



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LA POTENCIA DE TRES SUEROS
COMERCIALES CONTRA EL COLERA PORCINO.
PRODUCIDOS EN MEXICO EN EL AÑO DE 1976.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :
JUAN ANTONIO MADRID DIAZ**

201
114

MEXICO, D. F.

8096

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

R E S U M E N

Se estudió la potencia de tres sueros comerciales contra el Cólera Porcino, siguiendo las normas establecidas por el Departamento de Agricultura de los E.U.A. El suero clave - - B-001-S protegió al 89% de los cerdos tratados; el B-002-S - protegió al 14%; el B-003-S no protegió a ninguno de los cerdos tratados y en el lote control murieron el 100% de los - - cerdos a los cuales únicamente se les inoculó el virus. Ninguno de los sueros en estudio confirió la protección requerida puesto que debieron haber sobrevivido el 100% de los cerdos tratados con suero.

C O N T E N I D O

~~INTRODUCCION~~

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

EVALUACION DE LA POTENCIA DE TRES SUEROS
COMERCIALES CONTRA EL COLERA PORCINO,
PRODUCIDOS EN MEXICO EN EL AÑO DE 1976.

INTRODUCCION.

En México la enfermedad de los cerdos económicamente más importante es el Cólera Forcino (CF) ya que causa pérdidas -- cuantiosas. De acuerdo con los reportes de Sanidad Animal -- (1970 hasta Junio de 1977), el CF es la enfermedad de los cerdos que más frecuentemente se diagnostica (Gráfico 1). A causa del CF enzootico, México tiene además restricciones sanitarias en el mercado Internacional. Probablemente una de las causas más importantes de la alta incidencia de CF en México, sea la existencia de Biológicos contra el CF que no cuentan con potencia satisfactoria.

Esta enfermedad es conocida con los nombres de Cólera -- Forcino, Cólera del Cerdo, Fiebre de los Cerdos y Peste Forcinea.

El agente etiológico es un virus que de acuerdo con el Comité Internacional para la Taxonomía de los virus (ICTV), -- corresponde al género "Tetivirus" de la familia Togavirus -- (Togviridae) (2).

El virus es de forma casi esférica de 40 - 50 nm⁺ de tamaño, posee una envoltura externa lipídica, un nucleocápside de unos 20 nm de tamaño y contiene DNA como ácido nucleico -- infeccioso.

La inmunidad contra el CF puede ser adquirida en forma pasiva o en forma activa. Se sabe también que menos del 5% de los cerdos presentan resistencia natural (genética) al CF (12).

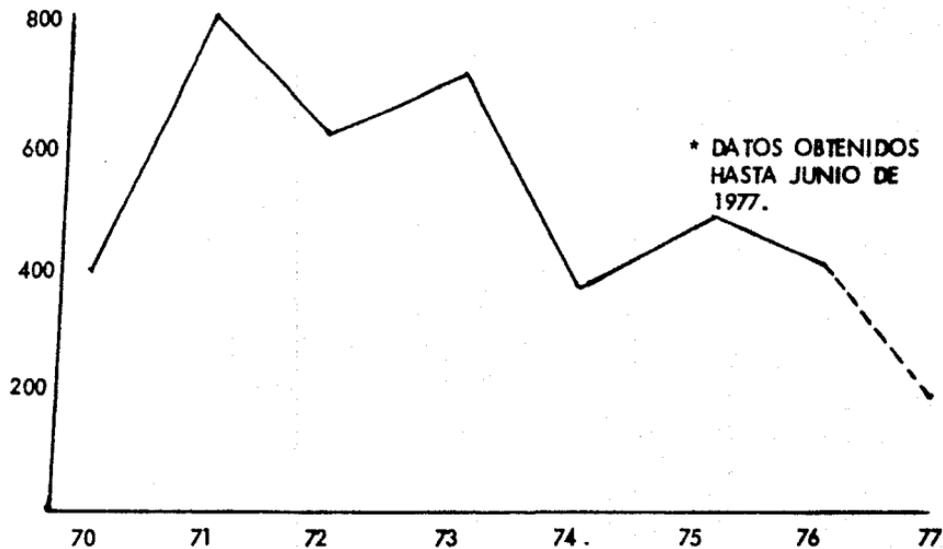
La inmunidad adquirida en forma pasiva se obtiene median⁺

⁺nm= nanómetro

GRAFICA 1

CASOS DE COLERA PORCINO DIAGNOSTICADOS ANUALMENTE

POR RENALDI, SARH. (5)



te la ingestión de calostro procedente de madres inmunes o mediante la aplicación de sueros hiperinmunes.

