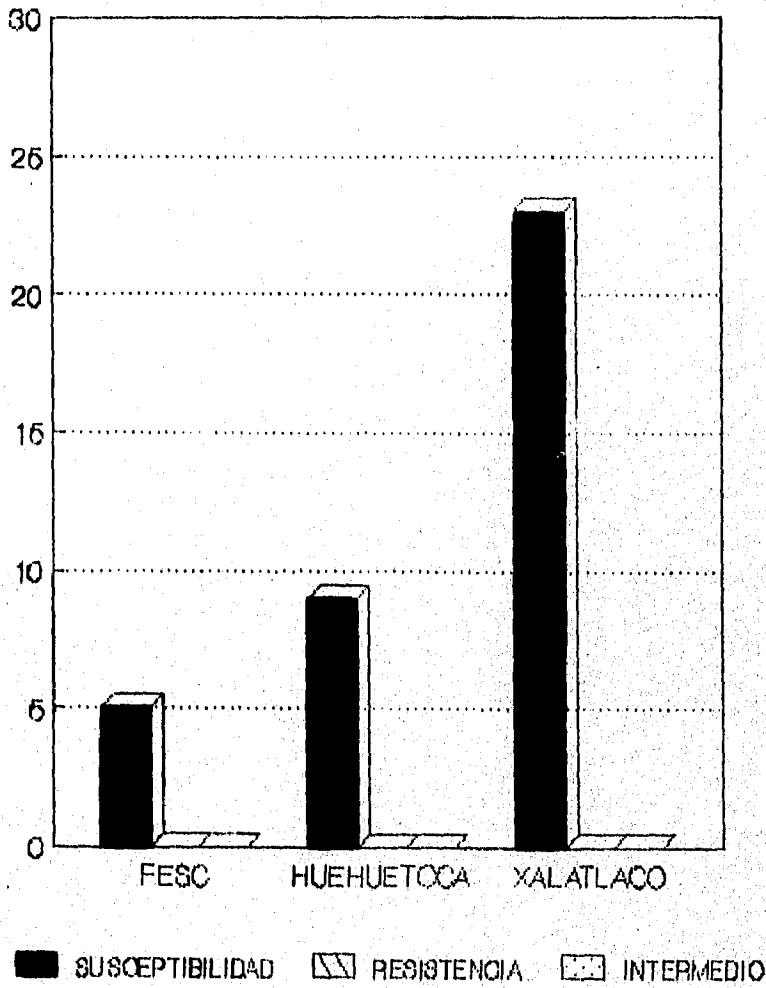
DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 4
AMPICILINA



