



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

**FACULTAD DE QUIMICA**

**“Preparación y Control de una Vacuna Anti  
Pasteurella Multocida”**

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

137

PRESENTA:

**RICARDO GONZALEZ VARGAS**

**1974**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis

ADQ. 1974

FECHA

PROC. M. t. 136 133

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

"PREPARACION Y CONTROL DE UNA VACUNA ANTI PASTERELLA MULTOCIDA"

PRESIDENTE PROF.: OSCAR AMOR DODERO  
VOCAL PROF.: MAGDALENA ACOSTA SEGURA  
SECRETARIO PROF.: CATALINA OROZCO VICTORIA  
1er. SUPLENTE PROF.: ROSA MA. RAMIREZ GAMA  
2o. SUPLENTE PROF.: LEONOR MARTINEZ SOTO

Sitio donde se desarrollo el Tema: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA  
FAC. DE QUIMICA

NOMBRE COMPLETO DEL SUSTENTANTE : RICARDO GONZALEZ VARGAS

NOMBRE COMPLETO DEL ASESOR DEL TEMA: Q.F.B. MAGDALENA ACOSTA SEGURA

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

FELIPE GONZALEZ GARCIA

GRACIELA VARGAS DE GONZALEZ

QUE CON TODO CARIÑO ME APOYARON E IMPULSARON HASTA  
ESTA META DE MI VIDA

A MIS HERMANOS

LOURDES, JUAN, MA DEL SOCORRO, MA DE LA LUZ, MARGARITA  
ARMANDO, GRACIELA, BEATRIZ E IRENE.

A ARACELI CON TODO MI AMOR

A MI ESCUELA

A MIS MAESTROS

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

AGRADEZCO A LA Q.F.B. MAGDALENA ACOSTA  
SEGURA TODA LA COOPERACION Y LA GUIA  
PARA PODER LLEVAR A CABO ESTE ESTUDIO.

R. G. V.

## I N D I C E

INTRODUCCION.....	1
I.- GENERALIDADES SOBRE EL GENERO PASTEURELLA ESPECIE MULTOCIDA.....	4
II.- MATERIAL Y METODOS.....	9
III.- RESULTADOS.....	27
IV.- RESUMEN Y CONCLUSIONES .....	29
V.- BIBLIOGRAFIA.....	30



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

Las infecciones producidas por el género *pasteurella*, especie multocida, causan; después de la coccidiosis, la mortalidad mas alta dentro de la industria de la cunicultura. Por esta razón nos avocamos a preparar una vacuna a partir de cepas aisladas de conejares donde apareció el -- primer foco infeccioso de la pasteurellosis.

La sintomatología de la infección es relativamente -- clara; inicialmente el animal se aísla en un rincón de la jaula, fatigado, dolorido, perezoso, encogido, el pelo erizado, las orejas caídas, los ojos hinchados y poseído de -- un profundo sopor. En ese momento se recomienda el aisla miento del o los animales enfermos, lo que protege relativamente al conejar, pero los animales ya infectados mueren, por lo que deben sacrificarse en el acto y tomarse todas -- las medidas higiénicas como son la desinfección del conejar para ahorrar tiempo y así se evita la diseminación de la infección, al mismo tiempo se deben llevar los conejos sacrificados al laboratorio de diagnóstico para que se con-- firme la existencia de la pasterelosis. Este servicio pue de obtenerse en el laboratorio de diagnóstico del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias.

En este laboratorio se obtuvo la cepa y se preparó la vacuna que posteriormente se aplicó a un lote del conejar- de donde fué aislada, esto es con el objeto de combatir es pecíficamente la cepa de pasteurella que estaba causando - estragos dentro del conejar.

Desde hace tiempo se han hecho intentos por preparar- este tipo de vacunas, algunas veces con buenos resultados- y otras veces no.

Tal vez esto es debido a que no se han preparado con- la técnica adecuada o bien que la cepa utilizada no cubre- el mosaico antigénico de las cepas infectantes.