La inmunidad adquirida en forma activa se puede inducir - mediante la infección con dosis subletales del virus virulento o mediante la aplicación de vacunas tales como: a) de virus vivo lapinizado (de alto y de bajo pasaje); b) de virus atenuado en cultivos celulares; c) de virus inactivado; y d) con la vacunación con el virus de diarrea viral bovina.

Se conoce con el nombre de sueros hiperinmunes a los obtenidos después de la inoculación repetida al mismo individuo -- con un antígeno determinado.

Características que deben reunir los sueros hiperinmunes, se encuentran principalmente:

A) Alto contenido en anticuerpos específicos contra el antígeno inoculado y consecuentemente mayor cantidad de gama globulina con relación a los sueros normales.

B) Capacidad de conferir inmunidad pasiva a los animales susceptibles al virus específico.

Los sueros hiperinmunes se han empleado desde fines del siglo pasado como medio profiláctico y terapéutico, ya que son capaces de conferir inmunidad artificialmente en forma pasiva. Esta inmunidad se adquiere casi inmediatamente después de la aplicación del producto aunque solamente es temporal puesto -- que su duración está supeditada a la vida media de las gama -- globulinas inoculadas en el individuo. Por esta razón se prefiere utilizar en los casos en que sea posible sueros hiperinmunes obtenidos de individuos de la misma especie.

La necesidad de emplear el suero hiperinmune contra el CP, ha aumentado la demanda de este producto que es elaborado por

tres laboratorios establecidos en México. Las fallas aprendidas en el resultado de aplicarlo en la profilaxis y/o terapéutica del CI han motivado el interés por este trabajo que determina la evaluación de la potencia de tres sueros hiperinmunes comerciales contra el CI producidos en México en el año de - - 1976.

Es interesante determinar la potencia ya que según el reglamento del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos que es el que se aplica en México debe de proteger al 100% de los cerdos.

Potencia de los sueros comerciales.- Los trabajos realizados con anterioridad en el Departamento de Virología del - - I.N.I.P., han comprobado que existen sueros comerciales con -- inocuidad y potencia insatisfactorias (3,4). Se han probado sueros hiperinmunes contra el CP de cuatro laboratorios diferentes y se ha encontrado que dos de ellos daban 90% de protección, mientras que los otros dos no protegían (0%). Al repetir la prueba con otro lote de suero de una de las marcas que no protegió, se encontró un 40% de protección y en una última prueba con otro lote del mismo laboratorio dió 90% de protección (4). Lo cual aún está por abajo del mínimo aceptable, ya que de acuerdo con los lineamientos establecidos por el Departamento de Agricultura de los E.U.A., debieron haber protegido al 100% de los cerdos tratados (13,14).

En una prueba posterior en la que se determinó la potencia del suero clave 1340-3, (prueba que fue realizada dentro de las instalaciones del laboratorio productor) se encontró - que este suero sí confirmó el 100% de protección, comunicac-- ción personal Correa y Campos. (Cuadro 1). Se utilizaron - -

C U A D R O 1

**SUEROS COMERCIALES CONTRA EL COLERA PORCINO PRBADOS
CON ANTERIORIDAD EN EL DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA INIP.**

CLAVE DEL LABORATORIO PRODUCTOR	PROTECCION (%)	
A	90	
B	90	
C	0	CORREA Y UGARTE (1972)
D	0	
C	40	
C	90	
1340-3	100	CORREA Y CAMPOS (NO PUBLICADO)

LOS SUEROS DEBEN PROTEGER AL 100% DE LOS CERDOS (USDA, 1965, 1970).

claves para determinar a cada laboratorio por motivos que la Dirección General de Sanidad Animal (Depto. de Control de Productos Biológicos, Farmacéuticos y Alimenticios para Animales) así nos lo envió.

