UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

VALORACION DE LA VACUNA VIVA ATENUADA PREPARADA CON LA CEPA 9 R DE *Salmonella gallinarum* EN EL CONTROL DE LA TIFOIDEA AVIARIA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

HECTOR OCHOA RESENDIZ

JULIO DE 1970

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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:

Luis Ochoa P.

Raquel R. de Ochoa

A mis hermanos

A mi Asesor Técnico

M.V.Z. Alejandro Cuadra G.

A mi H. Jurado.

Al Laboratorio de Patología Avícola

de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A Tí, Alejandra.

C O N T E N I D O .

INTRODUCCION	p.	1
MATERIAL Y METODOS	"	5
RESULTADOS	"	10
DISCUSION	"	13
CONCLUSIONES	"	16
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	"	17

I N T R O D U C C I O N .

La tifoidea aviaria es una enfermedad de alta incidencia en la población avícola mundial. Esta enfermedad es de gran importancia en la industria avícola porque causa pérdidas económicas considerables, no solamente por la mortalidad que origina, la cual puede ser moderada o elevadísima, según la virulencia del agente causal (S. gallinarum), sino también por los gastos que se derivan de su control y programas de erradicación (3, 15).

La tifoidea aviaria se proyecta como un problema de difícil solución porque el agente causal de la enfermedad presenta fenómenos de resistencia a los fármacos (5), así como por la existencia de portadoras crónicas y la presencia de reactoras que son los vehículos de transmisión más importantes y los que perpetúan y difunden la infección; ya que estas aves infectan no sólo a su propia generación sino a generaciones sucesivas, en virtud de la transmisión del agente causal de la enfermedad a través del huevo (3).

También debe considerarse a esta enfermedad como un problema de salud pública, porque aves enfermas o huevos infectados pueden llegar a ser consumidos por la población humana, causando cualquier tipo clínico de

salmonelosis en el hombre (13).

Ha habido muchos intentos, respaldados en la investigación, encaminados al control y la erradicación de la tifoidea aviaria; así Hammond (1945), Holtman y Fisher (1947), Simms (1946), Albert (1950), consideran el uso de las sulfas como fármacos para el tratamiento de esta enfermedad. -- Sin embargo Bayley (1962) indica que el sulfatiazol sódico y la sulfamerazi-- na pueden realmente contribuir a evitar o reducir la muerte de las aves in-- fectadas, pero los síntomas tienden a reaparecer cuando se suspende el tratamiento; además estos medicamentos no evitan el retraso del crecimiento ni tampoco reducen el número de aves portadoras sobrevivientes de la enfermedad (1). C.W. Titkemeyer demuestra que utilizando sulfas en pollos ex-- perimentalmente infectados con S. gallinarum, se obtiene una recuperación del agente causal de un 82.5%, utilizando clortetraciclina 80% y utilizando -- furazolidona 10%. Glantz et. al. (1955) indica que la aureomicina, bacitracina, cloramfenicol, dihidroestreptomicina, penicilina, terramicina, poli-- mixina B., usadas solas o en combinaciones, sólo tienen un efecto bacteriostático sobre S. gallinarum. Es decir, que ninguna de las sulfas y substan-- cias antibióticas usadas en el tratamiento de la tifoidea aviaria es efectiva.- (14).

La bibliografía que relaciona a las salmonelas con los nitrofuranos es sumamente extensa. No obstante la abundancia de la investigación -- realizada sobre el tema y que deja una cabal evidencia del valor de la furazolidona como elemento de control en las enfermedades que este grupo micro--

biano produce, quedan aún muchos puntos que aclarar (17). Los investigadores están de acuerdo en manifestar que la acción de los nitrofuranos reduce la mortalidad en la tifoidea aviaria, pero las aves sobrevivientes mantienen lesiones crónicas y una alta concentración de anticuerpos en el suero (17).