n°37

**DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 5**

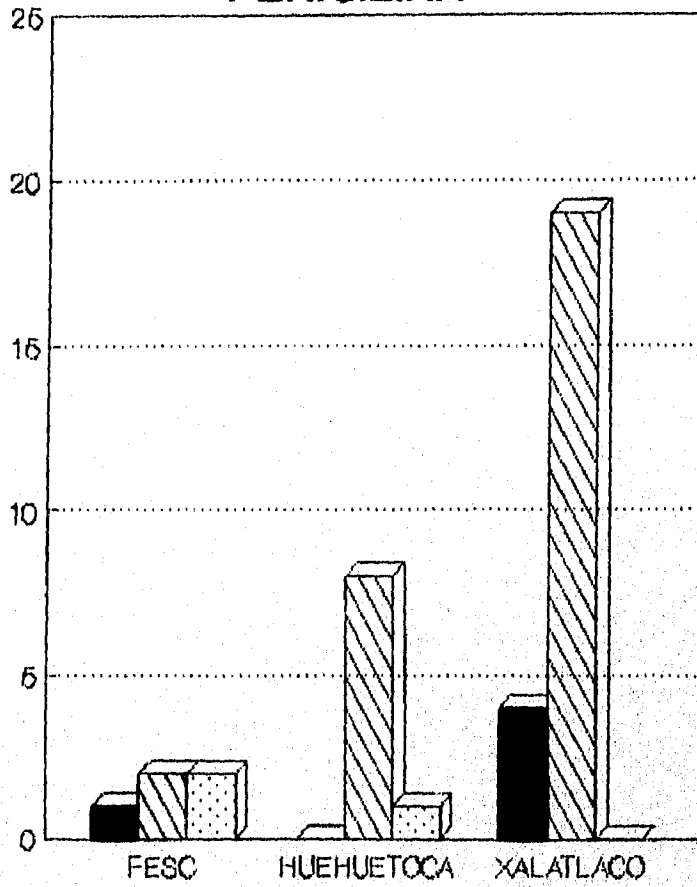
TRIMETROPIN-SULFAMETOXAXOL



n-37

**DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 6**

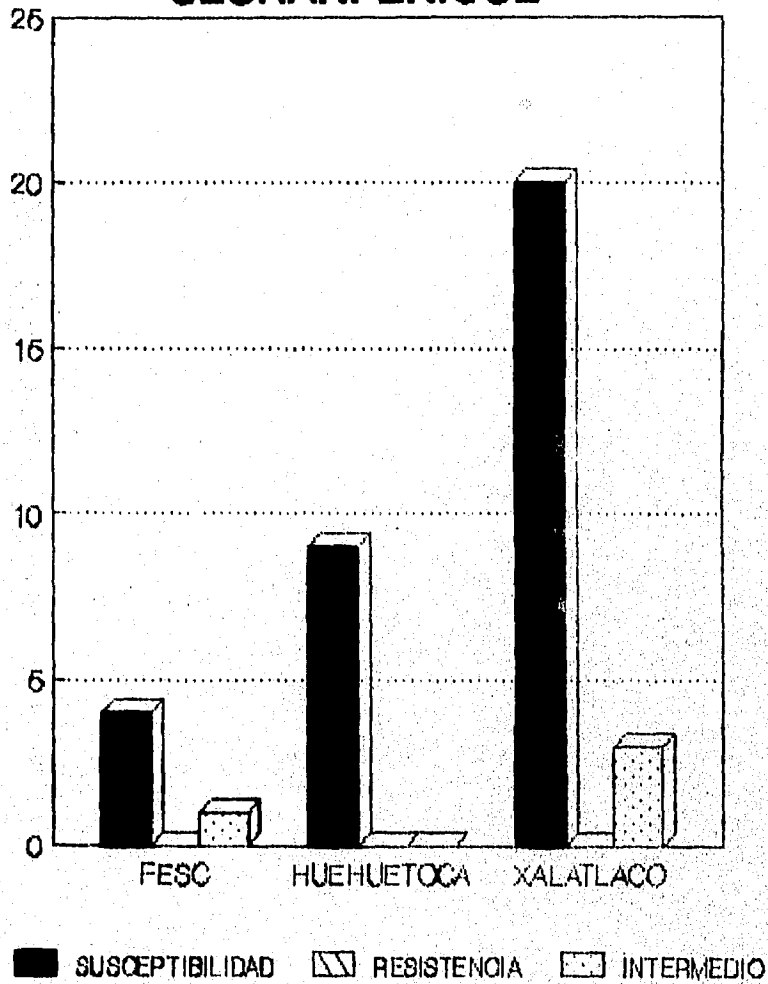
PENICILINA



■ SUSCEPTIBILIDAD ▨ RESISTENCIA ▤ INTERMEDIO

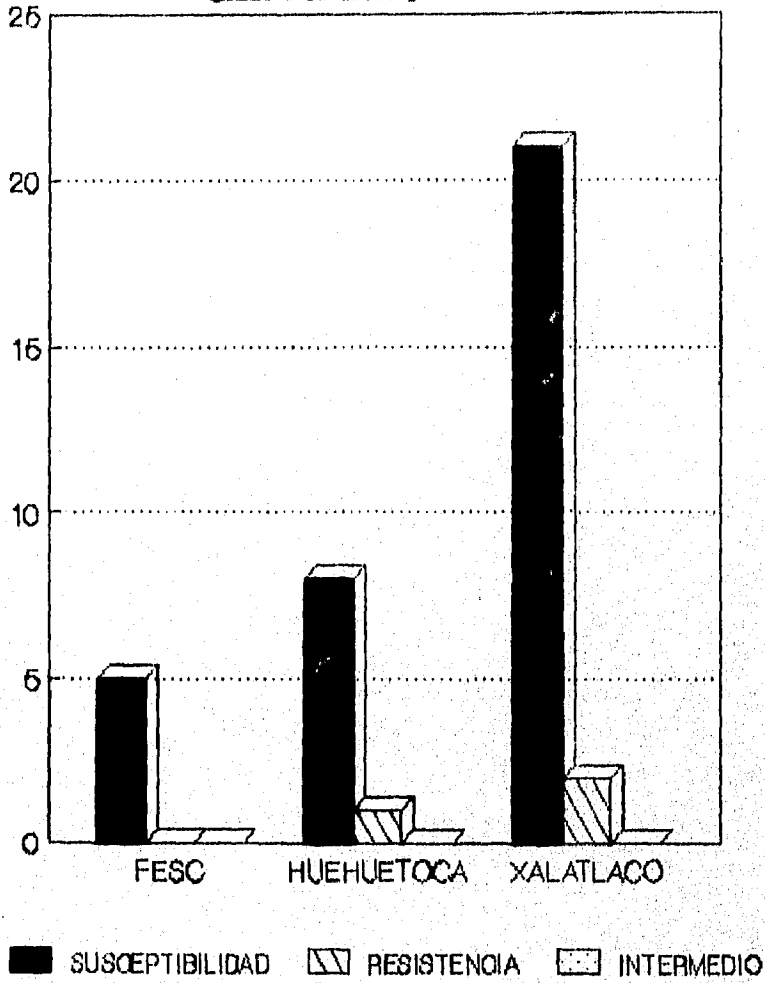
n=97

DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 7
CLORANFENICOL



n-37

DISTRIBUCION DE LAS CEPAS AISLADAS
GRAFICA # 8
GENTAMICINA



n-37

DISCUSION

Las neumonias que se presentan en los ovinos, son una enfermedad de carácter multifactorial que afecta y daña con gran importancia a la ovinocultura repercutiendo en pérdidas económicas muy importantes, los síntomas descritos con frecuencia son de morbilidad elevada y en algunos casos mortalidad por lo que exige un control rápido (7, 21, 23, 35, 41).

Los aspectos crónicos son de más difícil resolución y valoración ya que influyen en los índices productivos como: velocidad de crecimiento, alterando el índice de conversión alargando el periodo de ganancia de peso al mercado, además intervienen diversos factores de manejo, el hacinamiento de animales de distintas edades, animales de distinta procedencia, desequilibrio alimenticio, cambios climáticos, edad, sexo y su estado inmunitario (21, 23, 31,35).

Muchos de los microorganismos presentes en el aparato respiratorio de los ovinos, se encuentran como saprofitos y bajo ciertas circunstancias actúan como oportunistas o requieren de una situación desencadenante para dar inicio al desarrollo de la enfermedad (4,15,16,19,21,22,31,33,43).

Para el presente trabajo se hicieron muestreos de exudado nasal ya que se considera que Pasteurella spp. vive como saprófito en vias respiratorias altas de los ovinos (22,23).

De los resultados obtenidos en 114 muestras de exudado nasal se logro aislar 37 cepas de Pasteurella spp. de las cuales 33 cepas corresponden a Pasteurella haemolytica, y 4 cepas de Pasteurella multocida. Con resultados similares tal como lo mencionan Jasni y col. y Ngatia y col. (22,33).