De lo anterior se deduce que los lotes de sueros estudiados a la fecha confieren protecciones que variaron de 0 hasta 100% y que solamente uno de los siete sueros probados confirió la potencia requerida del 100%.

Por esta razón se considera importante continuar probando periódicamente la potencia de los sueros comerciales, para determinar la protección que confieren los lotes de reciente producción.

El objetivo del presente trabajo es el de comprobar el porcentaje de protección que confieren los sueros comerciales contra el CF de los laboratorios productores, basándose en los requerimientos establecidos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica.

Existen en México 12 laboratorios comerciales que venden suero hiperinmune contra el CF, de los cuales únicamente tres de ellos son los productores. Dos de éstos maquilan a los nueve laboratorios restantes (Cuadro 2).

Por esta razón, se optó por comprobar en el presente trabajo únicamente la potencia de los sueros de los tres laboratorios productores.

CUADRO 2

RELACION DE SUEROS HIPERINMUNES COMERCIALES
CONTRA EL COLERA PORCINO

LABORATORIO (CLAVE)	PRODUCTOR*	MAQUILA	CERA UTILIZADA
1	SI		VIRUS VIRULENTO (1)
2	SI		(1)
3		7	(2)
4		1	(1)
5		1	(1)
6		7	(2)
7	SI		COLORADO Y AMES (2)
8		1	(1)
9		1	(1)
10		1	(1)
11		7	(2)
12		1	(1)

*LOS SUEROS DE ESTOS LABORATORIOS FUERON USADOS EN EL PRESENTE TRABAJO.

MATERIAL Y METODOS.

Sueros comerciales.- Los sueros comerciales fueron proporcionados por el Departamento de Control de Productos Biológicos, Farmacéuticos y Alimenticios para Animales, de la S.A.G., venían marcados con las claves B-001-S, B-002-S y B-003-S. Para probar su potencia se siguieron los requerimientos estándar del Departamento de Agricultura de los E.U.A. (13,14). En el cuadro 2 se indica la relación entre los laboratorios productores y a los que se les maquila en México, indicando los que fueron probados.

Virus de exposición.- Se utilizó una suspensión de sangre y bazo homogeneizados, procedentes de cerdos previamente inoculados con el virus de exposición Ames, las ampollitas fueron mantenidas en Nitrógeno líquido hasta su utilización. En previos experimentos en los que se utilizó esta cepa, siempre murieron el 100% de los cerdos utilizados como testigos.

Cerdos.- Se utilizaron 27 cerdos de 30 a 45 Kg., de 3 meses, cruce de Landrace, repartidos en cada lote en forma uniforme en cuanto a peso y sexo. Procedían de una granja en donde no vacunaban contra el CP.

Locales utilizados.- Unidades de aislamiento del INIA, S/G.

Previo a la iniciación del experimento se les aplicaron dos dosis de bacterina comercial contra Salmonella y Listeurella a intervalos de dos semanas (5 ml de Bacterina mixta porcina a su llegada y 5 ml dos semanas después).

Los cerdos fueron repartidos en cuatro lotes: El lote 1 de 9 cerdos, el lote 2 de 7, el lote 3 de 7 y el lote 4 de 4

cerdos testigos.

A partir del día de la recepción de los cerdos se tomó diariamente la temperatura rectal hasta la terminación del experimento.

Los cerdos se observaron durante 36 días y se efectuaron análisis clínicos, tales como: Biometrías diferenciales, hemocultivos, coprocultivos y coproparasitoscópicos, para comprobar su buen estado de salud. También se colectaron muestras de suero para realizar posteriormente estudios serológicos.

A los cerdos que pesaron menos de 40 Kg. se le aplicaron 15 ml de suero y a los que pesaron más de 40 Kg. se les aplicaron 20ml de suero por vía subcutánea en el espacio axilar izquierdo. Inmediatamente después se aplicaron 2 ml de virus virulento de CP, cepa Ames en el espacio axilar derecho, por vía subcutánea.

RESULTADOS.

