

## LIOFILIZACION CON DOS DIFERENTES SOPORTES COMO METODO DE CONSERVACION DE SEMILLA DE *Pasteurella multocida*<sup>a</sup>

José Ernesto Weimershelmer Rubí<sup>b</sup>

### RESUMEN

Se liofilizó *Pasteurella multocida* tipo A y D con dos diferentes soportes: Peptona sacarosa con glutamato de sodio (soporte 1) y leche descremada (soporte 2). Se hicieron recuentos viables antes y después del proceso de liofilización y cada 60 días, por un periodo de 24 meses. Se analizó la capacidad de desarrollo bacteriano, y disociación (HA indirecta). En todos los casos funcionó mejor el soporte 2, donde solo bajó 0.18 de logaritmo con la cepa A, mientras que con el soporte 1, bajó 1.24 de logaritmo. Esto sucedió igual con la cepa D, donde con el soporte 2 bajó 0.29 de logaritmo y con el 1 bajó 0.67 de logaritmo. A 24 meses se mantiene una mayor cantidad de *Pasteurella* viable con el soporte 2, siendo de 1.73 de logaritmo en favor del soporte 2 con *Pasteurella multocida* tipo A. Con la cepa D fue 1.23 de logaritmo favorable también al soporte 2. El soporte 2 es un buen amortiguador para mantener viables a estas cepas por un periodo de 24 meses o más, siendo la liofilización un proceso recomendable para lograr el adecuado mantenimiento de cepas de *Pasteurella multocida*.

Téc. Pec. Méx. Vol. 30 No. 3 (1992)

Los problemas respiratorios en rumiantes son de gran importancia debido a las pérdidas económicas que causan en la ganadería nacional. En un estudio realizado en el reastro de Ferrería, Cd. de México, se obtuvieron muestras de pulmones de becerros, encontrándose una prevalencia de neumonías del 8.7%, del tipo exudativa, con una relación estadísticamente significativa entre el aislamiento de bacterias del género *Pasteurella* con la presencia de neumonías de este tipo<sup>6</sup>. Es conocido que *Pasteurella* participa en estos procesos infecciosos como agente secundario, asociada a infecciones virales o bacterianas latentes y que el "stress" favorece su desarrollo, complicando en forma importante el cuadro clínico respiratorio de los animales susceptibles<sup>1</sup>.

Debido a lo anterior expuesto es importante contar con bacterinas que proporcionen cierto nivel de protección, por determinado periodo de tiempo, para lo que *Pasteurella multocida* no debe perder sus

antígenos capsulares formados por glucoproteínas de alto valor inmunológico y determinantes en el nivel de protección inferido por un biológico<sup>5</sup>. Es bastante común que por envejecimiento de las cepas por pases sucesivos se vayan destruyendo o mutando los antígenos capsulares (disociación), afectando directamente el desarrollo de las cepas en medio de cultivos, o si lo hicieran en pequeñas cantidades sería muy deficiente la estimulación antigénica en animales vacunados<sup>5</sup>. Lo anterior a provocado que se investigue la forma de producir mejores bacterinas, donde una parte importante es el mantenimiento de las semillas de producción, viables y en las condiciones más cercanas inmunológicamente a las cepas productoras de la enfermedad, en asociación con otros agentes desencadenantes o primarios.

*Pasteurella* es un bacilo corto Gram negativo, de coloración bipolar por métodos especiales, no esporulada, aerobia o microaerofílica, negativa a la oxidasa y positiva a la catalasa<sup>3</sup>. Algunas especies de este género bacteriano producen la enfermedad Septicemia Hemorrágica en varias especies de animales, siendo específicamente cepas

a Recibido para su publicación el 7 de mayo de 1992.  
b Proyecto biotecnología en salud animal. INIFAP, CENID-Microbiología. Carretera México-Toluca, Km 15.5, Méx. D.F., C.P. 05110.

de *Pasteurella* el agente causal <sup>1</sup>. Se conoce que este género bacteriano crece en medios de cultivo ordinarios, pero todas las formas crecen más rápidamente y con menores cambios indeseables en medios que contengan líquidos tisulares, sangre o suero completo <sup>5</sup>. El género *Pasteurella* en cultivos jóvenes se reproduce rápidamente, pero es necesario su resiembra por lo menos cada 15 días, lo que hace que envejecan rápidamente <sup>5</sup> implicando todos los procesos de disociación y mortalidad bacteriana mencionados anteriormente.