Además de que el porcentaje de 89.2 % de aislamiento de P. haemolytica nos refiere que generalmente encontraremos menos Pasteurelas para el biotipo A, que generalmente causa neumonia en rebaños así como infecciones septicémicas en corderos jóvenes y más cepas del biotipo T que causan enfermedad peraguda sistémica, Encontrandose más de esta última en el presente estudio (7,22,24,29,33).

En este estudio también se encontró una variación muy significativa en cuanto al halo de inhibición de los diferentes antibióticos probados a cada uno de los diferentes grupos resultando una efectividad del 100% a Trimetropin-Sulfametoxazol, La Gentamicina obtuvo un promedio de efectividad del 93.4 % siendo importante ya que en la mayoría de las explotaciones utilizan la Oxitetraciclina contra neumonias.

y con un promedio de susceptibilidad del 89% se obtuvo a Cloranfenicol.

Con Cefalosporina se obtuvo un promedio de susceptibilidad del 81.16 %.

Con Eritromicina se obtuvo un promedio de susceptibilidad del 16.27 %.

Con Penicilina se obtuvo un promedio de susceptibilidad del 12.46 %.

Con Ampicilina se obtuvo un promedio de susceptibilidad del 8.11 %. De igual forma en trabajos recientes de mastitis se ha determinado la etiología de Pasteurella spp. y su sensibilidad a diferentes antibióticos.

CONCLUSIONES

A) De las 114 muestras de exudado nasal que se trabajaron se aislaron un total de 37 cepas de Pasteurella spp. dando un 32.45 % del porcentaje de aislamiento.

B) De las 37 cepas aisladas, 14 cepas correspondieron a Pasteurella haemolytica biotipo A y 19 cepas al biotipo T , además 4 cepas correspondieron a Pasteurella multocida.

C) El antibiótico que mostró una efectividad del 100 % fue Trimetropin-Sulfametoxazol y con una efectividad del 93.4% fue Gentamicina.

D) Otros antibióticos que mostraron una efectividad de menos del 20% no se recomiendan siendo: Eritromicina, Fenicolina y Ampicilina.