Debido a los problemas que se originan de la ineficacia de los fármacos para eliminar del organismo animal a las salmonelas, se ha determinado que la solución de la tifoidea aviaria es la erradicación por medio de las pruebas de aglutinación realizadas en condiciones de campo y confirmadas en laboratorio. Sin embargo, otros investigadores han intentado resolver este problema mediante el uso de vacunas que confirieran un suficiente grado de inmunidad.

Para este fin, las vacunas muertas o bacterianas, han sido de menor valor (1, 12). Las vacunas vivas, a pesar de producir una gran medida de protección, no son satisfactorias para usarse en condiciones de campo, ya que las aves vacunadas reaccionan a las pruebas de aglutinación y ésto entorpecería el plan de erradicación de la pulorosis-tifoidea. Podría existir el riesgo de que estas vacunas vivas establecieran la enfermedad en forma activa en condiciones de campo (12).

Como resultado de los trabajos de Williams Smith (18) sobre el uso de vacunas atenuadas, se hizo un notable avance en el control de la tifoidea aviaria, ya que se demostró que la vacuna preparada con la cepa 9R no -

provoca la formación de aglutininas contra S. gallinarum de cepa lisa. No -- mató ni siquiera a polluelos de un día de nacidos, ni disminuyó la productividad de las gallinas ponedoras, durando la inmunidad unas 12 semanas aproximadamente.

El valor de tales vacunas ha sido confirmado por Harbourne (10), W.A.M. Gordon y D. Lucke (9), R.F. Gordon, J.S. Garside y J.F. Tucker (8), Barber (2) y Dikken (5).

Algunos países del Norte, Centro y Sud-América y en aquéllos - donde no se ha implantado un programa de erradicación, consideramos que - el uso de la vacuna 9R puede ser de valor para el control de la tifoidea aviaria.

Este trabajo experimental, bajo condiciones de laboratorio, tendrá como fin valorar la vacuna viva atenuada 9R de Salmonella gallinarum, - en base a su capacidad para producir un grado satisfactorio de inmunidad en un grupo de aves de 11 semanas de edad expuestas con una cepa virulenta de campo de S. gallinarum y que además, no interfiera con las pruebas de sangre que se efectúan para la detección de aglutininas de pulorosis.

MATERIAL Y METODOS.

CEPA DE EXPOSICION.

Antes de iniciar el experimento, fueron seleccionadas quince cepas S. gallinarum, aisladas de casos de campo en el Laboratorio de Patología Avícola de la F.M.V.Z. con el fin de seleccionar de entre ellas la cepa más patógena para utilizarla como cepa de exposición.

De las quince cepas seleccionadas, se escogieron tres cepas que de acuerdo a la historia clínica se identificaron como patógenas (considerando mortalidad y lesiones macroscópicas), la patogenicidad de estas cepas -- se probó en 30 aves raza Vantress de ocho semanas de edad, negativos a la prueba de algutinación de pulorosis, con sangre total en tubo y placa (6).

Estas aves se dividieron (ver cuadro No. I) en grupos de 10 aves, cada uno con cinco machos y cinco hembras.

Las aves de los grupos 2, 3 y 4 fueron infectadas con las cepas - 692, 691 y 769, respectivamente, de S. gallinarum por vía oral, previo ayuno de 18 horas, administrándoles .1 de ml. de un cultivo de 18 horas de incubación en caldo nutritivo. Esta cantidad de cultivo contenía aproximadamen-

te 50 millones de bacterias viables de S. gallinarum (18), cantidad determi-- nada por el método del conteo en placa y por medio del Nefelómetro de Mc.- Farland (11).

Para evitar la acción bactericidad del jugo gástrico se empleó el siguiente álcali cuya composición es: polvo de gis: 40%, Kaolín coloidal: --- 43%, trisilicato de magnesio: 17%; se administró de esta mezcla .3 g. en 1 cc. de agua destilada por cada ave.