Por último cabe mencionar que pasteurella nunca ataca aisladamente, sino por el contrario en simbiosis con otro- tipo de bacterias, hongos y virus, por lo tanto se conside ra útil la aplicación de dicha vacuna para poder dar al - animal una inmunidad frente a esta infección y cerrar así- la puerta a las infecciones secundarias por bacterias, hon gos y virus.

Por los datos que se tienen no es posible determinar la duración de esta inmunidad, ya que incluso en conejares

donde ya se ha presentado la infección vuelve a haber -- brotes, pero sin embargo en muchos casos se ha visto que la vacuna si protege.

En el presente estudio se abarcan exclusivamente -- los aspectos técnicos de la preparación y control de esta vacuna.

## C A P I T U L O I

I.- GENERALIDADES SOBRE EL GENERO PASTEURELLA ESPECIE  
MULTOCIDA.

Este género pertenece a la familia Brucellaceae y al orden de las Eubacteriales.

Son bacilos muy pequeños, miden de 0.3 a 1.25 micras, se multiplican por división, presentan una estrangulación central (forma de ocho). Estas formas bacilares se tiñen uniformemente con las soluciones ordinarias de colorantes anilínicos. Cuando estas formas normales degeneran, por ejemplo, en el cuerpo de los animales o en cultivos viejos aumentan considerablemente de tamaño (hasta tener de 2 a 3 micras de longitud) y el protoplasma se puede acumular en ambos polos del cuerpo celular hinchado. Si se tiñen tales bacterias por el método de Giemsa, o con soluciones de colorantes de anilina y luego se trata con solución de ácido acético al 1%, solo se colorean intensamente sus polos y queda sin teñir su zona central.

Pasteurella multocida crece a veces, formando largas cadenas y en cultivos muy alcalinos también forma largos filamentos.

La podemos encontrar como saprófita en aguas estancadas o de corriente lenta, en el suelo, etc.; o bien - como parásitas produciendo septicemia, si invaden el organismo animal y éste se encuentra debilitado por condiciones desfavorables del medio.

En algunos casos, indudablemente la presencia de esta pasteurella en animales sanos es consecuencia de una pasteurellosis anteriormente sufrida, pero generalmente se trata de portadores sanos. Pero si el equilibrio se altera, por disminuir la resistencia del animal, entonces las bacterias pueden penetrar en los tejidos y en la sangre produciéndose así una septicemia hemorrágica. La resistencia de los animales portadores de pasteurella disminuye por enfriamientos, fatigas, transporte, anemia, hambre e infecciones, además, los parásitos animales de las vías respiratorias y digestivas pueden facilitar la penetración de las bacterias en las vías linfáticas y así la producción de la septicemia.

Si el agente patógeno es muy virulento o la resistencia del animal atacada muy pequeña, se desarrolla un cuadro morbozo de una septicemia sobreaguda. Entonces pasteurella multocida prolifera rápidamente e invade todo el organismo en breve tiempo y produce la muerte en

en un lapso de 1 a 3 días.

Los animales presentan fiebre alta, debilidad cardiaca y a veces, también diarreas y escurrimiento nasal. La necropsia muestra el vaso normal y tumefacción aguda de los ganglios linfáticos.

Si la acción de *pasteurella* es menos intensa la enfermedad dura varios días y se observa neumonía, que -- suele ir acompañada de hemorragias y puede desarrollar una inflamación serofibrinosa, grave y algunas veces hemorrágica; en las mucosas. En los puntos en que hay -- grandes acumulaciones de bacterias, se originan pequeños focos necróticos, que aumentan de volumen con bastante rapidéz y se funden unos con otros formando focos mayores.

Esta infección produce también procesos morbosos secundarios, pues preparan el terreno para el desarrollo de otros gérmenes facultativamente patógenos, en particular en las formas crónicas tienen importante intervención estos gérmenes oportunistas que se asientan en órganos de los que *pasteurella* puede haber ya desaparecido.

