



MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR  
UNIVERSIDAD DE GRANMA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS  
NATURALES

**TRABAJO DE DIPLOMA  
EN OPCIÓN AL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO Y  
ZOOTECNISTA**

**Título: Evaluación del efecto de la Acetamida  
Furánica Bromada (AFB) frente a cepas salvajes de  
Pasteurella multocida aisladas de gallinas White  
Leghorn L<sub>33</sub> “*in vitro*”**

**Autor:** Cristian Gabriel Jácome Proaño

**Tutora:** MsC. Osmaida Estrada Cutiño

Bayamo, M.N. Cuba.  
“Año del 52 aniversario de la Revolución”  
Latacunga-Ecuador  
**2010 - 2011**

## PENSAMIENTO

*“ . . . el único camino abierto a la prosperidad constante y fácil es el de conocer, cultivar y aprovechar los recursos inagotables e infatigables de la Naturaleza.”*



*José Martí.*

## **DEDICATORIA**

*Yo dedico este trabajo principalmente a mi madre Rosa Narciza quien con su sacrificio y ejemplo me guió y me enseñó a cumplir con mis tareas desde muy niño para que yo llegara a este momento y a la memoria de mi padre Miguel Ángel (fallecido) quien fue un incentivo ya que mediante las experiencias vividas con él, y sus consejos he culminado mi carrera pero dios dio su llamado y me quedara la satisfacción de que cumplí con mi padre y aunque no está vivo sus enseñanzas sigue viviendo dentro de mí por ello les dedico este triunfo.*

*A mi hermano Miguel por que para el quiero ser un ejemplo de estudio, esfuerzo y superación, que ojala emprenda grandes (los) pasos hacia sus sueños y sea orgullo para mi madre.*

*A mi hija Dayanita Estefanía y a mi esposa Alexandra quienes son la razón de mi vida que a pesar de la distancia los tengo presente en mi corazón y este esfuerzo puesto en práctica será para el bienestar de la familia que conformamos.*

*A toda mi familia que me apoyaron a realizar este viaje y por ellos también va este esfuerzo.*

*Cristian Gabriel*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Primeramente quiero dar gracias a Dios por la vida que me ha dado.*

*A mis padres Miguel y Rosa por todo su amor, apoyo y paciencia durante todos estos años que me han guiado.*

*A mi hermano Miguel por todo el amor, apoyo y paciencia que él me ha mostrado durante el transcurso de mi vida y de mi carrera.*

*A mi familia por su soporte moral y amor especialmente a mi hija Dayana Estefania por ser motivo de superación y a mi esposa Alexandra quien ha sido un gran apoyo desde que la conocí.*

*Con mucho respeto y afecto le agradezco a mi tutora Osmaida Estrada Cutiño por su dedicación y esfuerzo para la elaboración de este trabajo y a todos quienes han participado en mi trabajo de investigación.*

## RESUMEN

Se realizó una evaluación del efecto la Acetamida furánica bromada frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* "in vitro", en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Granma. Determinándose la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB), empleando el método de diluciones seriadas en tubos. La CMI y la CMB fueron iguales (8, 25 µg/ml) en una dilución de 1:4. Además se realizó una comparación de la sensibilidad de la *Pasteurella multocida* a diferentes antimicrobianos comúnmente utilizados contra el Cólera Aviar teniendo en cuenta datos estadísticos del Laboratorio Provincial de Diagnóstico Veterinario de Granma en el período 2006-2010, Se realizó un análisis de varianza simple, Prueba de Comparación Múltiple Dunckan y Prueba de Hipótesis entre Proporciones, con un nivel de significación de  $p < 0.05$ , empleando el paquete Statistica v.5.1 Stalsoft. Inc.1998. Se concluye que la acetamida furánica bromada posee acción bactericida sobre la *Pasteurella multocida* "in vitro", lo que puede constituir una alternativa en el tratamiento del Cólera en las aves, Previo estudio. Se recomienda realizar estudios "in vivo".

## **ABSTRACT**

On the other hand we evaluated the effect of the Acetamida furánica bromada in the growth of *Pasteurella multocida* "in vitro" on the Veterinary Faculty Microbiology Laboratory of Granma University. Determined the Minimum Concentration that inhibit (MCI) and Minimum Concentration germicide (MCB) . It was determined that the MCI and the MCB were same (8. 25 µg/ml) in a dilution of 1:4. One analysis done of the data obtained from the cultures of wild stumps of *Pasteurella multocida* pertaining to the years 2006-2010, for comparison the susceptibility of *Pasteurella multocida* to different antimicrobians using against Avian Cholera. A simple varianza analysis, a multiple comparison test Duncan and Hypothesis test for proportions was done with the singnificance level  $p < 0.05$ , using the statistical paquet V – 5.1. Stalsolt Inc. 1998. It is concluded that the product possesses germicide positive action on the *Pasteurella multocida* "in vitro" so it may constitute n alternative the treatment of aviar chollera. Previous study. It is recommended to carry estudies "in vivo".

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....                                    | 1  |
| HIPÓTESIS.....  | 4  |
| OBJETIVO.....   | 4  |
| CAPÍTULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....                         | 5  |
| 2.1. IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA DE LA AVICULTURA.....           | 5  |
| 2.2 CÓLERA AVIAR.....   | 7  |
| 2.2.1 HISTORIA.....   | 9  |
| 2.2.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PASTERELLA.....           | 10 |
| 2.2.3 TRANSMISIÓN.....  | 11 |
| 2.2.3.1 TRANSMISIONES COMUNES.....                              | 12 |
| 2.2.4 SÍNTOMAS.....   | 12 |
| 2.2.5 LESIONES.....   | 15 |
| 2.2.6 DIAGNÓSTICO.....  | 16 |
| 2.2.7 PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD.....                | 16 |
| 2.2.8 TRATAMIENTO.....  | 17 |
| 2.3 USO DE ANTIBIOTICOS EN LA AVICULTURA.....                   | 18 |
| 2.4 MÉTODOS DE ESTUDIOS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS   | 22 |
| 2.4.1 ANTIBIOGRAMA.....   | 22 |
| 2.4.2 MÉTODOS DEL ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.... | 23 |
| 2.4.3 MÉTODOS DE ANTIBIOGRAMA BASADOS EN DIFUSIÓN.....          | 24 |

|  |    |
|--|----|
| 2.4.4 MÉTODOS DE ANTIBIOGRAMA BASADOS EN DILUCIÓN.....             | 25 |
| 2.4.5 SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....                                  | 26 |
| 2.4.6 ANTIBIOGRAMA DE MICROORGANISMOS EXIGENTES ANAEROBIOS.        | 26 |
| 2.4.7 CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA.....                        | 27 |
| 2.5 ANTECEDENTES DE LA ACETAMIDA FURÁNICA BROMADA.....             | 29 |
| 2.5.1 TOXICIDAD.....   | 30 |
| CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS.....                             | 32 |
| 3.1 UBICACIÓN EXPERIMENTAL .....                                   | 32 |
| 3.2 TOMA DE MUESTRAS .....   | 32 |
| 3.3 IDENTIFICACION DE LA PASTERELLA .....                          | 32 |
| 3.4 PREPARACION DE LA ACETAMIDA FURANICA BROMADA.....              | 33 |
| 3.5 DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD BACTERIAN A LA AFB (MCI)..... | 33 |
| 3.6 DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA LA AFB (MCB).....  | 33 |
| 3.7 ANALISIS ESTADISTICO.....                                      | 34 |
| CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....                            | 35 |
| 4.1 VALORACIÓN ECONÓMICA.....                                      | 43 |
| CONCLUSIONES.....  | 45 |
| RECOMENDACIONES.....   | 46 |
| BIBLIOGRAFÍA   |    |
| ANEXOS   |    |

# *Trabajo Científico Investigativo*



## **INTRODUCCIÓN**

El desarrollo de la avicultura y especialmente el paso hacia una producción de tipo intensivo ha impuesto la necesidad de establecer una lucha permanente contra las enfermedades de origen bacteriano (Guillot, 1988).

Los principios de base para la prevención y el control de enfermedades infecciosas son higiene y saneamiento. Sin embargo, estas medidas por separado, no son suficientes para prevenir las enfermedades infecciosas. Por lo tanto, es un compromiso contar con un sano manejo incluyendo medidas profilácticas y terapéuticas (Malo, 2004).

La vacunación, erradicación y el tratamiento preventivo son, exitosos solo si aplicamos un programa higiénico y sanitario efectivo, incluyendo un manejo apropiado de la granja. Entre las enfermedades respiratorias avícolas más comunes se encuentra el Cólera Aviar producida por la *Pasteurella multocida*, la que en estos momentos es muy difícil erradicar por el uso indiscriminado de los antibióticos, por lo que se están tomando alternativas para un mejor control de esta enfermedad. Al elegir un fármaco se debe tener en cuenta eficacia, seguridad y costo, pero con los antimicrobianos se adiciona el riesgo de aparición de resistencia bacteriana (López, 2001).

El surgimiento de los quimioterápicos y más tarde de los antibióticos, puso en manos de las ciencias médicas efectivos medios de lucha frente a un gran número de procesos infecciosos. De esta forma las enfermedades entéricas de etiología bacteriana mostraban una notable mejoría aún cuando eran combatidas con esquemas de tratamientos generales e inespecíficos. Las evoluciones favorables que a inicio se apreciaban con estos tratamientos fueron mostrando un retroceso progresivo que obligo al



## *Trabajo Científico Investigativo*

aislamiento del agente etiológico y a la posterior elección del fármaco basado en el conocimiento de la susceptibilidad (Pérez-Montiel, 1989).

No obstante, el uso de los antibióticos, llegó a convertirse en rutina de la práctica médica. En ocasiones un mismo antibiótico era utilizado en el tratamiento de enfermedades que cursaban con manifestaciones clínicas parecidas, pero de etiologías diferentes; en otros casos se prescribían dosis subterapéuticas que contribuían a la adquisición de una antibiorresistencia, además de favorecer las modificaciones de la flora normal. Por otra parte, la práctica de incorporar antibióticos a los piensos con vistas a alcanzar ganancias en el peso vivo de los animales ha sido un factor que, de una forma u otra, ha condicionado la aparición en las enterobacterias y, específicamente entre serovariantes de Salmonellas, de una alarmante resistencia frente a los antibióticos y quimioterápicos de uso más frecuente en la práctica médica. Este comportamiento ha sido denunciado a nivel internacional por diferentes investigadores (Ahuja *Et al*, 1984; Kim *Et al*, 1984; Otner, 1985; Donahue, 1986 y Leeuwen *Et al*, 1986).