Durante tres semanas después de establecida la infección se ob- servó el porcentaje de mortalidad. Se practicó la necropsia de todos los --- animales muertos durante este período y se trató de reaislar S. gallinarum- de hígado, bazo, intestino, vesícula biliar, corazón, ovario y testículo (5).

Cuadro No. I.

DISPOSICION DE GRUPOS, NUMERO DE AVES Y TRATAMIENTO PARA OBTENER LA CEPA DE EXPOSICION.

No. de Grupo	No. de aves Total/gpo.	Machos	Hembras	Tratamiento
1	10	5	5	Testigo
2	10	5	5	Expuesto con la cepa 692
3	10	5	5	Expuesto con la cepa 691
4	10	5	5	Expuesto con la cepa 769

Nota: La dosis de exposición fue de 50 millones de bacterias viables de S. gallinarum por ave.

METODOS DE CULTIVO.

Las muestras de órganos se sembraron en tubos conteniendo --- Bacto Selenite Broth (Difco) y en cajas de Petri conteniendo Mac. Conkey -- Agar; incubándose por 24 horas a 37 °C. A partir de estas siembras se pasó a Brilliant Green Agar, incubándose 24 horas a 37 °C. Las colonias con características similares en crecimiento a Salmonella fueron muestreadas – e inoculadas en Kliger Iron Agar, Surraco y Sim, incubándose a la temperatura y tiempo ya citados anteriormente, para verificar la fermentación y --- producción de gas a partir de la lactosa, glucosa, sacarosa y urea, obser-- vando también la presencia o ausencia de motilidad, indol y producción de -- ácido sulfhídrico. La comprobación de la presencia de S. gallinarum se basó finalmente en las pruebas de aglutinación en placa a partir de las colo--- nias en Kligler Iron Agar y en la fermentación y acidificación de los azúca-- res (maltosa, manitol y dulcitol).

TECNICA DEL EXPERIMENTO.

Al iniciarse el experimento se seleccionaron 90 aves (90% hembras y 10% machos), reproductoras Pilch' s de 11 semanas de edad, negati-- vas a la prueba de aglutinación de pulorosis en placa y en tubo. Fueron di-- vididos al azar en tres grupos cada uno con tres repeticiones y cada repeti- ción de 10 aves (9 hembras y un macho).

Las aves se alojaron en piso, en secciones separadas previa--- mente desinfectadas. El grupo No. 1 quedó como control positivo: sin vacu

narse y sin exponerse (ver cuadro No. II). Las aves del grupo No. 2 se vacunaron subcutáneamente con la cepa viva atenuada 9R de S. gallinarum, la dosis fue de 1 ml. por ave conteniendo aproximadamente 50 millones de bacterias viables (18). Cantidad determinada por el método del conteo en placa y del Nefelómetro de McFarland. Estas aves fueron sometidas a lavados cloacales a los 7 y 14 días después de la vacunación (5).

Tres semanas después de la vacunación, los grupos 2 y 3 infectaron con la cepa seleccionada como patógenas (692) por medio de un cultivo en caldo nutritivo con 18 horas de incubación, a una concentración aproximada de 45 millones por ave y por vía oral (18). La dosis de exposición fue menos elevada que la usada por Dikken (5) e igual a la usada por Williams Smith y Gordon (18, 9).

Cuadro No. II.

DISPOSICION DE GRUPOS, NUMERO DE AVES Y TRATAMIENTO PARA OBTENER INMUNIDAD.

Grupo	No. de lotes por grupo	No. de aves por lote	Total de aves	Tratamientos
1	3	10	30	Testigo. Sin vacunar. No expuesto.
2	3	10	30	Vacunado con cepa 9R y Expuesto con la cepa 692 de S. gallinarum.
3	3	10	30	No vacunado. Expuesto con la cepa 692 de S. gallinarum.

Nota: Dosis de vacunación: 50 millones por c.c. y por ave.
Dosis de exposición: 45 millones por c.c. y por ave.