También se puede dar el caso que *pasteurella* ataque un órgano simultáneamente con otras bacterias patógenas, provocando así que esta infección sea fatal para el animal. En estos casos no se trata de una pastere-  
lisis propiamente dicha, sino complicaciones origina--  
das por *pasteurella*.

#### INMUNIDAD.-

En los conejos la inmunidad a *pasteurella* es ma--  
yor cuando el conejo es amamantado, esto es debido a -  
que el conejo está recibiendo anticuerpos de la madre.  
Al cabo de 5 meses hasta aproximadamente 2 años el co-  
nejo es más sensible a infectarse por *pasteurella*. --  
Cuando el animal es viejo, es decir de 3 años o más, -  
casi nunca enferma de *pasteurellosis*, esto es debido se-  
guramente a que ha formado anticuerpos por infecciones  
subclínicas.

Se han hecho intentos para preparar vacunas anti-  
*pasteurella multocida*, pero aún no se ha logrado nada-  
plenamente satisfactorio, debido a que se necesitan --  
preparar a partir de la cepa aislada que causó la in--  
fección. Se han preparado vacunas polivalentes, es de-  
cir a partir de todo tipo de *Pasteurellas* y algún tipo  
de cocos, su precio ha sido muy alto y la respuesta da

un elevado título de anticuerpos por un lapso no muy -  
largo y después decae. Por lo tanto la terapia que se  
está siguiendo actualmente es la administración de an-  
tibióticos combinados con el agua o bien inyectados.



## C A P I T U L O   I I

## MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL

Tubos de ensayo de 13 por 100

Tubos de ensayo de 20 por 170

Pipetas de 1,5,10 ml.

Portaobjetos

Cajas Petri

Celdas de Nefelómetro

Matraces Erlenmeyer de 1000 ml.

Frascos de centrifuga de 250 ml.

Embudos de vidrio con filtro de tela nylon

Frascos tipo "vial"