A partir del triunfo revolucionario el estado cubano, priorizó el desarrollo de numerosos programas en diversas ramas encaminadas a la utilización en el proceso de elaboración de los fármacos de materia prima cubana. Un ejemplo es la producción del furfural con tecnología cubana a partir del bagazo de caña en 1988, constituyendo un valioso intermediario en la síntesis de numerosos compuestos orgánicos (Saavedra, 1994 y Peña, 2001), algunos de los cuales se han convertido en principios activos para la industria farmacéutica en la rama de la Medicina Veterinaria y humana.

La Acetamida furánica bromada es una sustancia bioactiva, de forma similar a lo reportado en la patente norteamericana (United.States.Patent, 1992) que trata sobre las aplicaciones industriales del 2-(2-bromo-2-nitroetenil)-furano C como potente bactericida y fungicida de amplio



## *Trabajo Científico Investigativo*

espectro de acción. Se ha utilizado para determinar la sensibilidad de la Salmonella en las aves obteniéndose resultados satisfactorios (Gómez, 2000).



## *Trabajo Científico Investigativo*

**HIPÓTESIS:** Si enfrentamos “*in vitro*” la Acetamida Furánica Bromada a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* aisladas de gallinas White Leghorn L<sub>33</sub>, pudiéramos inhibir su crecimiento.

**OBJETIVO:** Evaluar el efecto de la Acetamida Furánica Bromada (AFB) frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* aisladas de gallinas White Leghorn L<sub>33</sub> “*in vitro*”.



## **CAPITULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA DE LA AVICULTURA**

El crecimiento de la población avícola mundial ha creado complejas situaciones de carácter sanitario al haber mayores posibilidades de proliferación microbiana (nivel de exposición), incremento de la virulencia de los agentes patógenos (patogenicidad) y merma del vigor de rusticidad de los animales en explotación (susceptibilidad).

Durante el siglo pasado el crecimiento de la avicultura como principal fuente de producción de alimentos de origen animal ha hecho que el diagnóstico de las enfermedades aviares pase de un contexto meramente médico a un contexto de necesidad indiscutible y por esto la seguridad y rapidez de las pruebas diagnósticas de laboratorio constituyen una herramienta clave para la salud de las aves domésticas, para la economía global y para la seguridad del consumidor (Lesson, 2006).

La industria avícola juega un importante papel en la conversión de granos y otros productos en huevos y carne; constituye, por tanto, una importante fuente para satisfacer fundamentalmente la demanda de proteínas de una población que crece aceleradamente. Cerca del 10% de los ingresos provenientes de las explotaciones pecuarias en el mundo, corresponden a la Avicultura (García, 2002).

La Avicultura actual se basa en la explotación de híbridos comerciales especializados en la producción de huevos (gallinas ponedoras de elevada capacidad) o en la producción de carne (pollos de ceba o broilers de gran velocidad de crecimiento). Tanto unos como otros se caracterizan por realizar una eficiente utilización del alimento, aspecto éste muy importante por constituir los gastos en la alimentación la mayor parte de los costos en las explotaciones pecuarias. (Sánchez *Et al.*,2004)



## *Trabajo Científico Investigativo*

Las instalaciones pecuarias para la explotación aviar no se limitan a las necesidades para estas dos categorías, sino que son imprescindibles otros centros donde se crían los reproductores y los reemplazos de los mismos, centros genéticos y de pie de crías. Existen, además, industrias complementarias que se encargan de la elaboración de pienso (específicos por categorías, algunas de las cuales consumen más de un tipo de pienso), equipos y accesorios (comederos, bebederos, calentadoras, nidales, etc.) (Trujillo, 2003).

Son también necesarios para el normal funcionamiento de la industria: almacenes, frigoríficos, medios de transporte adecuados, laboratorios de diversa índole, mataderos, plantas de incubación, etc. que brindan ocupación a un gran número de trabajadores, facilitando empleos que pueden ocuparse por mujeres. (North, 1984).

Además de suministrar carne y huevos a la población, que es un objetivo principal, la industria avícola permite el empleo de las plumas y la sangre en la fabricación de harinas. Los restos no comestibles también pueden ser utilizados previo procesamiento en la alimentación animal. La gallinaza puede ser empleada como abono y en algunos países como la India, la utilizan como combustible.

Los huevos, aparte de ser utilizados para el consumo de la población, suelen emplearse en la producción de vacunas, en la elaboración de plásticos, adhesivos, colorantes, etc. (Sánchez *Et al.*, 2004).

Esta breve panorámica de los procesos que conforman la industria avícola moderna, nos brinda una ligera idea de su complejidad. En la



## *Trabajo Científico Investigativo*

última década, esta industria se ha desarrollado vertiginosamente tanto cuantitativa como cualitativamente.

Alrededor de 1930, un hombre podía atender como promedio unas 300 aves; las explotaciones tenían más bien un carácter doméstico, la alimentación no se realizaba sobre bases científicas y la productividad de los animales era pobre si la comparamos con las cifras actuales; las gallinas ponedoras no alcanzaban los 100 huevos anuales como promedio, y en unas 10 semanas los pollos de ceba no alcanzaban, por lo general, 1 kg de peso.

Actualmente las ponedoras pueden alcanzar posturas superiores a los 250 huevos anuales, y los pollos de ceba ó broilers llegan a un peso vivo de 1,7 kg en 6 semanas en los países del trópico en vías de desarrollo como Cuba, sin embargo, para los países de avicultura desarrollada este peso llega a 2 kg en 6 semanas y se obtienen niveles de puesta por encima de los 300 huevos anuales (Pérez, 2005).

### **2.2 CÓLERA AVIAR**

El cólera aviar es también llamado cólera de los pollos, pasteurelosis aviar y septicemia hemorrágica aviar. Ésta es la enfermedad más común en las aves de corral, se considera una zoonosis (Rhoades *Et al.*, 1982). El reconocimiento de esta condición patológica es de importancia continuamente creciente para su distinción diagnóstica con la gripe aviar. Esta enfermedad no tiene nada que ver con el cólera humano que es debido al *Vibrio cholerae* (Hurtrel d'Arboval, ,1875).

La familia *Pasteurellaceae* está constituida por 9 géneros, de los cuales *Pasteurella* es el género tipo. Todos los miembros de este género son



## *Trabajo Científico Investigativo*

microorganismos gram-negativos, aerobios-anaerobios facultativos, no esporulados e inmóviles. Según el Comité Internacional sobre Sistemática de Procariotes (<http://www.the-icsp.org/subcoms/Pasteurellaceae.htm7>),

Diferentes especies de *Pasteurella*: (*gallinarum*, *hemolytica*, *anatipistifer* y *pseudotuberculosis*) pueden ser la causa principal del Cólera Aviar, aunque la *Pasteurella multocida* la mayoría de los autores la señalan como agente más extendido de las aves. Este microorganismo está incluido en el grupo de riesgo # 3 para animales y en el grupo de riesgo # 2 para el hombre, según el estado oficial de agentes biológicos que afectan al hombre, animal y plantas en Cuba. La incidencia de esta enfermedad es especialmente en las épocas de cambios ambientales de invierno a verano y viceversa, es preferible anticiparse haciendo una prevención que en la práctica se observa de mucha efectividad.

La *Pasteurella multocida* puede estar presente con cápsula o sin cápsula, en algunas ocasiones llega a presentarse tinción bipolar, Gram (-), inmóvil, es sensible a la luz solar, al calor y a desinfectantes comunes, las especies susceptibles son: pavos, gallinas, gatos, donde las aves adultas y los pollos crecidos son más susceptibles tomando en cuenta que en el gallinero los gallos son mucho más susceptibles que las gallinas y los pavos, también llamados guajalotes y guanajos, son particularmente sensibles, con mortalidades que llegan a 65%.

Esta patología que puede acarrear pérdidas entre las aves afectadas, ya que la letalidad en un brote puede variar desde unas cuantas muertes, si se instituye medidas de control rápidamente, hasta un 60 % o más en brotes de naturaleza agudísima o cuando la enfermedad se instala de forma crónica. Las pérdidas económicas aumentan, si sumamos los costos de medicamentos y disminución de la producción de carne y huevos. (Sánchez, 1990).



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **2.2.1 HISTORIA**

La enfermedad fue registrada en el siglo XVIII. *Pasteurella multocida* fue descubierta por el veterinario alsaciano Moritz, Hurler, (1875) luego fue estudiada sucesivamente por Sebastiano Rivolta en 1877, Edoardo Perroncito y Semmer, veterinarios en Turín en 1878, y Henry Toussaint en Toulouse en 1879. Sin embargo, recién en la década de 1880, Luis Pasteur aisló el agente etiológico y lo separó en cultivo puro por primera vez, al poner a punto un método más eficaz que el de Toussaint. También publicó un procedimiento de vacunación por atenuación con ayuda del oxígeno, el que sería el primer ejemplo de vacuna viva atenuada.

Aunque originalmente es una enfermedad de aves de corral de Europa, esta fue registrada por primera vez en 1943-1944 en América del Norte. Desde entonces los brotes se han registrado casi anualmente entre las aves silvestres. Actualmente esta enfermedad prevalece más en las anátidas silvestres de América del Norte (Pasteur, 2006).

Este agente puede sobrevivir por lo menos un mes en los excrementos, tres meses en cadáveres en descomposición y de 2 a 3 meses en el suelo. La *Pasteurella*, aparentemente, penetra a través de los tejidos de la boca y del tracto respiratorio superior (Christensen, 2002).

La infección por *Pasteurella multocida* se instala, según opinión generalizada, en el tracto respiratorio. El proceso infeccioso puede tomar formas diversas, desde la preaguda/aguda hasta la crónica. En el primer caso se observan pocos signos clínicos antes de que sobrevenga la muerte del animal, y entre las lesiones observadas predominan las propias de una septicemia generalizada. En las formas crónicas puede observarse la presencia generalizada de lesiones supurativas, que suelen afectar el tracto respiratorio, la conjuntiva y los tejidos encefálicos adyacentes (Romero, 2005).

## *Trabajo Científico Investigativo*



La epidemiología del cólera aviar parece compleja. Los sistemas tradicionales de caracterización de serotipos son de poca utilidad para los estudios epidemiológicos. En los últimos años se han ensayado métodos de tipificación molecular en cepas aviares de *P. multocida* de distinto origen. Los resultados obtenidos con estos nuevos métodos llevan a pensar que las aves salvajes pueden constituir un foco de infección para las explotaciones avícolas industriales. Aunque hay menos pruebas al respecto, tampoco cabe excluir la posibilidad de que los mamíferos desempeñen un papel similar. Las aves portadoras parecen intervenir decisivamente en la transmisión del cólera aviar (Christensen, 2002).