A los cerdos que murieron se les practicó la necropsia y se colectaron muestras de tonsilas y ganglios, para estudios de inmunofluorescencia, utilizando un conjugado específico -- contra CP. Se colectaron también muestras de hígado, bazo, -- intestino (válvula ileocecal) y pulmón, para estudios bacteriológicos, en los que se trató de detectar especialmente la presencia de Salmonella spp. También se colectó cerebro y -- cerebelo para estudios histopatológicos, para diagnosticar CP.

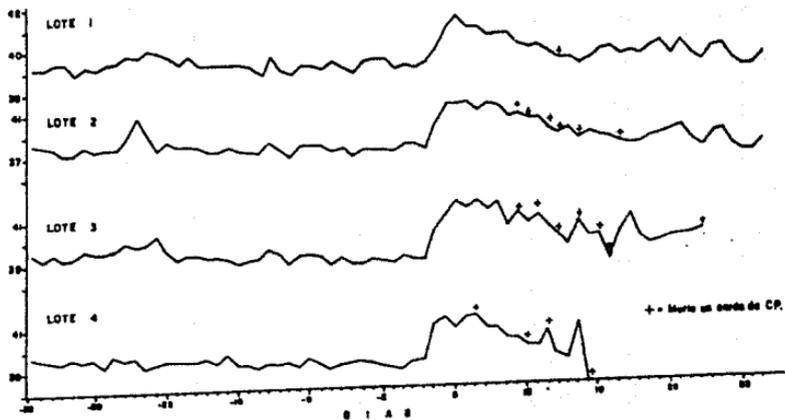
En la gráfica 3 se muestran las temperaturas promedio -- diarias de los cuatro lotes, antes y después de la inoculación.

En el lote 1, de 9 cerdos tratados con el suero P-001-S, sobrevivieron 8 cerdos, lo cual corresponde a 89% de protección; en el lote 2, de 7 cerdos tratados con el suero P-002-S, solamente sobrevivió 1 cerdo, que corresponde a 14% de protección; en el lote 3, de 7 cerdos tratados con el suero -- B-003-S, no sobrevivió ningún cerdo, que corresponde a 0% de protección y en el lote 4, de 4 cerdos testigos que recibieron únicamente el virus virulento de CP, murieron los 4 (100% de mortalidad). (Cuadro 3).

La mortalidad se presentó entre el 7o. y 29o. día después de la inoculación, por lo que se observaron casos sobreagudos, agudos y subagudos como se observa en el cuadro 4. Se observaron signos y lesiones típicas de CP (6) (Cuadro 4, no se observó Alopecia y en el cuadro 5, no se observó degeneración del miocardio). Y en ninguno de los tejidos colectados de estos cerdos se encontró Salmonella spp.

TEMPERATURA PROMEDIO DIARIA

GRAFICA 3



C U A D R O 3

EVALUACION DE LA POTENCIA DE TRES SUEROS COMERCIALES
CONTRA EL CP PRODUCIDOS EN MEXICO EN EL AÑO DE 1976.

LOTE	SUERO PROBADO ^{a/}	SOBREVIVIENTES / EX PUESTOS	PROTECCION (%)
1	B-001-S	8/9	89
2	B-002-S	1/7	14
3	B-003-S	0/7	0
4	CONTROLES	0/4	100 DE MORTALIDAD

^{a/} 15 ML A CERDOS QUE PESARON MENOS DE 40 KG Y 20 ML A LOS QUE PESARON MAS DE 40 KG (VIA SUBCUTANEA EN EL ESPACIO AXILAR IZQUIERDO).

^{b/} SE EXPUSO CON 2 ML DE VIRUS VIRULENTO CEPA AMES (VIA SUBCUTANEA EN EL ESPACIO AXILAR DERECHO).