Jeringas desechables de 5 ml. con aguja hipodérmica núm 22

Termómetro

Porta asa con asa

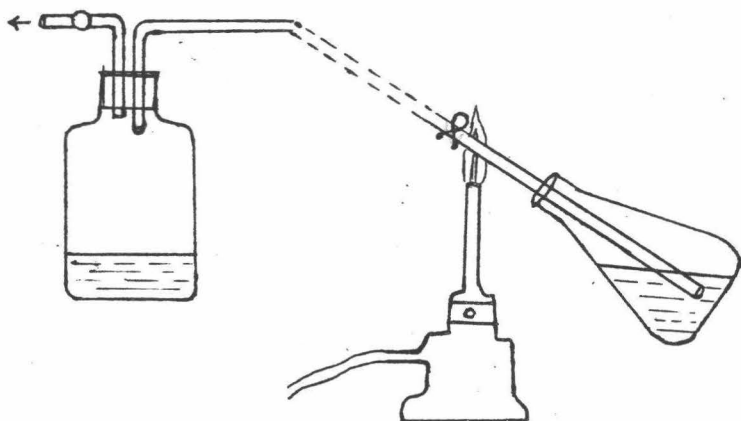
Mechero

Tripie

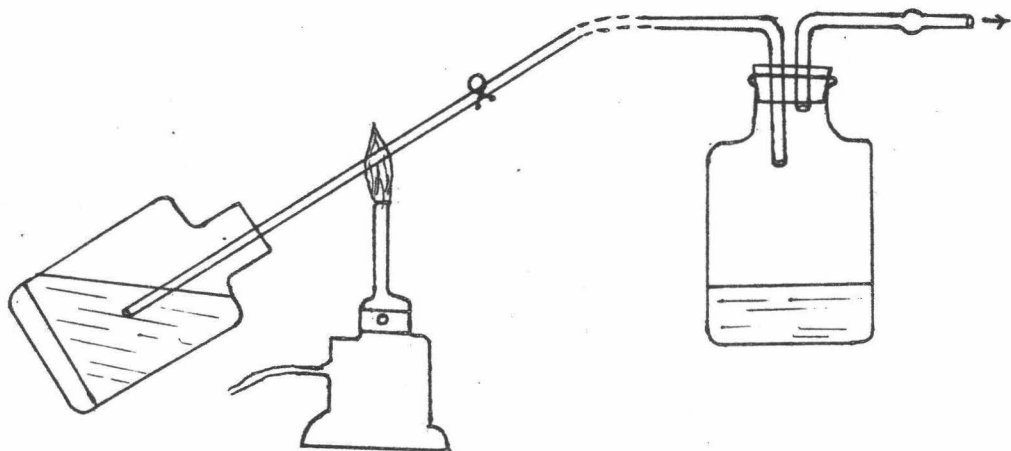
Equipo para recolección de desarrollo

Equipo para decantar el sobrenadante

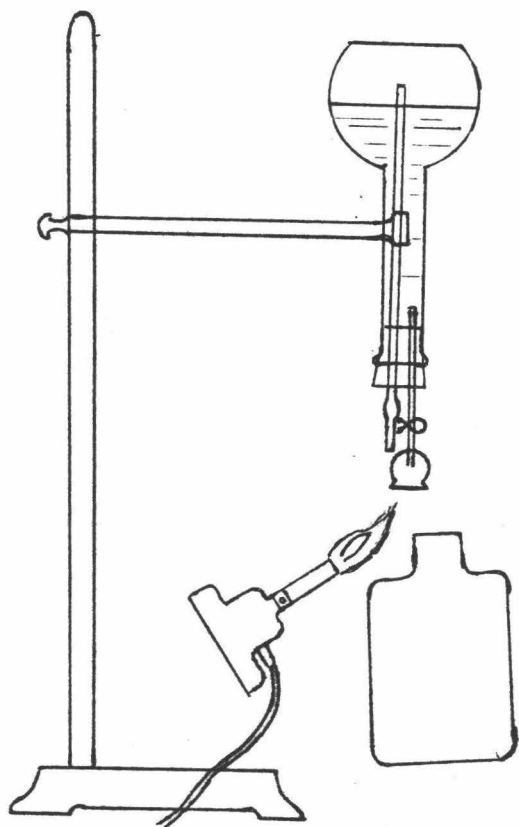
Equipo para repartir solución salina



EQUIPO PARA RECOLECCION DE DESARROLLO



EQUIPO PARA DECANTAR EL SOBRENADANTE



EQUIPO PARA REPARTIR SOLUCION SALINA

## MEDIOS DE CULTIVO

Tipticasa - Soya - Agar - Sangre  
Caldo Base Púrpura de Bromocresol  
Caldo Cerebro Corazón  
Sabouraud Dextrosa Agar  
Caldo Base adicionado de :

Arabinosa

Galactosa

Glucosa

Manosa

Sacarosa

Lactosa

Maltosa

Ramnosa

Tioglicolato fluido

## REACTIVOS

Colorante de Giemsa

Acido Acético al 1%

Solución Salina 0.85%

## EQUIPO

Microscopio

Nefelómetro

Baño de agua regulado a 56 °C

Refrigerador

Centrífuga

Autoclave

Estufa para la prueba de esterilidad

## MEDIOS DE CULTIVO

## 1.- TRIPTICASA SOYA - AGAR - SANGRE

Su fórmula en gramos por litro de agua destilada es:

Tripticasa peptona	15
Fitona peptona	5
Cloruro de sodio	5
Agar	15

## Preparación.-

Disolver en un litro de agua destilada, esterilizar en autoclave por 15 min. a 121 °C, pH final 7.3.

Trabajando en condiciones de esterilidad, se agrega sangre desfibrinada de borrego; para cada 100 ml. - de medio enfriado a 45 °C se agregan 5 ml. de san-- gre desfibrinada. Se envasó en cajas Petri estéri- les aproximadamente 20 ml. a cada caja.

## 2.- CALDO BASE PURPURA DE BROMOCRESOL

Es un medio líquido al cual se le adicionan azúcares para ver la fermentación que efectúan las bacterias, tiene como indicador púrpura de bromo cresol.