### **2.2.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA BACTERIA**

*Pasteurella multocida* es un cocobacilo pleomórfico Gram negativo. En la tinción de Gram puede observarse como formas cocoides o como bacilos cortos o filamentosos, con una típica tinción bipolar, que pueden aparecer sueltos o agrupados en parejas o cadenas cortas. *Pasteurella multocida* es anaerobio facultativo, inmóvil, crece bien en medios de agar sangre, chocolate y Mueller-Hinton, pero no en agar McConkey, eosina azul de metileno (EMB), ni en otros medios selectivos o diferenciales empleados para el aislamiento de enterobacterias. Tras 24 h de incubación en agar sangre, *P. multocida* crece formando colonias lisas de 1–2 mm de diámetro, de un color gris azulado brillante, no hemolíticas y en ocasiones mucosas (Fernández, 2001).

El crecimiento en medio de agar sangre y la característica tinción bipolar ayudan a diferenciar *P. multocida* del género *Haemophilus*, con el que puede confundirse en la observación microscópica inicial. Como la mayoría de las especies del género, *P. multocida* da las reacciones de



## *Trabajo Científico Investigativo*

oxidasa y catalasa positivas, reduce los nitratos a nitritos y es típicamente sensible a la penicilina (López, 2001).

### **2.2.3 TRANSMISIÓN**

La enfermedad se puede transmitir en 3 formas: por contagio de las mismas aves por el agua y alimento. También puede ser transmitida por animales y mamíferos silvestres (gorrión, urracas, palomas, ratas, conejos) y la otra forma que se pudiera transmitir la enfermedad es por animales que han sufrido la enfermedad y se encuentran en la granja (Yamasaki, 2004).

La transmisión a través del huevo probablemente no ocurre. Puede permanecer viable en canales durante 2 semanas a temperatura ambiente y hasta 2 meses en refrigeración. El agente es destruido fácilmente por calentamiento y desecación, muere a 56°C durante 15 minutos o 60°C durante 10 minutos. Susceptible a desinfectantes y a la luz solar.

Las aves que sobreviven a la enfermedad, son portadoras de ella. Esto quiere decir que si quedan sobrevivientes, podrán transmitir la enfermedad a otras aves u otros criaderos. Contaminando el medio ambiente, el alimento y el agua. La bacteria queda en los tejidos muertos y en el suelo del criadero. Las personas sin saber, en el momento de caminar, llevan a la enfermedad en la suela de los zapatos a diferentes lugares y contagiando a los criaderos. Este microorganismo está vivo en el zapato y es contagioso durante un mes o más tiempo. Esto suele suceder cuando invitamos a personas ajenas al criadero. También y lamentablemente se transmite la enfermedad en los coliseos de gallos. (Montero, 2009).



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **2.2.3.1 TRANSMISIONES COMUNES**

Esta puede ocurrir por contacto de aves en aves, contaminación del piso, mal manejo del agua por excretas o contaminaciones de los animales ya enfermos, por lo que se conoce hasta ahora esta enfermedad no se transmite a través de los huevos.

Mayormente ésta enfermedad entra al organismo a través del sistema digestivo o del sistema respiratorio. La *Pasteurella multocida* puede sobrevivir entre 30 a 60 días en sus excrementos, y entre tres a cuatro meses en los desechos contaminados y también de tres a cuatro meses en el suelo. Y su periodo de incubación es de 1 a 4 días y los brotes se presentan después de los diez días después que ya haya sido contraída la infección las grandes mortalidades se observan entre animales mayores de 12 semanas aunque también puede ocurrir en animales muy jóvenes.

### **2.2.4 SÍNTOMAS**

El brote puede declararse de 4 a 9 días luego de la exposición a la infección. En los brotes agudos, las muertes aparecen en esos días siguientes. Rechazan la comida y el agua, pierden peso rápidamente, puede sobrevenir diarrea y una considerable caída en la producción de huevos, la cara, cresta y barbillones tomando un color morado. Si el curso de la enfermedad sigue, las aves permanecen, alejadas, posadas en las perchas, nidos o en el piso, pueden aparecer dificultades respiratorias. Las barbillas pueden estar edematosas y péndulas (<http://patologiaaviaruptc.blogspot.com-/2006/11/colera-aviar.html>).



## *Trabajo Científico Investigativo*

La enfermedad puede también ser clasificada de acuerdo con su apariencia clínica, pudiéndose diferenciar tres formas: la forma sobreaguda, en la cual no se observa morbilidad, las aves mueren antes de mostrar signos de enfermedad “muerte en el nido” o muerte súbita.

La forma aguda, caracterizada por septicemia, con alta morbilidad y mortalidad, descarga mucosa, diarrea, cresta cianótica, peritonitis por yema de huevo, hepatitis, neumonía fibrinopurulenta y hemorragias alrededor del corazón.



**Figura No 1. Focos necróticos en el hígado**

Fuente: <http://www.lah.de/Pasteurella-multocida.92.0.html?&L=6>



**Figura No. 2 Forma aguda del Cólera (peritonitis por yema de huevo)**

Fuente: <http://www.lah.de/Pasteurella-multocida.92.0.html?&L=6>



## *Trabajo Científico Investigativo*

La forma crónica, que se desarrolla por lo general en aves que sobreviven la fase aguda, con barbillas inflamadas y edema facial, infecciones del oído interno o meningitis (que produce signos neurológicos), artritis purulenta, articulaciones inflamadas, cojera.



**Figura No. 3 Forma crónica del Cólera (barbillas inflamadas)**  
Fuente: <http://www.lah.de/Pasteurella-multocida.92.0.html?&L=6>



**Figura No. 4 Forma crónica del Cólera (barbillas inflamadas)**  
Fuente: [vethomopath.com](http://vethomopath.com)



## *Trabajo Científico Investigativo*

La enfermedad suele presentarse en dos formas regularmente: aguda y crónica; en la forma aguda .En algunos casos no se observan signos, pero en otros casos se pueden manifestar un estado febril manteniendo las plumas erizadas, diarrea, cianosis de la cresta y barbillas.

En la forma crónica se pueden encontrar: exudado en la conjuntiva, disnea, tortícolis, necrosis del cojinete plantar, estertor traqueal, retardo del crecimiento y disminución en la producción de huevo entre el 5-15%. Las lesiones microscópicas son fundamentalmente hemorragias intensas y congestión de hígado, bazo y corazón. (Romero, 2005).

### **2.2.5 LESIONES**

En casos agudos, la lesión post-mortem más típica es las *petechiae* observadas en el tejido graso del epicardio. Los focos necróticos sobre el hígado se encuentran usualmente y la hiperhemia general es común. Debido a la velocidad de infección y mortalidad, las aves tienen buena condición física y no exhiben signos de padecimiento prolongado (Rhoades *Et al.*, 1982).



**Figura No. 5. Aspecto del corazón de dos aves afectadas con el  
Cólera aviar**

Fuente: [www.michigan.gov](http://www.michigan.gov)



**Figura No. 6 Muestra del tejido pulmonar de un ave afectada con el Cólera aviar**

Fuente: [www.michigan.gov](http://www.michigan.gov)

### **2.2.6 DIAGNÓSTICO**

Los signos y lesiones que están presentes nos proporcionan una información que pueden ser compatible con la enfermedad de Cólera aviar. Para el diagnóstico definitivo es necesario el aislamiento e identificación del germen, para ello se utilizan los medios agar sangre o agar nutritivo y se recomienda tomar una muestra de médula ósea, corazón sangre, hígado y meninges. La tinción bipolar que presenta este microorganismo no siempre se manifiesta; También es recomendable utilizar la inoculación de animales, como los conejos, ratones de laboratorio (Christensen, 2002).

### **2.2.7 PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD**

En Cuba no existe un programa de inmunoprofilaxis contra el Cólera aviar, por eso es muy importante tomar una serie de medidas higiénicas-sanitarias con vistas a evitar la entrada y propagación de los diferentes



## *Trabajo Científico Investigativo*

especies de *Pasterella*, dentro de las cuales podemos citar: evitar la entrada del personal extraño a la granja, explotar aves de diferentes edades, no mezclar parvadas aparentemente sanas con parvadas que hayan sufrido la enfermedad, control de animales silvestres, control de roedores, realizar una limpieza y desinfección del equipo e instalaciones de la granja, etc. (Montero, 2009).

Además se deben cumplir las prácticas sanitarias que ayudan a prevenir la enfermedad como: la despoblación anual completa de las unidades con definitiva separación entre las aves más viejas y sus reemplazos, Implementación de un programa de control de roedores, eliminación correcta de las aves muertas, suministro de agua segura y limpia, limpiar y desinfectar todos los locales y equipos después de despoblarlos, mantener confinadas a las aves en sus recintos y protegidas contra aves y animales silvestres, dejar vacíos, por lo menos tres meses, lugares que hayan sido contaminados.

Para la aplicación de un programa de vacunación actualmente se utiliza una cepa llamada *Clemson university*, que ofrece buena protección y se recomienda aplicar a los pavos vía oral y vía parenteral en las gallinas a las 4 y 8 semanas de edad. (Treviño, 2001).

### **2.2.8 TRATAMIENTO**

El carácter extremadamente sobreagudo de esta enfermedad no permite a veces realizar un tratamiento curativo satisfactorio, ya que las muertes se presentan sin una sintomatología aparente.

Los medicamentos más efectivos utilizadas en el tratamiento del Cólera Aviar, son la Tetraciclina y Gentamicina. Ya que en el caso de la



## *Trabajo Científico Investigativo*

penicilina la bacteria ha presentado gran resistencia en pruebas realizados en laboratorio, la Enrofloxacin es más efectivo (Malo, 2004).

Aunque en la actualidad se han creado bacterinas con el objetivo de mejorar el control de esta enfermedad entre las que podemos encontrar la Cólera-mex\* lo cual es una bacterina inactivada especialmente diseñada para prevenir las pérdidas asociadas con el Cólera aviar. Contiene adyuvantes e inmunostimulantes que aseguran la inmunogenicidad del producto. La que debe administrarse de 0.5 a 1.0 ml de cólera-mex\* por ave. (<http://www.labis.com/servicedet.asp?id=125>).

### **2.3 USO DE ANTIBIOTICOS EN LA AVICULTURA**

Las sustancias antibióticas o antibacterianas han contribuido de forma notable al mejoramiento de la vida humana, no sólo por sus beneficios directos al salvar múltiples vidas de personas afectadas por infecciones microbianas sino que también han posibilitado preservar importantes fuentes de alimentación para el hombre al rescatar de dichas infecciones a numerosas especies de animales afectadas (Fernández y González, 2005).

En la avicultura los antibióticos han sido utilizados ampliamente y sin dudas han realizado un aporte sustancial al vertiginoso proceso de intensificación e industrialización que ha caracterizado a esta rama de la producción pecuaria. Los beneficios del uso de antibióticos para combatir los casos agudos de enfermedad son irrefutables, un ejemplo altamente ilustrativo lo constituye la enfermedad respiratoria crónica, en la cual estas sustancias han posibilitado una considerable reducción de las altas mortalidades y de las consecuentes pérdidas económicas.