E) Los resultados arrojados por la prueba de chi-cuadrada estadísticamente, se concluyó que la sensibilidad a los antibióticos utilizados en las diferentes zonas estudiadas nos indica que el tratamiento va a depender de la zona, lo que nos sugiere apoyarse en exámenes de laboratorio para determinar que antibiótico debiera usarse en una explotación, o valorar el que se utiliza de elección en cada una de las explotaciones que muchas veces sirve como tratamiento de primera elección cuando existen problemas de tipo respiratorio.

F) Por otro lado como los sementales permanecen más tiempo

que las hembras en casi todas las explotaciones, podría ser posible que estén albergando cepas resistentes, aunado a que los sementales se encuentran periódicamente en contacto con las hembras a cubrir por lo que se debe tener en cuenta un estudio de laboratorio mas constante para dar tratamientos efectivos contra enfermedades respiratorias de los ovinos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aguirre, M.L. Etiología de la mastitis bovina y su sensibilidad a antibióticos en establos de la zona centro del estado de Chihuahua. Reunión de investigación pecuaria en México, D.F. 1985. 60. SARH.
- 2.- Alley, M.R. y Clarke, J.K. (1980) The effect of chemotherapeutic agents on the transmission of ovine chronic non-progressive pneumonia. N.Z.Vet.J. 28:77-80.
- 3.- Appleyard, W.T, Gilmour, N.J.L. (1990) Use of long-acting oxytetracycline against pasteurellosis in lambs. Veterinary Record. 126:231,232.
- 4.- Baskerville, A. (1981) Mechanisms of infection in the respiratory tract. N.Z.Vet.J. 29:235-238.
- 5.- Baxter, R, Chapman, J, and Drew, W.L. (1990) Comparison of bacterial Activity of five antibiotics against Staphylococcus aureus. J. Infect. Dis. 161: 1023-1025.
- 6.- Bkkirchner, T.J. (1983) Pasteurellosis in Rabbits Lab. Anims. Sci. 3: 461.
- 7.- Blood, D.C. y Radostits, O.M. Veterinary medicine. Seventh Edition. Bailliere Tindall. England. 1990.
- 8.- Chandrasekaran, S. (1991) Evaluation of combined pasteurella vaccines in control of sheep pneumonia. Br.Vet.J. 147: 437:443.
- 9.- Charles, M.S. Introducción a la bacterología veterinaria. Acribia. España. 1991.
- 10.- Collins, F. (1977) Mechanisms of acquire resistance to Pasteurella multocida infection. Vet. 67: 103-138.
- 11.- Cowan, S.T, Steel, K.J. (1982). Manual para identificación de bacterias de importancia Médica. C.E.C.S.A. México.
- 12.- Coles, H.E. Diagnóstico y patología en veterinaria. Interamericana. México. 1989.
- 13.- Davies, H.D, Davis, B.G, and Price, C.M. (1980). A Longitudinal serological survey of respiratory virus infections in lambs. N.Z.Vet.J. 28:125-127.