Su fórmula en gramos por litro de agua destilada es:

Gelisato peptona	10.00
Cloruro de sodio	5.00
Púrpura de Bromo Cresol	0.02

**Preparación.-**

Disolver en un litro de agua destilada. Adicionar los carbohidratos 7.5 g. por litro, se envasó en tubos de 16 por 150 con campana, aproximadamente - 10 ml. del medio. Se esteriliza en el autoclave a 118 °C, 12 libras de presión durante 15 minutos pH final 6.8.

**3.- CALDO CEREBRO-CORAZON**

Es un medio recomendado para el cultivo de bacterias de difícil crecimiento.

Su fórmula en gramos por litro de agua destilada es:

Infusión de cerebro de bovino	200 g.
Infusión de corazón de bovino	250 g.
Peptona	10 g.
Dextrosa	2 g.
Cloruro de sodio	5 g.
Fosfato disódico	2.5 g.

**Preparación.-**

Disolver en un litro de agua destilada, se envasó - en tubos de 16 por 150, aproximadamente 20 ml. del medio y en matraces de 1,000 ml. con 300 ml. de medio. Se esteriliza en autoclave a 121 °C, 15 libras de presión por 15 - 20 min. pH final 7.4.

**4.- SABOURAUD DEXTROSA AGAR**

Es un medio selectivo para hongos.

Su fórmula en gramos por litro de agua destilada es:

Dextrosa	40
Polipeptona	10
Agar	15

**Preparación.-**

Disolver en un litro de agua destilada. Se envasó - en tubos de 20 por 170 aproximadamente 15 ml. del medio, se esterilizó a 118 - 121 °C a una presión - de 12 a 15 libras durante 15 minutos, se inclinan - los tubos 75 ° aproximadamente y se deja enfriar.- pH final 5.6.

**5.- MEDIO DE TIOGLICOLATO FLUIDO**

Su formula en gramos por litro de agua destilada es:



Extracto de levadura	5	g.
Casitona	15	g.
Dextrosa	5	g.
Cloruro de sodio	2.5	g.
l - Cistina	0.75	g.
Acido Tioglicolico	0.3	ml.
Agar	0.75	g.
Resasurina	0.001	g.

**Preparación.-**

Disolver en un litro de agua destilada. Repartir en -  
Tubos de 20 por 170 aproximadamente 30 ml. del medio.  
Esterilizar en autoclave a 118 - 121 °C, 12 a 15 libras  
de presión durante 15 minutos.

Todos los medios se probaron en esterilidad incubando-  
72 horas a 32 °C y 72 horas más a temperatura ambien-  
te.

**6.- INFUSION CEREBRO - CORAZON AGAR**

Su fórmula en gramos por litro de agua destilada es:

Infusión de cerebro de bovino      200      g.

Infusión de corazón de bovino	250	g.
Peptona	10	g.
Dextrosa	2	g.
Cloruro de sodio	5	g.
Fosfato disódico	2.5	g.
Agar	15	g.

Preparación.-

Disolver en un litro de agua destilada. Se envasó en tubos de 16 por 150 aproximadamente 20 ml del medio, se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión (121 °C), se fundió el medio de los tubos en un baño de agua y con mechero y en condiciones de asepsia se vaciaron a cajas Petri.

pH final 7.4.

#### OBTENCION DE LA CEPA.-

Se obtuvo de un conejo inmediatamente después de ser sacrificado debido a que presentaba la sintomatología de pasteurellosis.

Con una asa de platino se tomaron muestras raspando los focos necróticos de color crema, que se encontraron en los pulmones del animal. Se sembró en forma de estría en cajas Petri conteniendo Tripticosa soya - agar - sangre, se incubó a 37 °C durante 48 horas. Al cabo del período de incubación crecieron colonias pequeñas, opacas, blancas grisáceas, un poco difíciles de separar del medio (semi viscosas). No produjeron hemólisis en el medio.