## *Trabajo Científico Investigativo*

Los antibióticos utilizados de forma oportuna, por las vías más convenientes y en dosis terapéuticas brindan un extraordinario beneficio para los animales y para el hombre. No obstante lo anterior, cada día son más las voces de científicos e investigadores que alertan acerca de los peligros que engendra para la humanidad el uso de dosis inadecuadas y de forma extemporánea de los antibióticos.

La resistencia bacteriana a los antibióticos, fenómeno conocido desde hace años, ha pasado a ocupar un lugar preferente en la mente de especialistas que aprecian el ritmo acelerado en que aparecen nuevas estirpes resistentes como consecuencia de la subdosificación o por el uso de los denominados tratamientos preventivos.

La preocupación en este sentido aumenta al comprobarse que el desarrollo de nuevos productos antibacterianos es mucho más largo y más lento que el requerido para que las bacterias desarrollen resistencia. El costo de la investigación de nuevos productos es considerablemente elevado y no pocas veces el producto investigado no llega a acceder al mercado por no cumplir con las exigencias establecidas para esos fines (Fernández y González, 2005).

Hay opiniones diversas, para algunos la resistencia le está ganando la batalla a la investigación y desarrollo, para otros no hay ganadores ni vencidos. Ante tal situación, los investigadores aconsejan que los antibióticos se utilicen preferentemente para los tratamientos de casos agudos y a dosis terapéuticas, evitar la subdosificación y sentencian que solamente el uso racional permitirá obtener los mejores resultados y evitará que su disponibilidad sea cada día más escasa.



## *Trabajo Científico Investigativo*

Tal es la situación que se aprecia a escala internacional la cual no difiere significativamente del panorama cubano, al menos, en lo que a la avicultura se refiere. Atentos a esta alerta, consideramos oportuno poner a disposición de los interesados en la materia una actualización de la problemática relacionada con el uso de antimicrobianos en la avicultura como contribución a la batalla global que desarrolla la humanidad en este sentido.

Durante muchos años el arsenal terapéutico avícola estuvo reducido casi exclusivamente a la Estreptomicina, Penicilina, Cloramfenicol, Oxitetraciclina y la gentamicina, ello generó una elevada proporción de cepas resistentes, lo que obviamente redujo su eficacia. Por otra parte, por razones operacionales en no pocas oportunidades se aplicaban tratamientos antimicrobianos con una frecuencia.

El uso profiláctico de antibióticos añadidos al alimento ha propiciado una prevalencia más alta de brotes de enfermedades entéricas en los animales de producción lo cual a su vez a resultado en el uso más frecuente de los antibióticos con fines terapéuticos, desafortunadamente los antibióticos usados para el tratamiento pertenecen a las clases que se recetan más frecuentemente. (Apajalahti *Et al.*, 2002)

El uso de antibióticos para su tratamiento se ha recomendado, entre otros, el uso de sulfamidas, penicilina, enrofloxacin, flumequina, ácido oxolínico, espectinomicina, tetraciclina, doxiciclina, eritromicina y estreptomicina, con la administración de estos antimicrobianos, por vía oral, a través del agua o del pienso suele ser eficaz para detener la mortalidad y restablecer la producción de huevos.

Particularmente en aves de puesta, ya que en este caso no se dispone de antimicrobianos idóneos aprobados para este uso. En caso de infección es posible recurrir al uso de aquellos aprobados para animales de carne



## *Trabajo Científico Investigativo*

pero teniendo en cuenta que los huevos producidos por estos animales no podrán ser destinados al consumo humano durante un periodo no menor a 7 días.

El medio más eficaz de impedir la introducción de *P. multocida* es seguramente la segregación de los ejemplares infectados. Sin embargo, esto es difícil de llevar a la práctica en un sistema de producción extensivo. Es por ello que se recomienda la vacunación como medida preventiva. Lamentablemente, dadas las dificultades que todavía plantea la elaboración de vacunas vivas eficaces y seguras, en la mayoría de las ocasiones la lucha contra la enfermedad sigue dependiendo de vacunas preparadas con bacterinas, que presentan notables desventajas en comparación con las vacunas vivas.

Se han aislado 16 serotipos de *Pasteurella* aviaries, pero los más frecuentes en los brotes naturales corresponden a los serotipos 1, 3, 4 y 5. Por ello las vacunas suelen contener éstos serotipos de *Pasteurella multocida* inactivados, producidos por fermentación en bioreactores y concentrados por ultracentrifugación. La primera aplicación de la vacuna debe hacerse entre las 8 y 12 semanas de edad y la segunda o revacunación entre las 12 y 16 semanas de edad. A veces puede ser necesaria una tercera aplicación 4 semanas después. La vacuna se aplica por vía subcutánea sus especialidades. Teniendo en cuenta los costos de los ensayos y el consumo de medicamentos de las aves ponedoras es muy posible que ninguno decida hacer el gasto. Ante tan negro futuro, y como ya se indicó al principio de esta exposición, se impone el establecimiento de medidas de bioseguridad y la vacunación de los animales, únicas medidas a la vista, para evitar el contagio y las grandes pérdidas económicas que éste origina (Rutkowska *Et.,al.*, 2000).



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **2.4 MÉTODOS DE ESTUDIOS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS**

#### **2.4.1 ANTIBIOGRAMA**

Son aquellos procedimientos que bajo condiciones específicas y estandarizadas determinan *“in vitro”* la susceptibilidad de una cepa bacteriana a varios antimicrobianos que son opciones de tratamiento para ese agente infeccioso, teniendo dos objetivos detallados así:

El primer objetivo del antibiograma es el de medir la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos. En efecto, la sensibilidad *in vitro* es uno de los requisitos previos para la eficacia *in vivo* de un tratamiento antibiótico. El antibiograma sirve, en primer lugar, para orientar las decisiones terapéuticas individuales (Rodríguez *Et al.*, 2001).

El segundo objetivo del antibiograma es el de seguir la evolución de las resistencias bacterianas. Gracias a este seguimiento epidemiológico, a escala de un servicio, un centro de atención médica, una región o un país, es como puede adaptarse la antibioterapia empírica, revisarse regularmente los espectros clínicos de los antibióticos y adoptarse ciertas decisiones sanitarias, como el establecimiento de programas de prevención en los hospitales. Hay pues un doble interés: Terapéutico y epidemiológico.

En un antibiograma se inician en la década de los 40. En 1940 Heatley introduce uso de papel absorbente con solución con antimicrobiano. En 1944, los primeros discos preparados con penicilina (Vincent y Vincent) para evaluar el nuevo antibiótico. En 1945 Mohs incorpora disco de 15 mm con diseminación radial y el primero en utilizar control de calidad con cepa estándar en la placa.



## *Trabajo Científico Investigativo*

Se realizará un antibiograma siempre que una toma bacteriológica de finalidad diagnóstica haya permitido el aislamiento de una bacteria considerada responsable de la infección (Otaiza ***Et al.***, 2005).

Establecer esta responsabilidad exige una colaboración entre el bacteriólogo y el clínico. En efecto, en ciertas circunstancias, el microbiólogo no podrá determinar con certeza que el aislamiento de una bacteria exige un antibiograma, sin los datos clínicos que le aporta el médico. Por ejemplo, una bacteria no patógena puede ser responsable de la infección de un enfermo inmunodeprimido o en un lugar determinado del organismo. La presencia de signos clínicos puede ser también determinante para la realización de un antibiograma (por ejemplo: la infección urinaria con un número reducido de gérmenes).

Entre las principales indicaciones para realizar un antibiograma se determinara la susceptibilidad de un agente infeccioso a varios antimicrobianos, si esta no es predecible, así como también precisar la susceptibilidad en cepas que pueden tener resistencia a antimicrobianos de uso habitual, considerando evaluar alternativas, permitir evaluar a nivel local la epidemiología de la resistencia en microorganismos y finalmente evaluar la susceptibilidad de nuevos antimicrobianos como opción terapéutica.

### **2.4.2 MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA (Otaiza *Et al.*, 2005)**

- Difusión en agar
- Dilución en agar
- Dilución en caldo
- Métodos automatizados
- E-test



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **2.4.3 MÉTODOS DE ANTIBIOGRAMA BASADOS EN DIFUSIÓN**

Los métodos de difusión se basan en la distribución homogénea del antibiótico sobre los medios sólidos de cultivo. En términos generales los antibióticos se impregnan en discos de papel que se colocan sobre placas de medio de cultivo en las que previamente se ha extendido la bacteria que se considera. Tanto la cantidad de antibiótico como el número de bacterias (inóculo) deben controlarse cuidadosamente. El antibiótico difunde por el agar creando un gradiente de concentración decreciente según se aleja del disco. La bacteria si resulta susceptible no crece en las inmediaciones del disco y forma un halo de inhibición. Dicho halo es más grande cuanto mayor es el grado de sensibilidad de la cepa al antimicrobiano (Rodríguez *Et al.*, 1999).

Esta técnica, denominada de disco-difusión es fácil de realizar, barata, aceptada por los organismos de estandarización y abierta en el sentido que permite analizar cualquier microorganismo y cualquier antibiótico. Incluso puede aplicarse directamente sobre muestras clínicas en infecciones graves como la meningitis.

Los discos con antibiótico deben conservarse en frío. El inóculo para sembrar las placas suele ajustarse por turbidez y debe corresponder con el nivel 0,5 en la escala arbitraria de McFarland. Tras la incubación se miden los diámetros de los halos de inhibición y se interpretan los resultados con ayuda de los puntos de corte establecidos internacionalmente para cada microorganismo y para cada antibiótico.

El principal inconveniente es su carácter sólo cualitativo y su limitación en bacterias anaerobias y de crecimiento lento. También presenta problemas con antibióticos molecularmente grandes que difunden poco sobre el agar.

## *Trabajo Científico Investigativo*



El sistema Epsilon-Test es un ingenioso método de antibiograma por difusión que en lugar de discos utiliza tiras de papel graduadas con valores de CMI e impregnadas con un antibiótico en forma de gradiente de concentración. La intersección del halo de inhibición con la tira de papel indica la CMI del microorganismo para dicho antibiótico.

### **2.4.4 MÉTODOS DE ANTIBIOGRAMA BASADOS EN DILUCIÓN**

Son los métodos clásicos de antibiograma. En términos generales consisten en fabricar varios tubos de medio de cultivo con diferentes concentraciones del antibiótico en cuestión e inocularlos con la cepa que se estudia. Pueden utilizarse medios líquidos o sólidos. La CMI corresponde con el tubo de concentración más baja que logre inhibir el 90% del crecimiento bacteriano (Tromsberry y Hawkings, 1977).