C U A D R O 4

OBSERVACIONES DE LOS SIGNOS CLINICOS
DESPUES DE LA INOCULACION EXPERIMENTAL

SIGNOS CLINICOS	DIA DE OCURRENCIA	CURSO
APATIA	2 - 6	HASTA LA MUERTE
AUMENTO DE LA TEMPERATURA	2 - 6	HASTA LA MUERTE
LEUCOPENIA	2 - 6	INTERMITENTE HASTA LA MUERTE
CONJUNTIVITIS EXUDATIVA	4 - 7	HASTA LA MUERTE
AMONTONAMIENTO	4 - 7	HASTA LA MUERTE
VOMITO	4 - 8	HASTA LA MUERTE
TRASTORNOS RESPIRATORIOS	4 - 8	HASTA LA MUERTE
CONVULSIONES	5 - 8	OCASIONAL
CONSTIPACION	5 - 8	HASTA LA MUERTE
ERITEMA	5 - 8	PUEDE REGIR A SER CIANOTICA ANTES DE MORIR
DIARREA	6 - 10	INTERMITENTE HASTA LA MUERTE
INCOORDINACION	7 - 10	HASTA LA MUERTE
MANCHAS ROJAS EN LA PIEL	7 - 12	HASTA LA MUERTE
CIANOSIS EN PIEL	9 - 14	HASTA LA MUERTE
MANCHAS ROJAS EN OREJAS	15 - 20	INTERMITENTE HASTA LA MUERTE
ALOPECIA (PARCIAL)	25 - 30	HASTA LA MUERTE
MUERTE DE CASOS SOBREGUDOS	4 - 8	
MUERTE DE CASOS AGUDOS	9 - 19	
MUERTE DE CASOS SUBAGUDOS	20 - 29	
MUERTE DE CASOS CRONICOS	30 - 95	

Tomado de Dunne (Diseases of Swine) (6).

CUADRO 5

DE ACUERDO A DUNNE Y LEMAN⁽⁶⁾, LAS LESIONES
QUE SE PRESENTAN CON MAYOR FRECUENCIA SON LAS SIGUIENTES:

1.- PETEQUIAS EN VEJIGA	(78.6%)
2.- CONGESTION CEREBRAL	(72.6%)
3.- HEMORRAGIAS DIFUSAS EN LOS GANGLIOS LINFATICOS	(71.4%)
4.- CONJUNTIVITIS	(70.2%)
5.- PETEQUIAS EN LA CORTEZA RENAL	(65.3%)
6.- BRONCONEUMONIA	(58.3%)
7.- HEMORRAGIA PERIFERICA EN LOS GANGLIOS LINFATICOS	(47.6%)
8.- GASTRITIS	(45.2%)
9.- TONSILITIS	(38.1%)
10.- DEGENERACION DEL MIOCARDIO	(35.7%)

DISCUSION.

La primera forma de protección contra el CP utilizada en los E.U.A. consistió en la aplicación de suero hiperimmune. -- Posteriormente se utilizó la aplicación simultánea de suero -- hiperimmune con virus virulento y se encontró que este método confería inmunidad estable y duradera. Sin embargo, este método ha sido abandonado porque tiene una serie de desventajas, la principal consiste en que se difunde el virus virulento, razón por la cual, este tipo de inmunización fue el primero en ser -- descontinuado en los E.U.A. e incluso también en México.

Para el tratamiento de CP se recomienda utilizar suero -- hiperimmune, el cual será efectivo únicamente si se aplica durante los 3-4 días después de la entrada del virus patógeno.

La aplicación del suero será de valor nulo después del -- 40. día. Los antibióticos ejercen cierta disminución de la se veridad del brote, debido a que controlan las infecciones bacterianas secundarias.

Los resultados del cuadro 4 demuestran que los resultados en este trabajo reflejan una situación semejante a la encontrada en 1972 y en 1974 (3,4), cuando se iniciaron las pruebas de potencia de sueros comerciales contra el CP, ya que en aquella ocasión hubo sueros con 0, 40 y 90% de protección, con excepción de un suero que en pruebas posteriores dió 100% de protección. En este trabajo se observan porcentajes de 0, 14 y 89% de protección, manteniéndose en situación actual valores -- similares en cuanto a la baja de potencia.

De lo anterior se concluye que ninguno de los tres sueros -- comerciales estudiados confirieron la protección requeri-

da, la que debió haber sido del 100%.

La importancia de utilizar sueros inadecuados puede ser evaluada si se toma en cuenta los siguientes puntos: (12)

I. Intervención de los sueros en las pérdidas postvacunales.

Al producir sueros hiperinmunes, los laboratorios productores tienen muy en cuenta que la pasteurización de los sueros a más de 60°C pueden ocasionar shock al momento de ser aplicado, el suero hiperinmune pasteurizado correctamente, es a 58-59°C y no produce ningún problema de shock.