Las aves que murieron durante el experimento fueron examinadas para determinar el agente causal y observar el curso agudo o crónico de la enfermedad. Se tomó como forma aguda de la enfermedad aquélla que se inició durante los catorce días primeros a la exposición y como forma crónica la iniciada después de los catorce días de la exposición.

Se realizaron pruebas de aglutinación tres semanas después de la vacunación y tres semanas después de la exposición.

Finalizó el experimento tres semanas después de la exposición ya que difícilmente mueren las aves después de ese lapso. Tanto de las aves sobrevivientes como de las que murieron en el transcurso del experimento se trató de reaislar S. gallinarum a partir de hígado, bazo, intestino, corazón, vesícula biliar, ovario, testículo y riñón.

R E S U L T A D O S.

Los resultados obtenidos con el uso de la vacuna viva atenuada - 9R de S. gallinarum se resumen en el cuadro III. Se observa que de 30 --- aves vacunadas y tres semanas después expuestas, murieron 16; en el grupo de aves no vacunadas y expuestas, sobrevivió solamente una ave y en el - grupo control no vacunado, no expuesto, no hubo ninguna baja. La mortalidad se inició aun en las aves vacunadas 5 días después de la exposición y 15 días después ya no siguieron muriendo más aves.

Es importante mencionar que no murió ninguna ave durante tres semanas siguientes a la vacunación, mostrando las aves sólo una pequeña -- reacción consistente en postración y erizamiento de pluma.

Tanto de las aves vacunadas que murieron después de la exposición a la cepa patógena, como las que solamente se expusieron presentaban lesiones severas de tifoidea, lográndose reaislar la S. gallinarum de los órganos afectados.

En las pruebas de aglutinación realizadas tres semanas después de la vacunación, no se encontró interferencia con las pruebas de aglutina--

BIBLIOTECA CENTRAL
U. N. A. M.

ción con sangre completa, con suero en placa y suero en tubo, pues ninguna de las aves vacunadas dio títulos positivos a pulorosis-tifoidea. Las pruebas de aglutinación practicadas a las aves vacunadas sobrevivientes tres semanas después de la exposición mostraron resultados positivos en 13 de los 14 animales muestreados.

De los animales vacúnados sobrevivientes que fueron sacrificados al final del experimento, solamente una ave presentó lesiones graves, una única ave no presentó ninguna lesión y las otras 12 tenían lesiones consideradas como leves. Se tomó el criterio de lesiones graves vuando hubo por lo menos dos órganos afectados con las lesiones siguientes: hepatomegalia con aspecto bronceado, pericarditis, nódulos en el hígado, miocardio y pulmones. El criterio de lesiones leves se tomó en cuenta cuando existieron lesiones únicamente en uno de los órganos (5, 18).

En este caso el ave con lesiones severas mostró hepatomegalia, esplenomegalia y nódulos en miocardio; las lesiones leves en las demás aves consistieron en nódulos en miocardio.

De considerable importancia fue el hecho de no aislar la cepa 9R de S. gallinarum de ninguno de los lavados cloacales, tomados a los 7 y 14 días después de la vacunación, así como el hecho de no aislar de ninguna de las aves sobrevivientes del grupo 2 S. gallinarum de hígado, bazo, intestino, ovario, testículo, riñón y miocardio.

Cuadro No. III.

RESULTADOS DEL USO DE LA VACUNA VIVA ATENUADA 9R

EN AVES PILCH'S EXPUESTAS TRES SEMANAS DESPUES.

Grupo	No. de aves	Aves vacunadas	Aglutinación antes de la exposición	Cepa de exposición	Aves muertas durante 3 semanas siguientes a la exposición	Porcentaje de Mortalidad	Aglutinación después de la 3a. semana de la exposición
1	30	No	0	No	0	0	0
2	30	Si	0	692	16	53 %	14
3	30	No	0	692	29	96 %	1

D I S C U S I O N.