En función del soporte donde se realizan los sistemas de dilución se consideran métodos de macrodilución con tubos independientes y métodos de microdilución que usan placas integradas con múltiples pocillos en cada uno de los cuales se coloca una concentración diferente de antibiótico. Los sistemas automatizados de antibiograma se basan en métodos de microdilución.

Los métodos de dilución son en muchos casos los de referencia por su mayor exactitud y por su carácter cuantitativo (CMI). Se utilizan para confirmar resultados de difusión y en los estudios de sinergia y antagonismo antibiótico. Son más caros y más laboriosos. Tienen más facilidad para contaminarse y no son tan abiertos como la difusión en cuanto al número de antibióticos. Las técnicas de dilución no pueden



## *Trabajo Científico Investigativo*

aplicarse directamente sobre muestras clínicas y en ocasiones la interpretación de resultados es difícil.

La lectura del antibiograma se realiza por turbidez si el medio de cultivo es líquido y por recuento de colonias en medios sólidos. Una vez obtenida la CMI correspondiente a cada antibiótico se interpreta siguiendo los puntos de corte establecidos y la cepa se clasifica como sensible o resistente a efectos clínicos.

### **2.4.5 SISTEMAS AUTOMATIZADOS**

Los laboratorios grandes con muchas muestras clínicas están obligados a realizar muchas pruebas de antibiograma y necesitan sistemas automatizados que ahorren tiempo. Aunque existen muchos todos ellos se parecen bastante entre sí. La inoculación, la incubación y la lectura están automatizadas. Se basan en métodos de microdilución e incluso algunos integran en el mismo panel pruebas bioquímicas de identificación de modo que ofrecen resultados completos de diagnóstico.

### **2.4.6 ANTIBIOGRAMA DE MICROORGANISMOS EXIGENTES ANAEROBIOS**

Pueden utilizarse técnicas de dilución (microdilución) y de difusión (Epsilon-Test). Sólo se realizan en aislamientos valorables clínicamente en los que no existe intervención de microorganismos aerobios. Se utilizan medios de cultivo específicos muy enriquecidos porque suele tratarse de microorganismos exigentes.

Se testan los antibióticos más eficaces frente a estos agentes. Por supuesto todos los métodos deben realizarse asegurando la ausencia de oxígeno. (<http://www.danival.org/600%20microbio/5000micro.html>)



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **2.4.7 CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA**

Es la concentración del antibiótico requerida para impedir el crecimiento bacteriano a partir de la incubación de  $10^{5-6}$  bacterias en fase de crecimiento rápido, en un medio libre de proteínas con pH 7,2, aerobio, durante un periodo de incubación de una noche.

Este término es importante porque se utiliza para determinar la sensibilidad bacteriana a un agente antibiótico específico. Es importante recordar que las condiciones in vivo son distintas a las utilizadas para esta prueba que se realiza in vitro.

En un ser vivo la bacteria generalmente se encuentra en un medio más ácido y anaerobio. Además es mayor tamaño del inoculo bacteriano y probablemente no está en fase rápida de crecimiento; lo cual disminuye el valor predictivo del MIC (Norcia *Et al.*, 1999).

La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), en microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de la incubación repentina. Las concentraciones inhibitoria mínimas son importantes en los diagnósticos de laboratorio para confirmar la resistencia de microorganismos para un agente antimicrobiano y además para monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos.

Las CIMs pueden ser determinadas mediante métodos de dilución en caldo normalmente siguiendo la directriz de un cuerpo de referencia tal como el CLSI, BSAC o EUCAST. Otro, método más moderno es el método E-test usando tiras de un gradiente de concentración antibiótica.



## *Trabajo Científico Investigativo*

Las tiras E-test crean elipses de inhibición microbiana. Los puntos en donde se toma el CIM dentro de la elipse de inhibición es el punto donde el crecimiento bacteriano cruza la tira.

En medicina, las concentración inhibitoria mínimas no solo se usan para determinar la cantidad de antibióticos que recibirá el paciente sino también el tipo de antibióticos usados, que a su vez reduce la oportunidad de resistencia microbiana a agentes antimicrobianos específicos. ([http://es.wikipedia.org/wiki/Concentraci%C3%B3n\\_inhibitoria\\_m%C3%ADnima](http://es.wikipedia.org/wiki/Concentraci%C3%B3n_inhibitoria_m%C3%ADnima)).

Los laboratorios de microbiología clínica pueden escoger diferentes métodos manuales y/o semiautomatizados para realizar una prueba rutinaria de sensibilidad antibacteriana. Esto incluye el antibiograma de disco de difusión de Kirby Bauer, el cual marcó la pauta durante muchos años de los estudios antimicrobianos; la dilución agar; la microdilución en caldo; los gradientes de antibióticos; y por último, los métodos automatizados de instrumentos los que proveen una incubación nocturna, o una incubación más corta.

El Laboratorio de Referencia viene realizando Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) utilizando un método semiautomatizado desde hace ya algunos años, conscientes de la importancia que tiene ofrecer a los médicos la posibilidad de usar una amplia batería de antibióticos y sus concentraciones mínimas adecuadas para el tratamiento de las patologías clínicas en los distintos sitios del organismo.

La CMI es la concentración mínima de un antibiótico expresada en  $\mu\text{g/mL}$  que inhibirá el crecimiento de un microorganismo in vitro. Los agentes antimicrobianos diluidos conjuntamente con una cantidad estandarizada del organismo puro aislado, se incuban de 18 - 24 horas y se dejan en observación hasta que se desarrolle el crecimiento de las bacterias. La



## *Trabajo Científico Investigativo*

cantidad mínima de antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento nos da la CMI.

Uno de los cambios más significativos que han ocurrido en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana en las últimas décadas ha sido el desarrollo de un método automatizado de incubación corta capaz de proveer resultados de sensibilidad en 3.5 horas (Rodríguez *Et al.*, 2001).

El Laboratorio de Referencia tiene el placer de ofrecer el sistema VITEK con el cual acortaremos el tiempo de reporte de sensibilidad antimicrobiana.

Como regla general de la terapia de antibióticos, la concentración del medicamento in vivo debe ser 2 - 4 veces la concentración in vitro. Hay otros factores muy importantes que deben tenerse en cuenta para la elección de un antibiótico: la edad; el peso; el estado general del paciente, como embarazo, anormalidades genéticas o metabólicas, la función hepática o renal; el lugar de la infección; el modo de acción del antibiótico; su potencial tóxico y su interacción con otros medicamentos.

El éxito de la terapia descansa en las manos expertas del médico y del personal capacitado del laboratorio de microbiología clínica para poder elegir el agente apropiado, determinar la dosis más efectiva y la ruta de administración de la droga, todo esto ayudado por los avances de la tecnología. (<http://www.labreferencia.com/content.aspx?id=965>)

### **2.5 ANTECEDENTES DE LA ACETAMIDA FURÁNICA BROMADA**

El Grupo de Desarrollo de Medicamentos de la Universidad de Granma viene trabajando desde el año 1987 en el campo de los derivados furánicos de potencial actividad biológica, empleando la Síntesis Orgánica.

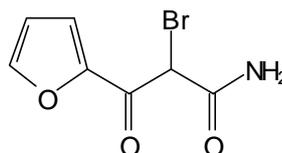


## *Trabajo Científico Investigativo*

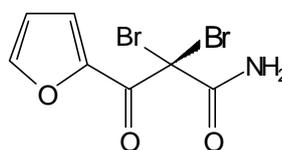
En estos años se han sintetizado más de 100 nuevos compuestos, lo que ha dado lugar a la obtención de 3 patentes de invención, de ellas 2 fueron concedidas a Saavedra (1994).

Entre los compuestos de mayores potencialidades biológicas se destacan los siguientes:

2-bromo-2-(fur-2-yl)-acetamida  
Bactericida-fungicida



2,2-dibromo-2-(fur-2-yl)-acetamida  
Bactericida-fungicida



La evaluación de la actividad biológica que presentan estos compuestos fue realizada en el Centro de Bioactivos Químicos de la Universidad Central de Las Villas con el cual existe una colaboración muy estrecha y fructífera que data de hace varios años.

Los resultados de la evaluación farmacológica preliminar a los compuestos sintetizados por investigadores del Grupo de Desarrollo de Medicamentos de la Universidad de Granma demuestran las inmensas posibilidades de aplicación que estos tienen en la medicina veterinaria y humana, una vez concluidos todos los ensayos y estudios establecidos para el registro de un medicamento. (Saavedra, 1994).

### **2.5.1 TOXICIDAD**

Se realizó un estudio preliminar de toxicidad de la Acetamida Furánica Monobromada con vistas a determinar su dosis letal media (DL-50) y obteniéndose los siguientes valores (Saavedra, 1994).



## *Trabajo Científico Investigativo*

Dosis letal media DL-50 = 1879,317 mg/kg de peso vivo usando como vehículo aceite de maní por vía oral en ratones Balb/c.

Dosis letal media DL-50 igual a 3000mg/ kg de peso vivo por vía oral utilizando como vehículo goma tragacanto en ratones OF-1.

Con estos resultados y teniendo presente la clasificación comúnmente empleada para referir la toxicidad inicial de una sustancia, se puede plantear que la Acetamida Furánica Bromada es muy poco tóxica.



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 UBICACIÓN EXPERIMENTAL**

El siguiente trabajo se realizó en el Laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Granma, Cuba. Además se tuvo en cuenta las estadísticas del Centro de diagnóstico y Epizootiología de la provincia Granma en cuanto a la sensibilidad de diferentes antimicrobianos frecuentemente empleados contra el Cólera aviar durante el período 2006-2010.

#### **3.2 TOMA DE MUESTRAS**

Se tomó una muestra de 20 gallinas ponedoras, White Leghorn L<sub>33</sub> procedentes de la granja avícola "Sierra Maestra", con síntomas y diagnóstico presuntivo de Cólera Aviar, las cuales fueron necrosadas. Según técnica de necropsia convencional para aves de corral (NRAG: 803 - 1985), tomándose muestras de hígado, corazón, pulmón de cada animal, enviándose al departamento de Microbiología para realizar el aislamiento del agente etiológico. La siembra se realizó según la norma de diagnóstico veterinario (Siembra bacteriológica) (NRAG: 1009 – 1989).

#### **3.3 IDENTIFICACION DE LA PASTERELLA**

Para la identificación de la bacteria se utilizó la tinción de Gram, así como las pruebas bioquímicas siguientes: **Catalasa**, Indol, Ureasa y Reducción de Nitratos a Nitritos., en el Laboratorio de Microbiología de la facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Granma.