#### IDENTIFICACION MORFOLOGICA Y CARACTERISTICAS TINTORIALES DE LA CEPA

Se hizo un frotis de las colonias pequeñas, blancas grisáceas, y se vieron muy pequeños cocobacilos y semiestrangulados (forma de ocho), la tinción fué hecha por Giemsa con un tratamiento posterior de ácido acético al 1%, estos microorganismos se tiñieron bipolarmente.

Se vió que se agrupan en pequeñas cadenas y algunos están aislados, no se encontraron otros tipos de microorganismos por lo que se procedió a su identificación bioquímica.

#### IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE LA CEPA

	Fermentación	Producción de Acido	Producción de Gas
ARABINOSA	+	+	-
GALACTOSA	+	+	-
GLUCOSA	+	+	-
MANOSA	+	+	-
SACAROSA	-	-	-
LACTOSA	-	-	-
MALTOSA	-	-	-
RAMNOSA	-	-	-

#### PREPARACION DE LA VACUNA.-

Una vez que la cepa estuvo debidamente identificada se procedió a hacer una resiembra en tubos de ensayo de 16 por 150 con caldo cerebro corazón y de allí a matracas de 1000 ml. con 300 ml. de caldo cerebro corazón, al cabo de 24 - 36 horas, los matraces se enturbiaron; pero al transcurrir 96 horas se clarificó el medio y hubo una sedimentación mucoide de poco disgregable al agitar.

Para realizar la prueba de pureza se hizo la tinción de un frotis con Giemsa y tratamiento con acético al 1% y no se observó con inmersión en el microscopio contaminación alguna.

El sedimento se pasó a frascos de centrífuga de 250-ml. estériles conteniendo unas 10 cuentas de vidrio y con equipo de succión, se centrifugó 60 minutos a 3000 rpm.,- se procedió a decantar el medio y se agregó a los frascos de centrífuga con el sedimento solución salina estéril, a cada uno y por medio de agitación cuidadosa, se disgregó el sedimento que en un inicio era viscoso y se homogenizó muy bien. La suspensión concentrada se pasó a un matraz de un litro estéril.

#### CUENTA NEFELOMETRICA.

Se tomó una muestra de 1 ml. de la suspensión y se le agregaron 9 ml. de solución salina estéril y se colocó en una celdilla del nefelómetro y con un filtro verde se leyó la absorción. Se transpoló en una curva y dió 140- millones de férmenes y se multiplicó por la dilución.

La curva de gérmenes se contruyó de la siguiente manera:

Se utilizaron 10 tubos de ensayo de tamaño uniforme y se numeraron del 1 al 10.

Se añadieron los siguientes volúmenes de la solución al 1% de cloruro de bario químicamente puro: al tubo No. 1 se agregó 0.1 ml.; al tubo No. 2, 0.2 ml. y así sucesivamente aumentando en cada tubo 0.1 ml.

Se añadió la cantidad suficiente de la solución al 1% de ácido sulfúrico químicamente puro para hacer que el volumen total de cada tubo alcance 10 ml.

Se taparon herméticamente los tubos.

Cuando se agita bien el fino precipitado de sulfato de bario que se forma en los tubos, éstos presentan diferentes densidades que aumentan desde el 1 al 10. Las densidades de los tubos se corresponden con la emulsión bacteriana aproximadamente del siguiente modo:

No. 1:	<sup>140</sup> 300,000,000	No. 6:	1,800,000,000
No. 2:	600,000,000	No. 7:	2,100,000,000
No. 3:	900,000,000	No. 8:	2,400,000,000
No. 4:	1,200,000,000	No. 9:	2,700,000,000
No. 5:	1,500,000,000	No. 10:	3,000,000,000

En papel milimétrico se graficó densidad óptica vs. concentración de gérmenes (sulfato de bario).

#### INACTIVACION.

Se procedió a calentar durante 1 hora a 55 - 56 °C con períodos de agitación cada 5 - 10 min. aproximadamente.

#### PRUEBA DE VIABILIDAD.

Se tomó una muestra de 0.5 ml. de la suspensión y se sembró por duplicado en cajas Petri con cerebro - corazón - agar, se incubó durante 72 hrs. a 37 °C y no hubo crecimiento alguno, por lo tanto la prueba de viabilidad fué satisfactoria.