II. Fallos de vacunación a corto plazo.

En ocasiones los sueros, especialmente si tienen una potencia insatisfactoria, puede ser un factor determinante en la presentación de fallos de vacunación a corto plazo. O sea, aquéllas que ocurren durante los primeros 10 días postvacunación, v,gr.

- a) En brotes iniciados 4 o más días antes de la vacunación el suero aplicado con la vacunación será inefectivo. La mortalidad será más elevada, cuanto más tiempo tenga el brote de haberse iniciado antes de la vacunación.
- b) Cuando se aplican vacunas poco atenuadas, en combinación con suero con dosis inadecuadas de éste, ya sea porque el suero se aplique en cantidades insuficientes o porque la potencia del suero sea insatisfactoria. Cuando se utilizan vacunas poco atenuadas sin combinarlas con suero, puede haber de 10 a 20% de mortalidad.
- c) Se ha descrito además, la presencia de cepes anti-

géricamente variantes de CF en E.U.A., Francia y España. Estos han producido baja mortalidad en cerdos previamente vacunados con vacunas lapinizadas combinadas con suero.

III. Fallas de vacunación a largo plazo que pueden presentarse en las circunstancias siguientes:

- a) Utilización de sueros sin potencia adecuada, ante brotes activos.
- b) Ante la presentación de un brote, vacunación con la combinación suero y vacuna, fallando la vacuna. En este caso, la protección conferida por el suero durará aproximadamente 4 semanas, por lo tanto, la mortalidad podría presentarse a partir de la 4a. semana después de la presentación del brote activo de CF en esa área.
- c) Al aplicar suero solo y vacunar, utilizando vacunas que sean interferidas por el suero, antes de que se elimine éste (tarda de 3 a 4 semanas en eliminarse).
- d) De acuerdo con algunos autores, (1,7,8 y 11) al vacunar a las cerdas con vacunas lapinizadas aplicadas con suero, los anticuerpos maternos duran 5 semanas en los lechones. Al aplicar vacunas más atenuadas, combinadas con suero, los anticuerpos maternos generalmente duran 3 semanas.
- e) Al vacunar aplicando más suero de lo recomendable, se puede interferir a la vacuna. En general se recomienda aplicar 1 ml de suero por libra de peso aproximadamente. Sin embargo es preferible seguir las instrucciones de cada laboratorio productor.

Cuantificación de fenol y su relación con la desnaturalización de las globulinas de los sueros hiperinmunes comerciales (15). La desnaturalización de las proteínas por el fenol no solamente en concentraciones superiores al 0.5% sino con cantidades menores, se puede presentar la desnaturalización local de las proteínas, si el fenol no es añadido gota a gota mientras el suero es agitado, no solamente es importante añadir el fenol en la concentración recomendada, sino también adicionarlo en la forma indicada (10). Por lo tanto sugiere que en la elaboración del producto, puede ser una de las razones por las que se ha observado infectividad de los sueros hiperinmunes aplicados en forma terapéutica y/o profiláctica.

La desnaturalización de las proteínas, particularmente de los anticuerpos, ocasionando muy probablemente la disminución de la capacidad de combinación de los anticuerpos con su determinante antigénico específico.

Sería deseable que los laboratorios productores de sueros hiperinmunes utilizaran la prueba para determinar la concentración de fenol en los sueros hiperinmunes y la prueba para determinar las fracciones proteínicas de los mismos mediante electroforesis en acetato de celulosa (equipo Gelman) (9,15)*

Como podrá deducirse de los datos anteriores, la utilización de sueros contra el CP, con rotancia insatisfactoria es evidente que está produciendo pérdidas en la economía de nuestra porcicultura.

Con relación a los resultados obtenidos, se recomienda a la Dirección General de Sanidad Animal, que tome medidas para

que los laboratorios productores de biológicos garanticen la producción de lotes de sueros hiperinmunes de O.T. que pasen satisfactoriamente los requerimientos indispensables de potencia e inocuidad, así como de que estas pruebas se repitan en forma rutinaria.

CONCLUSIONES.