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **3.4 PREPARACION DE LA ACETAMIDA FURANICA BROMADA**

Se pesaron en una balanza analítica 0.002g (2 mg) del producto y se diluyeron en 30 ml de alcohol al 96% quedando a una concentración de (0.066%). Realizándose diluciones seriadas en logaritmo base 2 hasta lograr diluciones desde 1:1 hasta 1:32. Para estas diluciones se utilizó como medios de cultivo Caldo Mueller-Hinton.

### **3.5 DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE LA BACTERIA A LA AFB (MCI)**

Para determinar la sensibilidad de la bacteria al producto aplicado, se procedió a la preparación del inóculo, utilizando el cultivo puro de cepas a investigar diluyéndose en 5 ml de diluyente estéril, comparándose con el patrón MC Farlam No. 5 = 500 000 *ufc/ml*, tomándose 1 ml y añadiéndose a cada tubo. Los mismos se inocularon a 37°C realizando la lectura a las 48h, determinándose la Mínima Concentración Inhibitoria.

### **3.6 DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE LA BACTERIA A LA AFB (MCB)**

Se realizaron siembras en Agar sangre de carnero al 10 %, se inocularon a 37°C realizándose la lectura 72 horas.

Como control se tomaron cepas de referencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, para determinar la mínima concentración inhibitoria y la mínima concentración bactericida se utilizo 0.002g del producto.



## *Trabajo Científico Investigativo*

Se revisaron los datos estadísticos obtenidos en el Centro de diagnóstico Veterinario y Epizootiología de la provincia Granma con relación a los antimicrobianos más usados contra cepas salvajes de *Pasteurella multocida* desde el período 2006 hasta el 2010.

### **3.7 ANALISIS ESTADISTICO**

Se realizó un Análisis de Varianza Simple y Prueba de Comparación Múltiple Dunckan para detectar diferencias significativa entre los antibióticos utilizados contra el Cólera aviar y Prueba de Hipótesis entre Proporciones, para la comparación de la sensibilidad de las cepas de *Pasteurella multocida* frente a la Acetamida furánica bromada y la Gentamicina. Los análisis se realizaron con el paquete Statistica v.5.1 Stalsolt. Inc.1998.

Además se realizó una valoración económica del costo de producción de la Acetamida Furánica Bromada y los diferentes antibióticos comúnmente utilizados para el control del Cólera aviar, mediante análisis matemático.



### **CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

De las 20 muestras tomadas el 100% fueron positivas a *Pasteurella multocida* confirmando el diagnóstico presuntivo.

Coincidimos con Yamasaki (2004), al plantear que la *Pasteurella gallinarum* y *multocida* son los principales especies de microorganismos que más frecuentemente se aíslan, en animales afectados de Cólera aviar, estos agentes son considerados comensales de membranas y mucosas de las vías respiratorias altas y el tracto digestivo de animales clínicamente sanos, por lo que son considerados invasores secundarios, ya que actúan cuando se encuentra disminuida la resistencia de los animales por diferentes circunstancias. La *Pasteurella multocida* es más virulenta que la *gallinarum* pero esto puede cambiar a medida que esta pasa de un animal a otro.

Sin embargo Torres (2005), al realizar el aislamiento de la *Pasteurella* de un total de 27 animales el 0.52% correspondió a la *Pasteurella gallinarum* y el 0.48% a la *Pasteurella multocida*, no observándose diferencia significativa para  $p < 0.05$ , defiriendo estos resultados de los obtenidos en nuestro trabajo.

De igual manera coincidiendo con Landa (2004), al aislar 59 muestras el 37.3% fue de *Pasteurella multocida* y el 62.7% fueron de *Pasteurella gallinarum*, observándose que estos valores son inferiores a los obtenidos en este trabajo en cuanto a la *Pasteurella multocida*.

Resultados similares a los nuestros fueron reportados por (<http://www.the-icsp.org/subcoms/Pasteurellaceae.htm>) al aislar 30 cepas de *P. multocida* en Argentina a partir de muestras de origen humano y animal, las cuales fueron identificadas y biotipificadas veintidós de ellas (73%) correspondieron a *P. multocida* subsp. *multocida*; cinco (17%) a *P.*



## *Trabajo Científico Investigativo*

*multocida* subsp. *gallicida* y tres (10%) a *P. multocida* subsp. *Séptica*, demostrándose la alta incidencia de la pasterelosis en Latinoamérica

Por otra parte Merchant (1978), plantea que la *Pasteurella multocida* es responsable de varios tipos de infecciones en diferentes especies animales y también puede ser parte de la flora normal del tracto respiratorio.

En la Figura No. 7, puede observarse el crecimiento de las cepas salvajes de *Pasteurella multocida*, el que ocurrió a las 24 h de incubación, observándose en la Tinción de Gram. Cocobacilos Gram.(-), y morfológicamente compatibles con el género *Pasteurella*.



**Figura No. 7 Crecimiento de la cepa salvaje de *Pasteurella multocida***

En nuestro trabajo se identificó la *Pasteurella multocida* mediante pruebas bioquímicas (Tabla No. 1) donde se observó crecimiento en McConkey, se produjo indol y ureasa negativa, reduciendo los nitratos a nitritos, produciendo ácido del manitol y no de la lactosa y formación de catalasa, coincidiendo con (López, 2001).



## Trabajo Científico Investigativo

**Tabla No. 1. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Pasterella multocida***

|                   | <b>McC</b> | <b>Catalasa</b> | <b>Indol</b> | <b>Ureasa</b> | <b>NH<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub></b> |
|-------------------|------------|-----------------|--------------|---------------|--------------------------------------|
| <b>Pasterella</b> | <b>(+)</b> | <b>(+)</b>      | <b>(+)</b>   | <b>(-)</b>    | <b>(+)</b>                           |

Glisson, (2002), plantea que la identificación de *P. multocida* a partir de muestras clínicas puede realizarse fácilmente por sus características de crecimiento y por las pruebas bioquímicas. En general, su característica morfológica en la tinción de Gram, y el crecimiento en medios de agar sangre, junto a las reacciones positivas de oxidasa, catalasa e indol son suficientes para realizar en 18-24 h una identificación presuntiva, coincidiendo con los resultados de este trabajo.

Kouba (1987), refiere que la identificación de *Pasteurella multocida* puede confirmarse con pocas pruebas bioquímicas adicionales; de ellas, las más comúnmente utilizadas son la hidrólisis de la urea, la descarboxilación de la ornitina y la acidificación de la maltosa y de la sacarosa.

Christensen (2002), considera que no se ha determinado ningún factor único que explique las variaciones de virulencia observadas entre distintas cepas de *Pasteurella multocida*, cabe suponer que éstas obedecen a un conjunto de factores, entre ellos los siguientes: la cápsula, la producción de endotoxinas. Aunque a *P. multocida* no parece elaborar toxinas de tipo RTX (*repeats in toxin*), es posible que su exotoxina contribuya a su virulencia en algunas infecciones aviares.



## *Trabajo Científico Investigativo*

En la tabla No. 2 se observan los resultados del antibiograma con la Acetamida Furánica Bromada evidenciándose la sensibilidad y efectividad del producto frente a la *Pasteurella multocida*, al inhibir el crecimiento de la misma a una mínima concentración inhibitoria y la mínima concentración bactericida de 8.25  $\mu\text{g/ml}$  y a una dilución de 1:4 a las 48 horas, lo que demuestra la actividad bacteriostática y bactericida del producto.

**Tabla No. 2 Sensibilidad de la *Pasteurella multocida* frente a la Acetamida Furánica Bromada.**

| Diluciones | AFB diluido en alcohol 96% |                          |
|------------|----------------------------|--------------------------|
|            | MCI ( $\mu\text{g/ml}$ )   | MCB ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
| 1: 1       | 66                         | 66                       |
| 1:2        | 33                         | 33                       |
| 1:3        | 16.5                       | 16.5                     |
| 1:4        | 8.25                       | 8.25                     |

Saavedra, (1994), al estudiar el efecto de la Acetamida Furánica Bromada frente a cepas de referencias obteniéndose los siguientes resultados: *E. coli* (ATCC 25922)( 12.5 $\mu\text{g}$ ), *St. aureus* (ATCC 25923)( 25 $\mu\text{g}$ ), *Ps. auriginosa* (ATCC 27853)( 6.25 $\mu\text{g}$ ) y *C. albicans* (ATCC 10231) (6.25 $\mu\text{g}$ ), como se observa los resultados obtenidos en este trabajo son superiores que el alcanzado para *Ps. Auriginosa* y *C. albicans*.

Sin embargo Gómez, (2000), al utilizar la Acetamida Furánica Bromada contra cepas de *Salmonella* obtuvo los mejores resultados a una dilución de 1:32 y a una concentración de 6.25 $\mu\text{g}$ , no coincidiendo con nuestro trabajo.



## *Trabajo Científico Investigativo*

Por otro lado García (2000), realizó un análisis de tendencias para las concentraciones demostró las mismas son directamente proporcional a la sensibilidad, a medida que esta disminuye, disminuye la efectividad del producto.

Se pudo corroborar en el presente trabajo que el diluyente (alcohol etílico 96%) utilizado no tiene efecto sobre las bacterias, al no observarse la inhibición de la cepa en el medio de cultivo agar Muller Hinton.

Las propiedades bactericida de la Acetamida Furánica Bromada, fueron observadas, coincidiendo con Saavedra (1994), el cual obtuvo resultados similares con cepas de referencias como son E. coli, St. aureus, Ps. auriginosa y C. Albicans.

De igual manera Gómez, (2002), obtuvo resultados similares al enfrentar la Acetamida Furánica Bromada frente a diferentes cepas de Salmonella salvaje.

Por otra parte Estrada (2010), obtuvo similares valores de la MCI y MCB de la Acetamida Furánica Bromada al ser enfrentadas frente a cepas salvajes de Salmonella entérica D O:9 y cepas ATCC de E. coli (12,5 $\mu$ /ml), evidenciándose el efecto bactericida del producto.

En la tabla No. 3 Se observa los resultados de la sensibilidad de los diferentes antibióticos frente a cepas salvajes de Pasteurella multocida, frente a diferentes antibióticos observándose una mayor sensibilidad frente a la Gentamicina, menor sensibilidad a la penicilina.

Esto puede ser debido al uso indiscriminado a que ha sido sometida la penicilina, lo que contribuye al incremento de la resistencia por parte de los microorganismos.