#### DILUCION.

A cada ml. de suspensión de microorganismos se le agregó 0.4 ml. de solución salina.

Esto se calculo mediante la siguiente fórmula:

Ajuste de la concentración deseada

$$\frac{\text{Cantidad que se tiene}}{\text{Cantidad que se desea}} - 1 = \text{volumen de diluyente que debe agregarse a un volumen de la suspensión concentrada.}$$

$$\frac{1400}{1000} - 1 = 0.4 \text{ ml.}$$

Una vez hecha la dilución se efectuaron las pruebas de control biológico.

#### PRUEBA DE ESTERILIDAD

##### Material:

Pipetas de 2 ml.

Tubos de ensayo de 20 por 170

##### Medios:

Tioglicolato fluido

Sabouraud Dextrosa Agar.

##### Método:

Se tomaron 2.0 ml. de la vacuna con una pipeta estéril y se sembró descargando en forma progresiva en tubos conteniendo medio de tioglicolato fluido 0.5 ml. de la vacuna en cada uno, se incubó a 32 - 35°C durante 14 días y a temperatura ambiente 14 días.

También se sembró en tubos conteniendo medio de Sabouraud Dextrosa Agar 0.5 ml. en cada uno y se incubó a temperatura ambiente durante 14 días, esto es para ver si no hay algún hongo contaminante.



La prueba de esterilidad resultó satisfactoria, ya que no hubo crecimiento en tioglicolato de bacterias ni crecieron hongos en el medio de Sabouraud.

#### PRUEBA DE SEGURIDAD.

Equipo:

Jeringas desechables

Agujas hipodérmicas del No. 22

Método:

Esta prueba se hizo simultánea a la aplicación de la vacuna a los conejos, ya que esta se aplicó por vía subcutánea y al cabo de 2 - 5 días se vió que no produjo necrosis, por lo tanto la prueba de seguridad fué satisfactoria.

#### PRUEBA DE POTENCIA.

Esta prueba se llevó a cabo en dos lotes de conejos:

- A) Lote Testigo
- B) Lote de Prueba

Cada lote estaba formado por 5 conejos de 6 meses de edad y un peso entre 3 y 3.5 Kg. de raza Nueva Zelandia. Ambos lotes se les aisló de todo el conejar y

se les mantuvo en óptimas condiciones de limpieza y alimentación, al lote problema le fué aplicado con jeringas desechables y por vía subcutánea 1 ml. de la vacuna ya preparada conteniendo 1,000 millones de gérmenes.

Al lote testigo no se le aplicó la vacuna, pero se mantuvo en las mismas condiciones.

Se mantuvo en observación constante a estos dos lotes de conejos durante 24 días, se estuvo observando la zona en donde fué aplicada la vacuna y atravez del período de observación no se descubrió necrosis alguna.

Al cabo de 24 días se procedió a hacer una suspensión de un cultivo de 24 horas de pasteurella en solución salina, esta suspensión se filtró con gasa estéril y se recibió en un frasco tipo vial estéril, se ajustó nefelométricamente a 10,000 millones de gérmenes por ml. de aquí se tomó 0.5 ml. para cada uno de los conejos y se inyectó por vía intravenosa en la vena marginal.

Los resultados de la prueba de potencia se dan en el siguiente capítulo.

## CAPITULO III

## RESULTADOS

## LOTE TESTIGO

## Conejo

1	.....	murió al 3er. día
2	.....	murió al 2do. día
3	.....	murió al 2do. día
4	.....	murió al 3er. día
5	.....	murió al 3er. día

## LOTE DE PRUEBA

## Conejo

1	.....	vivió
2	.....	murió al 3er. día
3	.....	vivió
4	.....	vivió
5	.....	vivió

El conejo que murió en el lote de prueba presentó - la sintomatología de los conejos del lote testigo y su - necropsia mostró el vaso normal y tumefacción de los gan - glios linfáticos.