Para evitar el manejo sucesivo y envejecimiento de lagunas cepas de este género bacteriano y con el fin estabilizar la producción de bacterina contra pasteurolosis, se condujo el presente estudio, en el que se liofilizó *Pasteurella multocida*, cepas A y D, clasificación según Carter <sup>2</sup> por antígenos capsulares, con dos diferentes soportes; uno fue peptona sacarosa con glutamato de sodio (soporte 1) y el otro fue leche descremada (soporte 2). Se hicieron recuentos viables <sup>4</sup> antes y después del proceso de liofilización, así como cada 60 días por un periodo de 24 meses. En cada periodo, aparte del respectivo recuento viable, se

analizó la capacidad de desarrollo bacteriano y los posibles cambios a nivel capsular (disociación) por la prueba de homoaglutinación indirecta <sup>1,6</sup>. En todos los casos funcionó mejor el soporte 2 (leche descremada) ya que al recuento viable antes y después de la liofilización disminuyó el título de *Pasteurella multocida* tipo A en solo 0.18 de logaritmo, mientras que con el soporte 1 (peptona sacarosa con glutamato de sodio) el título bajó en 1.24 de logaritmo (Cuadro 1). Esto mismo sucedió con la cepa D, donde con el soporte 2 bajó el título en 0.29 de logaritmo y con el soporte 1 fue de 0.67 de logaritmo. A 24 meses también se mantiene una mayor cantidad de bacterias viables con el soporte 2, con las dos cepas estudiadas; no perdiendo sus características capsulares en ninguno de los dos casos. La diferencia en cuanto al número de bacterias a 24 meses fue de 1.73 de logaritmo en favor al soporte 2 con *Pasteurella multocida* tipo A. Con la cepa D fue de 1.23 de logaritmo favorable en igual forma al soporte 2 (Cuadro 1).

Se concluye que el soporte 2 (leche descremada) es un buen amortiguador para mantener la cepas A y D de *Pasteurella multocida* y que la liofilización es un proce-

CUADRO 1. DIFERENCIA EXPRESADA EN LOGARITMO AL RECUESTO VIABLE DE *Pasteurella Multocida* CEPAS A y D CON DIFERENTES SOPORTES A LA LIOFILIZACION.

SOPORTE	CEPA	TITULO ANTES DE LIOFILIZAR	TITULO DESPUES DE LIOFILIZAR	DIFERENCIA	TITULO A 24 MESES	DIFERENCIA
1) PS + GLU-TAMATO DE SODIO	A	$10^{6.87} \times 0.1 \text{ML}$	$10^{5.63} \times 0.1 \text{ML}$	1.24 log	$10^{2.3} \times 0.1 \text{ML}$	3.33 log
2) LECHE DESCREMADA	A	$10^{5.78} \times 0.1 \text{ML}$	$10^{5.60} \times 0.1 \text{ML}$	0.18 log	$10^{4.0} \times 0.1 \text{ML}$	1.6 log
3) PS + GLU-TAMATO DE SODIO	D	$10^{6.71} \times 0.1 \text{ML}$	$10^{6.04} \times 0.1 \text{ML}$	0.67 log	$10^{2.6} \times 0.1 \text{ML}$	3.44 log
4) LECHE DESCREMADA	D	$10^{6.98} \times 0.1 \text{ML}$	$10^{6.29} \times 0.1 \text{ML}$	0.29 log	$10^{4.48} \times 0.1 \text{ML}$	2.21 log

so adecuado para lograr el mantenimiento de este género bacteriano, por lo menos por un periodo de 24 meses en refrigeración.

#### SUMMARY

Was lyophilized two strains of *Pasteurella multocida*, type A and D with two different base supports. One was saccharose peptone with sodium glutamate (support 1), and the other skim milk (support 2). The feasible count was before and after the process of lyophilization and every 60 days, for a period of 24 months. The analyze was from the bacteria development, growth and disociation (indirect hemagglutination test). In every case the support 2 was better than the strain 1. After the lyophilization process with the strain A of *Pasteurella multocida* decline 0.18 of logarithm with the support 2 and 1.24 of logarithm with the support 1. The same thing occur with the strain D, that decrease 0.29 of logarithm with the support 2 and 0.67 of logarithm with the support 1. At 24 months the maintenance, and the higher title of *Pasteurella multocida* feasible was with the support 2 in the two types of strains that was used.

#### LITERATURA CITADA

1. ALLAN, E.M. WEISEMAN, A GIBBS, H.A. and SELMAN, T.E. 1985. *Pasteurella* species isolated from

bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. *Vet. Rec.* 117:629.

2. HANG, W.H. and CARTER, G.R. 1976. Multiple drug resistance in *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* from cattle and swine. *J.A.V.M.A.* 169:710.

3. COWAN, S.T. and STELL, K.J. 1979. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. CECSA, México. 69-73.

4. RENOUX, G. REGAMEY, R.H. HENNESON, H. and UNGAR, J. En : (1965), ed. Progress in immunobiological standardization, Basilea, S. karger, Vol 1, 176.

5. HAGAN, W.A. 1975. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Prensa médica mexicana. 1:689.

6. SANCHEZ MEJORADA, H., 1988. Determinación de anticuerpos anticápsula y anticitotoxina de *Pasteurella haemolytica* en suero de bovinos y caprinos. *Tec. Pec. Mex.*, 26-2, 192.

7. TRIGO-TAVERA, E. TRIGO-TAVERA, F. RAMIREZ CASILLAS, C. y BERRUECOS VILLALOBOS, M. 1982. Patología y bacteriología de pulmones neumónicos de becerros. *Rev. Vet. Méx.* 13:131.