## Trabajo Científico Investigativo

**Tabla No. 3 Sensibilidad de cepas salvajes Pasteurella multocida frente a diferentes antibióticos**

| Tratamiento  | Sensibilidad |                 |
|--------------|--------------|-----------------|
|              | X            | S               |
| Gentamicina  | 5,22         | $\pm 3,46^b$    |
| Eritromicina | 2,67         | $\pm 1,41^{ab}$ |
| Amikacina    | 2,44         | $\pm 2,24^a$    |
| Penicilina   | 1,67         | $\pm 2,12^a$    |

Letras diferentes difieren significativamente  $p < 0.05$

Al comparar la sensibilidad de cepas salvajes de *Pasteurella multocida* frente a la acción de diferentes antimicrobianos usados contra el Cólera Aviar, se obtuvo diferencia significativa entre los medicamentos aplicados observándose el mayor valor para la Gentamicina (5,22) y el menor valor para la Penicilina (1,67), para  $P < 0.05$ .

Torres (2005), al comparar la sensibilidad de los serotipos de *Pasteurella gallinarum* y *multocida* ante la acción de diferentes antimicrobianos obtuvo diferencia significativa para ( $p < 0,005$ ) con un valor más alto de sensibilidad para el tratamiento con Gentamicina, coincidiendo con resultados de este trabajo.

La Gentamicina es un antibiótico que se emplea para erradicar infecciones en el ojo para tratar diversas enfermedades graves de piel, pulmón, estómago, vías urinarias y sangre. Su uso está indicado cuando la administración de otros antibióticos menos potentes haya sido ineficaz. Debido a su gran toxicidad y a los múltiples efectos secundarios, ha de evitarse su uso si no es estrictamente necesario. (Wikipedia, 2006).



## *Trabajo Científico Investigativo*

Jawetz *Et al.*, (1984), considera la Gentamicina como un aminoglucósido de amplio espectro y además bacteriostático con efecto sobre bacterias septicémicas cuyo mecanismo de acción se basa en la síntesis de proteínas en la bacteria bloqueando la función de la subunidad 30S de ribosomas.

Neuman, (1997), refiere que la penicilina es el antibiótico de amplio espectro que más se usa actualmente, por lo que los microorganismos han creado resistencia a la misma, esto es debido a su mala aplicación en cuanto a dosis y vías, sin embargo algunas cepas de *Pasteurella* responden escasamente a la penicilina, conllevando a una baja sensibilidad de las mismas frente a este antimicrobiano.

Por otra parte la *Pasteurella aviar* puede ser fácilmente controlada mediante terapia antimicrobiana ya que, entre otros, es sensible a principios activos como la enrofloxacin, flumequina y doxiciclina. (<http://patologiaaviaruptc.blogspot.com/2006/11/colera-aviar.html>)

Resultados similares fueron obtenidos por Torres (2005) y Fernández (2004), al evaluar estos medicamentos incluyendo la penicilina, contra la *Pasteurella multocida*. Ellos refieren que estos resultados pueden explicarse atendiendo a que la Gentamicina es un antimicrobiano poco utilizado en las granjas avícolas, por lo cual los microorganismos tienen mayor sensibilidad a este producto que otros que han sido administrados comúnmente.

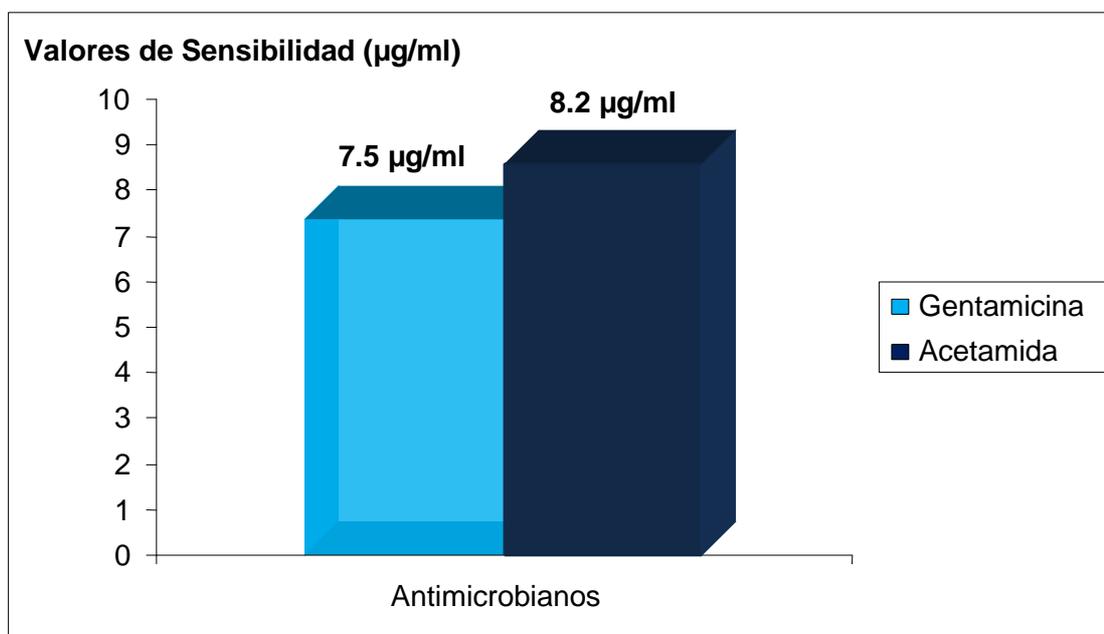
Durante muchos años el arsenal terapéutico avícola estuvo reducido casi exclusivamente a la Penicilina, Estreptomina, Cloranfenicol ello generó una elevada proporción de cepas resistentes lo que obviamente redujo su eficacia. (García, 2004).



## *Trabajo Científico Investigativo*

Es obvio que la prevención de la pasterelosis aviar es cada vez mas importante el establecimiento de medidas de bioseguridad y el control higiénico y sanitario de la explotación para evitar el contagio o su propagación, sin embargo no se ha logrado hasta el momento que los productores concienticen estos principios en las producciones avícolas.

En la figura No. 8 se observó que el 100% de las cepas salvajes de *Pasteurella* fueron sensibles a la acetamida furánica bromada, a diferencia de la Gentamicina cuya sensibilidad fue de un 50 %.



**Figura No. 8 Comportamiento de la Gentamicina y la AFB frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida*.**

Se observó que las cepas salvajes de *Pasteurella multocida* fueron más sensibles a la acetamida furánica bromada, que a la Gentamicina. Esto se debe a que Acetamida furánica bromada es un nuevo producto, y la bacteria no presenta resistencia ante el mismo, siendo la sensibilidad en este caso de un 100%.



## *Trabajo Científico Investigativo*

La Acetamida Furánica Bromada presenta una mínima concentración inhibitoria frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* de 8.2 µg/ml, siendo ligeramente superior a la obtenida para la Gentamicina que es de 7.5 µg/ml frente a este tipo de cepas por Wikipedia, (2006). Este resultado demuestra la potente acción de la Acetamida furánica bromada frente a cepas salvajes, se piensa que este valor puede disminuirla utilizando otro diluyente como el Dimetilsulfoxido, ya que al utilizar el etanol pueden ocurrir pequeñas precipitaciones del producto, lo cual disminuye la concentración de la dilución, debido que el mismo se recrystaliza en este solvente (Saavedra, 1994).

García, (2004), considera que la Gentamicina es un aminoglucósido, que se utiliza en el tratamiento de infecciones por bacilos Gram negativos, pueden causar toxicidad grave. Para la Acetamida Furánica Bromada existe el criterio positivo de su baja toxicidad referida anteriormente en este trabajo.

### **4.1 VALORACIÓN ECONÓMICA**

En la valoración económica podemos referirnos al costo de producción de algunos antimicrobianos y el del producto utilizado mostrado en la tabla No. 4

**Tabla No. 4. Costo de los antimicrobianos comúnmente utilizados en el tratamiento del Cólera aviar y de la Acetamida Furánica Bromada.**

| <b>Producto</b>            | <b>Acción</b> | <b>Costo un Kg. USD</b> |
|----------------------------|---------------|-------------------------|
| Gentamicina                | Bactericida   | 947                     |
| Estreptomycin              | Bactericida   | 900                     |
| Amikacina                  | Bactericida   | 1540                    |
| Penicilina                 | Bactericida   | 540                     |
| Acetamida furánica bromada | Bactericida   | 675                     |



## *Trabajo Científico Investigativo*

Como se puede apreciar el costo de la Acetamida Furánica Bromada fue de \$ 675, estando por debajo de los principales medicamentos bactericidas empleados para el control del Cólera aviar excepto la Penicilina que tiene una alta resistencia en los microorganismos. Además la utilización de este producto es factible ya que en Cuba se produce Furfural del cual en 4 pasos de síntesis se obtiene con buen rendimiento la Acetamida furánica bromada.



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **CONCLUSIONES**

- La Acetamida Furánica Bromada tiene acción bactericida frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* aisladas en gallinas White Leghorn L<sub>33</sub> “*in vitro*”.
- La Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Máxima bactericida fue de 8.2 µg/ml en una dilución de 1:4.



## *Trabajo Científico Investigativo*

### **RECOMENDACIONES**

- ✓ Recomendamos la aplicación de la Acetamida Furánica Bromada frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* aisladas en gallinas White Leghorn L<sub>33</sub> “*in vivo*”, para determinar su potencialidad y utilizarlo como antibiótico contra el Cólera aviar.

# *Trabajo Científico Investigativo*



## **BIBLIOGRAFÍA**

1. **Ahuja, S. M.; Mago L.; Bhan L. y Saxena N. (1984).** Gentamicin resistance among Salmonellae. A Ten Year studied (1973 - 1982). *Antonic van Leewenhoek*. 50(2): 161 – 165.
2. **Apajalahti, J. & Kettunen, A. (2002).** Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves. XVIII Curso de Especializacion FEDNA. p. 41-51.
3. **González, G.,R. (2005).** Uso de Antibióticos en Avicultura. Instituto De Investigaciones Avícola La Habana
4. **Christensen. J. P. & Bisgaard, M. (2002).** Cólera aviar. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2000, 19 (2), 626-63. Organización Mundial de Sanidad Animal.
5. **De Wikipedia (2010).** Gentamicina. <http://es.wikipedia.org/wiki/Gentamicina>.
6. **Donahue, J. M. (1986).** Emergence of Antibiotic Resistant Samonella agona in Horse in Kentucky. *J. A. V. M. A.* 188(6): 592 – 594.
7. **Estrada, C., Osmaida; Carvajal, U., Ana; Rubio N., P.; Arean, S.,M.; Almeida, S.,M.; Vallejo, M.,O.; Garcia, Z.,I. (2010)** Efecto *in vitro* de la acetamida furánica bromada frente a aislados de salmonella enterica de aves. Jornada Científica Provincial Veterinária Granma

## *Trabajo Científico Investigativo*



8. **Fernández, A. L. y González, G. R. (2005).** Patología y epizootiología aviar: Instituto de Investigaciones Avícolas. La Habana.
9. **Fernández, R. E.; Gonzales, H. I. (2005).** El comportamiento productivo de aves para el reemplazo de reproductoras ligeras en la producción de huevos
10. **García, F. (2000).** Resistencia Bacteriana a Antibióticos. . [Consulta: 20 de mayo, 2006]. Laboratorio de Bacteriología del Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales. Universidad de Costa Rica. <http://wwwlabstein.com/esp/resistenciahtml>.
11. **García, M. Del Carmen, Sánchez, A. y Amparo López (2002).** Efecto de la uniformidad del lote en el comportamiento productivo de la ponedora White Leghorn. Rev. Cubana de Ciencias Avícola 26(1) pp. 6-8.
12. **García, F. (2004).** Resistencia Bacteriana a Antibióticos. Laboratorio de Bacteriología del Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales. Universidad de Costa Rica.
13. **Glisson, J. (2002).** Cólera Aviar en aves comerciales. Industria Avícola. 49(12): 28.
14. **Gómez, P. F. (2002).** Tesis en opción al título de Máster en Ciencia. Sensibilidad de la Salmonella frente a la Acetamida furánica bromado "in vitro y in vivo" Facultad Medicina Veterinaria. Universidad de Granma.