Los datos obtenidos confirman solamente en parte las observaciones de Williams Smith, Gordon y Dikken (18, 8, 9, 5), ya que el porcentaje de protección conferido a las aves vacunadas con la cepa 9R de Salmonella gallinarum y expuestas tres semanas después con la cepa patógena fue solamente de un 46%.

El porcentaje tan bajo de protección, podría explicarse en el hecho de haber utilizado en este experimento, aves de raza pesada (Pilch' s). - Hay que considerar asimismo, que los trabajos realizados por los antes mencionados investigadores, los llevaron a cabo usando aves de raza semipesada y de raza ligera (Thode Island Reds, White Leghorns, Brown Leghorns, Barred Rocks), lo que viene a confirmar la variación entre diferentes razas en su susceptibilidad a la infección y en la respuesta inmunológica a S. gallinarum.

Otro punto a considerar será la cepa de exposición, la cual demostró ser notablemente patógena, ya que siendo la dosis de exposición mucho menos elevada que la usada por Dikken (5), produjo un porcentaje de mortalidad de un 96% en el grupo control negativo; dicho porcentaje es muy

elevado comparándolo con el 64.7%, obtenido por R.F. Gordon con su cepa de exposición.

Existe asimismo la posibilidad de que la cepa de exposición sea una variante de S. gallinarum ante la cual la cepa vacunal 9R no desarrolle una inmunidad satisfactoria; o bien que la cepa 9R esté mutando en sus propiedades o características antigénicas.

Debemos aclarar que el curso de la enfermedad fue agudo (menos de 14 días) y las lesiones encontradas al final del experimento en las aves sobrevivientes vacunadas, fueron probablemente debidas a la cepa de exposición, ya que no existen reportes que indiquen que la vacuna 9R causemuerte, aunque aparezcan lesiones en algunos órganos, es decir, que el uso de la vacuna no parece ser potencialmente peligroso.

Es un hecho que de los trabajos realizados, la vacuna 9R no provocó la formación de aglutininas contra cepas lisas de S. gallinarum y, por lo tanto, su uso no interfiere en las pruebas de aglutinación encaminadas a la erradicación de la pulorosis-tifoidea; pero es obvio que si las aves vacunadas llegan a ponerse en contacto con la infección, se transforman en portadoras de la cepa de campo y las pruebas de rutina para pulorosis-tifoidea, revelarán que son portadoras. Lo anterior se confirmó en los resultados obtenidos, ya que de las 14 aves sobrevivientes, 13 fueron reactoras a las pruebas de aglutinación con sangre total y con suero en placa (lo que indica que hubo una infección). Es decir, un 92% fueron reactoras, dato muy elevado comparado con el 34% obtenido por Dikken (5).

El no aislar la cepa 9R de ninguno de los lavados cloacales, tomados a los 7 y 14 días después de la vacunación, elimina la posibilidad de una transmisión incontrolable y que quizá pudiera ocasionar alguna mutación, o bien que revertiera a cepa lisa la vacuna 9R.

No se logró recuperar la cepa vacunal 9R, así como tampoco la cepa de exposición de las aves sobrevivientes; este dato va de acuerdo a las observaciones de Williams Smith, aunque existen reportes que indican que las aves vacunadas con la cepa 9R en período de postura, aunque en pequeña proporción (8, 7, 18), transmiten la vacuna a través del huevo, lo cual presupone la persistencia de la misma en los tejidos del organismo de algunas aves.

C O N C L U S I O N E S .

En aves Pilch's vacunadas subcutáneamente con la vacuna viva - atenuada 9R de S. gallinarum y expuestas por vía oral tres semanas después con la cepa patógena, se obtuvo un porcentaje de protección de 46%.

La vacuna 9R no provocó la formación de algutininas contra S. - gallinarum de cepa lisa y por lo tanto su uso no interfiere en los programas de erradicación de la pulorosis-tifoidea.

La cepa 9R no se elimina por vía cloacal.