- 1) Ninguno de los tres lotes de sueros estudiados dió la protección de 100% que se requiere, siendo esto una causa importante de pérdidas a la Porcicultura Nacional.
- 2) El uso de sueros insatisfactorios, aplicado junto con la vacuna en forma preventiva, significan gastos para los porcuicultores y además inseguridad, porque en cualquier momento se puede producir un brote.
- 3) Los lugares para producir sueros hiperinmunes son focos de infección, por lo tanto se debe preferir la utilización de vacunas que no requieran la utilización simultánea de suero hiperinmune. Esto explica el por qué en E.U.A., desde hace tiempo que ya no usan ni producen sueros hiperinmunes comerciales contra el CP. Uso de los sueros recomendado sólo con fines terapéuticos.
- 4) Se debe seguir insistiendo en que la Dirección General de Sanidad Animal tome medidas para que los laboratorios productores de biológicos inadecuados, garanticen la producción de lotes de sueros hiperinmunes contra el CP y que garanticen los requerimientos indispensables de inocuidad y potencia.

BIBLIOGRAFIA.

1. Bran, I., Mihaitea, S., Bercean, A., and Albu, T. Valcarea imunizanta a virusului pestos porcine lapinizat, -- inoculat singur sau in asociatie cu serul antipestos sub diferite forme. Lucr. Inst. Pasteur. Bucuresti. 5 : 105. Abst. Vet. Bull. 31 : 528 (2937). 1961.
2. Comité Internacional para la Taxonomía de los Virus. Jourⁿal Virology. 71 : 371-378. 1976.
3. Correa, G. P. y Ugarte, R. Potencia de sueros y vacunas - comerciales contra el Cólera Porcino. Técnica Pecuaria en México, INIP, SAG, Abril-Junio, No. 21, p. 47. 1972.
4. Correa, G. P., Mancisidor, N., Ochoa, M., Aguirre, J., y Larios, F. Inocuidad y Potencia de vacunas contra el Cólera Porcino. Resumen de la XI Reunión Anual del - INIP, SAG, 11-16 de Febrero, Sala de Congresos del - Centro Interamericano de Estudios de Seguridad Social de San Jerónimo Lídice, México, D. F. p.p. 10-11. - - 1974.
5. Dirección General de Sanidad Animal, Archivo y Estadística de la RENAIADI, México. 1970-1977.
6. Dunne, H.W. and Leman, A. D. Diseases of Swine. 4a. Ed. The Iowa State Univ. Press, U.S.A. p.p. 189-237. - - 1975.
7. Dunne, H.W. and Alibasoglu, M.A preliminary Report on - - Attempts to vaccinate pigs following anti-hog cholera serum alone treatment. Proc. 64th Ann. V. S. Livestock San. Assn., p. 309. 1960.

8. Dunne, H. W. and Kradel, D. C. Investigations into "serum block". Proc. 65th Ann. Meet. U. S. Livestock Sci. - Assn., p. 323, 1961.
9. Gelman. Techniques and apparatus for electrophoresis. Gelman, Detroit, Michigan, E.U.A. 1968.
10. Kabat, E. A.; Mayer, M. M. Experimental Immunochemistry. 2a. Ed. Charles C. Thomas - Publisher - Springfield - Illinois USA. 1964.
11. Felley, D. C., Anthony, H. D., and Twiehaus, M. J. Hog -- cholera immunization interference. Vet. Med. 57 : 1058. 1962.
12. Simposio sobre "Cólera Porcino"; Auditorio del Instituto de SYNTEX, Octubre 1^o p.p. 24-37. 1971.
13. USDA, Title 9 - Animals and animal products. Chapter 1. - - Agricultural Research Service, Department of Agriculture (USA) Subchapter E, Part. 119 - Anti-Hog Cholera Serum, page 11. 1965.
14. USDA, Standard Requirements for Anti-Hog Cholera Serum, - - United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Veterinary Division, S-70. July 1, 1970.
15. Villareal, R. E. Cuantificación de fenol y su relación con la desnaturalización de las gamma globulinas de los -- sueros hiperinmunes comerciales contra el virus del Cólera Porcino (Tesis de Licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM). 1972.