## *Trabajo Científico Investigativo*



15. **Guillot, J. F. (1988).** Higiene, antibióticos e implantación de las enterobacterias en las aves. *Selecciones Avícolas*. Vol. 30, No 9, Pág. 272 - 274.
16. (<http://patologiaaviaruptc.blogspot.com-/2006/11/colera-aviar.html>).
17. <http://www.lah.de/Pasteurella-multocida.92.0.html?&L=6>
18. <http://www.michigan.gov>
19. [http://es.wikipedia.org/wiki/Concentraci%C3%B3n\\_inhedoriam%C3%ADnima](http://es.wikipedia.org/wiki/Concentraci%C3%B3n_inhedoriam%C3%ADnima)).
20. <http://www.labreferencia.com/content.aspx?id=965>)
21. <http://www.theicsp.org>.
22. **Hurtrel d'Arboval, H. J. (1875)** Dictionnaire de médecine, de chirurgie et d'hygiène vétérinaires refondu par A. Zundel, t. 2, Paris, p. 467
23. **Rutkowska-Jurga, Rena y Bogna Borkowska-Opacka. (2000)** "Biochemical Properties Of Pasteurella Multocida Strains Isolated From Poultry". *Bull.*
24. **Jawetz, E. Joseph, L. Melnick, E Adalbero, A. (1984).** Manual de microbiología Médica Novena Edición p. 130
25. **Kim, K. S; Mangoongs, M. I. P. and Park, K. S. (1984).** Antimicrobial Drug Sucestibility of Salmonellae Isolated from Chikens in Korea. *Korean J. Vet. Pub. Health.* 8 (1): 11- 14



## *Trabajo Científico Investigativo*

26. **Kouba, V. (1987)**. Transmisión de los agentes etiologicos de enfermedades de los animales. Epizotiología General. Editorial Pueblo y Educación, 2da edición, p. 160.
  
27. **Landa, R.J. (2004)**. Cólera aviar en reproductoras semirústicas. Trabajo Científico Técnico. Facultad de Medicina Veterinaria: Universidad de Granma.
  
28. **Leeuwen, W. J.; Guinee, P. A. M; Voogd, C. E. and Van Kligeren B. (1986)**. Review of the Resistence of Salmonella to Antibiotics Tj. Voor Dier. Kunde. 111(1): 9 - 13.
  
29. **Lesson, S. (2006)**. Temas de interés presentes y futuros en nutrición de aves. XVIII Curso de especialización FEDNA. P. 143-150
  
30. **López, Amparo. (2000)**. Manual de teoría, cría y explotación de las aves. T.1 Editorial Pueblo y Educación. La Habana. Cuba.
  
31. **Malo, A. (2004)**. Vacunación efectiva en reproductoras. Disponible en: [http://72.14.207.104/search?q=cach:De0hex6o4BkJ:www.intervet.com.ve/binaries/84\\_82149.doc+colera+aviar&hl=es](http://72.14.207.104/search?q=cach:De0hex6o4BkJ:www.intervet.com.ve/binaries/84_82149.doc+colera+aviar&hl=es).
  
32. **Merchant, I. A y. Packer, R. A. (1978)**. Bacteriología y Virología Veterinaria. Pasteurella multocida. Ed. Revolucionaria. p. 340: 367.
  
33. **Montero, V. R. (2009)**. La Pasterella multocida en aves. Comunicación personal.



## *Trabajo Científico Investigativo*

34. **Neuman, J. Línea (1997)**. Vacunación con Pasterella multocida viva. Schering-Plough Animal Health E.U.A. Industria avícola. 44 (2): 19.
  
35. **Norcia, LJ, Silvia AM, Hayashi SF. (1999)** Studies on timekill kinetics of different classes of antibiotics against veterinary pathogenic bacteria including Pasteurella, Actinobacillus and *Escherichia coli*. J.Antibiot; 52:52-59.
  
36. **Otner, W. (1985)** Resistence to antibiotic among Salmonellas from meat and poultry Dentche Veterinae Medizinnische Gresells-Chaft Ref. 10: 224 - 253.
  
37. **Pasteur L., (2006)** (Obras completas, 6: 358-369). Pasteur Œuvre tome 6 - Maladie virulentes. Virus. Vaccins. Prophylaxie de la rage (PDF) (francés).
  
38. **Peña, A. (2001)** Introducción en diseño, síntesis y caracterización de nuevos compuestos con actividad potencial sobre el SNC empleando el TOSSMODE. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Químicas Santa Clara. Cuba.
  
39. **Pérez, M. (2005)**. Producción de huevos en clima tropical. Departamento de Genética. Instituto de Investigaciones Avícolas. La Habana
  
40. **Pérez-Montiel, I; Silveira, E. A; Herrada, Nancy; Rojas, Delia y Sosa, Nora (1989)**. Susceptibilidad de Salmonella circulante en terneros y cerdos en la provincia de Villa Clara. Rev. Producción Animal. 5(1): 77.



## *Trabajo Científico Investigativo*

41. **NRAG: 1009:89 (1989).** Siembra bacteriológica, métodos de ensayos.
  
42. **Rhoades K. and Rimler, R. (1982)** Avian pasteurellosis, in "Diseases of poultry", ed. by M.S. Hofstad, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA 1982, ISBN 0-8138-0430-2, p. 141.
  
43. **Rodríguez, F., E.F, Gutiérrez, M., C.B. y Puente, R., V.A (1999).** Lo que usted debe saber de las Salmonellas y Salmonelosis. Departamento de Sanidad Animal (Microbiología e inmunología. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
  
44. **Rodríguez-Avial, Carmen, y Vila, J. (2001).** Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica.
  
45. **Romero, E. (2005).** Enfermedades más comunes en las aves.
  
46. **Saavedra, A. M. (1994).** Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Químicas 48-52, Santa Clara. Cuba.
  
47. **Sánchez, P. A. (1990).** Enfermedades de las aves. Cólera aviar. La Habana. p. 59, 112-118.
  
48. **Sánchez, A ; López, Amparo ; Sardá R. ;Pérez Miriam ; Trujillo, Elena ; Garcia, Maria del Carmen ; Lamazares, María**



## *Trabajo Científico Investigativo*

**del Carmen (2004).** Salud y Producción de las Aves. Disponible en Infovet.

49. **Treviño, Z. N. (2001).** Enfermedades más comunes en las aves. Universidad Autónoma de Tamaulipas Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

50. **Trujillo, E. (2003).** La producción avícola cubana, logros y desafíos. Revista Cubana de Ciencia Avícola. 26: 103

51. **Thornsberry, C y T. M. Hawkings (1977).** Procedimiento de prueba de susceptibilidad por dilución en disco de agar, PHS, Atlanta Centro de Control de Enfermedades.

52. **Torres, V. Y. (2005).** Alta incidencia de la Pasteurella en la granja de ponedora comercial Juan Pérez Olivera. Trabajo Científico Técnico. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Granma.

53. **United.States.Patent (1992) :** 5,090,990. Feb.25

54. **Yamasaki, A. (2004).** Bacterias de interés veterinario. Disponible en: Monografía.com. CoInternet: <http://www.monografias/bactevet.shtml> [Consulta: mayo 20 2006].

*Trabajo Científico Investigativo*



**ANEXOS**



**Figura No. 1 GRANJA DE PONEDORA COMERCIAL “SIERRA MAESTRA”**



**Figura No. 2 GRANJA DE PONEDORA COMERCIAL “SIERRA MAESTRA”**

*Trabajo Científico Investigativo*



**Figura No. 3 GRANJA DE PONEDORA COMERCIAL “SIERRA MAESTRA”**



**Figura No. 4 ANIMALES ENFERMOS CON PASTERELOSIS**



**Figura No. 5 NECROPSIA EN AVES**



**Figura No. 6 NECROPSIA EN AVES**



**Figura No. 7 NECROPSIA EN AVES**



**Figura No. 8 MATERIALES PARA LA PREPARACION DE  
MUESTRAS DE LA NECROPSIA EN AVES**

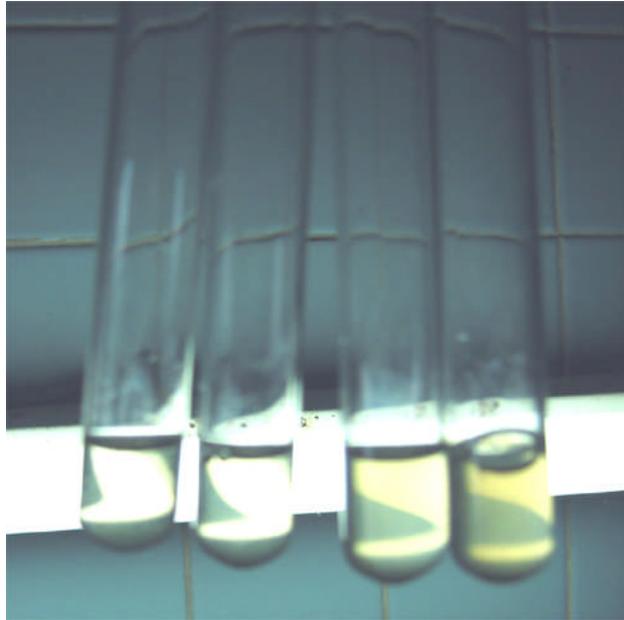
## *Trabajo Científico Investigativo*



**Figura No. 9 PREPARACION DE LAS MUESTRAS DE LOS ORGANOS AFECTADOS DE LAS GALLINAS**



**Figura No. 10 MUESTRA PREPARADA**



**Figura No. 11 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC) DE LA ACETAMIDA FURÁNICA BROMADA FRENTE A CEPAS SALVAJES DE PASTERELLA MULTOCIDA**