- 14.-De Alwis,L.(1992) Haemorrhagic septicaemia-A general review. Br.Vet.J.148,99.
- 15.-Farming,P.L. La patologia ovina en imágenes.Gra. España. 1964.
- 16.-Galina,H.M.A. Enfermedades de las cabras.UNAM y U.COLIMA México. 1992.
- 17.-Gilmour,L.J.N. (1990) Treatment of experimental pasteurellosis in lambs with clavulanic acid and amoxycillin. Vet.Rec. 126: 311.
- 18.-Howard,J.G., Francis,J.T. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos, 7a Edición. Departamento de microbiología Veterinaria, New York State College of Veterinary Medicine Cornell University, E.U.A.: 84-91.
- 19.-Hiepe,Th. Enfermedades de las ovejas. Acribia España. 1972.
- 20.-Imaz,M.S. y Fernández.de A.J. Acción patógena de las pasteurellas en el síndrome respiratorio bovino. (1990) Med.Vet. 7(1):7-19.
- 21.-James,H.G. y John,F.T. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Cuarta edición. Prensa médica. México. 1983.
- 22.-Jasni,S.Zamri-Saad,M.Mutalib,A.R. and Sheikh-Omar.(1991) Isolation of Pasteurella haemolytica from the nasal cavity of goats.Br.Vet.J.147,352.
- 23.-Jawetz,E. Microbiología médica. Decima edición. Manual moderno. México. 1983.
- 24.-Joachin,B. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos.Acribia. España. 1981.
- 25.-Kimberling,V.C, Jensen A.S. Diseases of sheep. Tercera Ed. Philadelphia. 1988.
- 26.-Koneman,E.N, Tephén,D.A.,Donell,V.R ,Summers,H.M . Diagnóstico microbiológico.Panamericana. Argentina. 1983.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 27.-Licea.V.A.,Tesis profesional, Aislamiento y tipificación de Pasteurella multocida de pulmones neumónicos de cerdos ENEPC. UNAM. La Piedad Michoacan. (1980).
- 28.-Mac Faddin.J.F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. PANAMERICANA. Argentina. 1980.
- 29.-Marek.J. Tratado de diagnóstico clínico de las enfermedades internas de los animales domésticos. Cuarta edición. Labor. España. 1973.
- 30.-Martin.W.B. Enfermedades de la oveja. Acribia. España. 1988.
31. Mascaro.L.A. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Albatros. Argentina. 1975.
- 32.-McGowan.B, Thurley.D.C, McSparran.K.D. and Pfeffer.T.(1978) Enzootic pneumonia-pleurisy complex in sheep and lambs.N.Z.Vet.J. 26:169-72.
- 33.-Neu.H.C. New Antibiotics: Areas of Appropriate Use. (1987). J. infect. Dis. 155: 403-417.
- 34.-Ngatia.T.A, Kimberling.C.V, Jhonson.L.W, Whiteman.C.E. and Lauer mann.L.H,Jr.(1985) Nasal bacterial flora of clinically normal goats. J.Comp.Path. 95:465-468.
- 35.-Ose.E.E. (1976) Synergistic action of tylosin and oxytetracycline against bovine Pasteurella isolates. Vet.Med. January:93-95. Pandit.K.K, Medlesten. Relationship of Pasteurella haemolytica in the nasopharynx and in pneumonic lung. (1991) J.Animal Sciences. 61(8):811-813.
- 36.-Pijoan.A.P, Tortora.P.J.L. Principales enfermedades de los ovinos y los caprinos. U.N.A.M. Mexico. 1986.
- 37.-Pfeffer.A. (1988) Pneumonia following experimental bronchial obstruction in sheep.J.Comp.Path.98:167-176.
- 38.-Philip, W.J.(1990) Haemophilus, Actinobacillus, pasteurella :Mechanisms of resistance and antibiotic Therapy. Can.J.Vet Res.54: 873-877.

- 39.-Prescott.F.J. and Yielding.M.K. (1990) In vitro susceptibility of selected veterinary bacterial pathogens to ciprofloxacin, Enrofloxacin and Norfloxacin. *Can.J.Vet.Res.* 54: 195-197.
- 40.-Rahway.N.J. El manual Merck de veterinaria. Tercera Ed.Centrum. México. 1988.
- 41.-Salsbury,D.L. (1984) Control of respiratory disease and border disease in sheep. *Veterinary Medicine.* March:401-404.
- 42.-Shewen.P. (1986) Pasteurella. In Pathogenesis of bacterial infection in animals. Edited by: Carlton.L.G., Thoen.CH. 147-153.
- 43.-Slocombe.F.R, Watson.L.G. and Killingsworth,R.C. (1989) Effect of Deferoxamine pretreatment on acute pneumonic pasteurellosis and neutrophil oxidative metabolism in calves. *Can.J.Vet.Res.* 54: 227-231.
- 44.-Smania.A.J. Susceptibilidad de Streptococcus agalactia a agentes antimicrobianos. (1988). *Rev. Bras. Patol. Clin.* 24: 6-9.
- 45.-Spanoghe.L. and Okerman.L.(1987) Prevention of rabbit pasteurellosis by inactivated vaccine: field experiments. *Fakulteit Diergeneeskunde, Rijksuniversiteit, Casinoplein 24,B-9000 Gent, Belgium. Revue-de-l Agriculture.*40 : 5, 1283-1293.
46. Velázquez.O.V. Navarrete.A.F. Vera.CH.E. Frecuencia de aislamiento de P.haemolytica y sensibilidad in vitro en cepas obtenidas de corderos de 0-90 días de edad en el Valle de Toluca. 1 Congreso Nacional de Producción Ovina. Zacatecas, Zac. 1988.180, 181,182.AMTEO.
- 47.-Wohlgemuth,W. (1985) Respiratory Diseases. *Sheep Breeder and Sheepman.* May:116-120.
- 48.-Yancey.J.R. and Kinney.L.M.(1987) Ceftiofur sodium, a broad-spectrum cephalosporin; Evaluation in vitro and in vivo in mice. *Am.J.Vet.Res.* 48(7):1050-1053.
- 49.-Zamri-Saad.S.M, Jasni.A.B. and Sheikh-Omar. (1991) Experimental infection of dexamethasone treated goats with Pasteurella Haemolytica A2. *Br. Vet.J.*147.563-567.