El uso de la vacuna 9R no es potencialmente peligroso, ya que -- no murió ninguna ave durante tres semanas siguientes a la vacunación, ni -- antes de la exposición.

El hecho de no provocar la formación de aglutininas y por lo tanto no interferir en las pruebas de erradicación de pulorosis-tifoidea; el no-eliminarse por las heces, el no causar mortalidad después de su aplicación y la resistencia que adquieren las aves vacunadas sobrevivientes, no obstante el porcentaje bajo de protección obtenido, hacen de esta vacuna viva ate-- nuada de S. gallinarum, un buen recurso para el control de la tifoidea avia— ria en aquellas zonas donde esta enfermedad cause problema.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. BAILEY, J.W. Cuidados y Tratamiento de las Enfermedades de - las Aves. Ed. Aedos. Barcelona, 1962.

2. BARBER. 1. (1959) Laboratory trials on the control of Fowl Typhoid- by vaccination with some observations on the ---- effect of diet. Bull. epiz. Dis. Afr. 7: 379-388.

3. BIESTER, H.E. and H. Schwarte. Diseases of Poultry. Iowa State. -- Fourth Edition. 1959.

4. BROLST D. GREENBERG J. and Jeson, H.M. 1958. Salmonelosis in - Poultry Processing Plants in Pennsylvania. Jour. Am. Vet. Med. Ass No. 133: 435-437.

5. DIKKEN HANS. El uso de una vacuna preparada con la cepa 9R de Salmonella gallinarum en el control de la Tifoidea -- aviaria. Tec. Pec. en México. Vol. II No. 9.

6. DIKKEN HANS. 1966. Comparación entre las pruebas de aglutinación -- con sangre completa en placa, suero en tubo y -- placa y su uso para la erradicación de la puloro-- sis en tres granjas reproductoras. Tec. Pec. en México. 8: 19-23.

7. GLANTZ, P.J. & Gordevks Jr. (1955). In Vitro and vivo Sensitivity of the Fowl Typhoid organism S. gallinarum to antibiotics Poyltry Sc. 34. 880-890.

8. GORDON, R.F.J.S. Garside and J.F. Tucker. The use of living atte-- nuated Vaccines in the control of Fowl Typhoid. - The Vet. Rec. April 11th. 1959. pp. 300-304.

9. GORDON, W.A.M. and D. Lucke A. Note on the use of the 9R Fowl -- Typhoid Vaccine in Poultry Breeding Flocks. Vet. Rec. December 19th. 1959. Vol. 71. No. 44. pp.- 926-927.

10. HARBOURNE, J.F. Ibid. 69. 102.

11. KELSER, R.A. y Schoening. Manuel de Microbiología Veterinaria. Espasa Calpe. Madrid, 1946. pp. 637-639.

12. PRIMER CURSO de Capacitación en Patología Avícola para Países Latino-Americanos. México, 1963. Tifoidea Aviar.

13. SMITH y Martin. Bacteriología de Zinsser. Ed. Uteha. 1960. p. 416.

14. THE MERCK VETERINARY MANUAL. Third Ed. 1967. p. 1269.

15. THE VETERINARY ADVISER "POULTRY WORLD". Enfermedades de las aves en las explotaciones modernas. Ed. --- Acribia Zaragoza. 1962. pp. 78-82.

16. TITKEMEYER, C.S. and S.C. Schmittle. The effect of Drugs on the -- Isolation of Salmonella gallinarum from inoculated chicks. Poultry Sc. Vol. 36. No. 6, p. 1198.

17. TRENCHI, Hebert. El rol de los nitrofuranos en la industria avícola. -- XI. Congreso Mundial de Avicultura. Sec. III.

18. WILLIAMS, Smith H. The use of live vacciones in experimental Salmonella gallinarum infection in chicken with observations on their interference effect. The Jour. of.- Hygiene. Vol. 54. No. 3. Sept. 1956. pp. 419-432.