Encontramos que del lote testigo murió el 100% de los conejos y deducimos que la cepa fué lo suficientemente patógena, ya que causó la muerte en 2 - 3 días - de todos los conejos.

En el lote problema murió el 20% y sobrevivió el 80% de los conejos, por lo tanto, podemos deducir que la vacuna es lo suficientemente potente para provocar una buena respuesta inmune a los 24 días de su aplicación.

CAPITULO IV  
CONCLUSIONES

Por medio de este estudio concluimos, que al seguir los lineamientos para la preparación y efectuar un control válido para este tipo de estudios, se llevó a cabo la obtención de una vacuna que ayudará a controlar la --pasteurellosis que tantos estragos está causando en la --industria de la Cunicultura.

En este trabajo logramos demostrar, que la cepa que obtuvimos del animal enfermo que posteriormente identificamos bioquímicamente y con la cual preparamos la vacuna nos proporcionó al hacer la prueba de potencia una inmunidad en los conejos, que al cabo de 24 días tenían los--suficientes anticuerpos para sobrevivir a una pasteure--llosis inducida por nosotros.

Este trabajo se efectuó con 2 lotes muy pequeños de conejos por lo cual no se pueden dar resultados estadísticos, pero sienta las bases para estudios posteriores --aplicando la vacuna a lotes más grandes.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- B.B.L. Manual of Products and Laboratory Procedures, 1970, 5a. Ed., Editorial B.B.L. Division of Becton, - Dickinson and Company, Cockeysville U.S.A., 135.
- 2.- Bergey H.D., 1930 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 3a. Ed. Editorial The Williams and - Wilkins Company, Baltimore U.S.A., 213
- 3.- Bredd S. R., EGD Murray and R. N., Smith, 1957, - Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7a.- Ed., Editorial The Williams and Wilkins Company, - Baltimore U.S.A., 223
- 4.- Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures, 1972, 9a. Ed., Editorial Difco Laboratories, Detroit Michigan U.S.A., 195.
- 5.- Gilbert L. A., 1972 Cria del Conejo de Angora y otras Razas, 1a. Ed., Editorial Albates, Buenos Aires Argentina, 73.

- 6.- Hutra V.F., 1950, Patología y Terapéutica Especiales de los Animales Domésticos, 8a. Ed., Editorial Labor S. A., Barcelona España, 144.
- 7.- Jawetz E., L. J. Melnick and A. E. Albert, 1970, --- Manual de Microbiología Médica, 4a. Ed., Editorial - El Manual Moderno, México, 117.
- 8.- Jekins L. G. and G. A. Dumeez, 1951, Química Farmacéutica Cuantitativa, 3a. Ed., Editorial Atlante, -- S. A. México, 102.
- 9.- Jubb K.V.F. and C.P. Kennedy, 1970, Pathology of --- Domestic Animals 2a. Ed., Editorial Academic Press, - New York, U.S.A. 496.
- 10.- Kolmer A.J. and F. Boerner, 1943. Approved Laboratory Technic, 1a. Ed, Editorial The University Society, - Nueva York U.S.A., 575.
- 11.- Lillie R. D., 1969, Biological Stains, 8a. Ed., Editorial The Williams and Wilkins Company, Baltimore - U.S.A., 32.

- 12.- Smith T. V. and F. N. Conant, 1971 Microbiología de Zinsser, 4a. Ed., Editorial Unión Topográfica, Editorial Hispano - Americana, Mexico, 977.
- 13.- Templeton S. F., 1973, Cría del Conejo Doméstico, -- 7a. Ed., Editorial Continental, S. A., México, 73.
- 14.- Villegas, E. A., 1970 Cría Industrial y Explotación de los Conejos, 3a. Ed., Editorial Orellana, Madrid España, 44.
- 15.- National Institutes of Health. Culture media for -- sterility test, 2nd. Re., 1946.
- 16.- National Institutes of Health. Minimum Requirements. Bethesda 14, Maryland. U.S.A.
- 17.- World Health Organization. Requirements for biological substances. Nr. 6 Rep Ser 200, 1960.