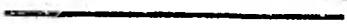


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Evaluación de la respuesta Serológica a la Vacunación
con cepa 19 de Brucella abortus, en un hato libre de
Brucelosis en el Estado de Queretaro

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

JOSE EDUARDO GARCIA CHAVEZ

ASESOR: M.V.Z. JUAN GARZA RAMOS



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.

I N D I C E

	Pág.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	7
RESULTADOS Y DISCUSION.....	10
CONCLUSIONES.....	18
BIBLIOGRAFIA.....	19

RESUMEN:

Se vacunaron con cepa 19 de Brucella abortus, 5 beceras de 3 a 6 meses de edad de raza Holstein pertenecientes a un establo amparado con certificado de hato libre de brucelosis para evaluar su respuesta inmunológica, además se colectó suero de 123 hembras de diferentes edades pertenecientes al mismo hato, para observar la persistencia de inmunoglobulinas fijadoras de complemento y su interrelación con las pruebas que realiza la Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis, utilizando para ello las pruebas de; Huddleson, Tarjeta y Fijación de Complemento a 4°C. y 37°C. obteniéndose los siguientes resultados:

En las beceras vacunadas, primero se detectaron IGM, seguido con diferencia de uno ó dos días de la aparición de IgG, encontrándose la máxima producción de IGM entre los 6 y 12 días después de la vacunación, seguidas por el máximo de IgG entre los 12 y 18 días después de la vacunación, así mismo se observó una respuesta inmunológica débil en una becerca que se encontraba bajo tratamiento con inmunodepresores.

En los 123 animales restantes se encontró persistencia de IgG e IGM, 19 y 48 meses después de la vacunación respectivamente.

INTRODUCCION.

La Brucelosis bovina es una enfermedad de gran importancia económica y de salud pública, en México y en otros países del mundo - (16,22,26), por los problemas de infecciones al hombre, especialmente en personas de alto riesgo (2,13,14,22,23), en los cuales acarrea bajo rendimiento o incapacidad laboral (14,17) y por otro lado encontramos graves pérdidas económicas en las explotaciones lecheras y elevados costos por el control a nivel nacional y particular de la enfermedad (22).

Debido a que la brucelosis es una enfermedad que tiende a la cronicidad, nos encontramos que la mayoría de los ganaderos no le dan la importancia económica que se merece, ya que están acostumbrados a convivir con ella (15); sin embargo son evidentes las graves pérdidas en los hatos en que esta enfermedad se introduce por primera vez (14,15).

En vista de que la enfermedad no ha podido ser controlada, las pérdidas económicas ocasionadas a la ganadería nacional por abortos, retenciones placentarias y baja fertilidad ó esterilidad unida a la baja producción de leche y carnes, van en aumento llegando en 1976 según datos de la Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis a: \$ 376,773,210.00 (M.N.) anuales (12); si a esto le sumamos que nuestro país es uno de los de más alta tasa de crecimiento y que el consumo per cápita de proteínas es bajo

con respecto a las sugerencias de la Organización Mundial de la Salud, tendremos una visión más real del problema alimenticio - (26,31).

Desde el punto de vista de productividad humana, el rendimiento de las personas afectadas es muy bajo, llegando en ocasiones a la imposibilidad de realizar trabajos por los problemas artríticos, musculares y febriles (17,22).

Para controlar esta enfermedad en el ganado lechero en México, se ha utilizado la vacunación con cepa 19 de Brucella abortus, que es una vacuna que induce la producción de aglutininas que persisten por largo tiempo; a este respecto el Comité de Expertos en Brucelosis en su quinto informe recomiendan la vacunación de hembras entre los 3 y 6 meses de edad, con el objeto de que al llegar a la madurez, los títulos aglutinantes sean bajos ó nulos (22), sin embargo en México gran parte de los ganaderos no siguen estas indicaciones, vacunando en muchas ocasiones ganado adulto (15), lo que trae como consecuencia dificultades en la interpretación de las pruebas diagnósticas rutinarias que realiza la Campaña (11,12).

Debido a que el muestreo permanente cada 30 días en los hatos y la eliminación de los reactores, es el único camino para la erradicación de esta enfermedad, la Organización Panamericana de la Salud (O.P.S.) y el Comité de Expertos en Brucelosis (C.E.B) recomiendan las siguientes pruebas diagnósticas (1,6,21,22):

a) SUERO SANGUINEO:

Aglutinación rápida en placa (Huddleson y Abel).

Aglutinación en tubo (Wright).

Fijación de complemento (FC).

Aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME.)

Precipitación con rivanol.

Inactivación por calor a 65°C. para sueros bovinos.

Inactivación por calor a 56°C. para sueros porcinos.

Aglutinación en placa con antígeno acidificado.

Prueba de la tarjeta (antígeno tamponado, Rosa de Bengala).

Prueba tamiz rápida en placa (Rapid screening test).

Antiglobulina de Coombs (anticuerpos incompletos).

Prueba de Coombs modificada (Hadju).

Prueba de hemaglutinación indirecta (pasiva).

b) PLASMA:

Prueba de la tarjeta o Card Test.

c) LECHE:

Prueba de anillo en leche.

Prueba del anillo en leche de animales individuales.

Prueba del anillo con muestras de crema.

d) MUCUS VAGINAL:

Prueba de aglutinación en tubo.

e) PLASMA SEMINAL:

Prueba de aglutinación en placa.

Prueba de aglutinación en tubo.

De todas ellas, las más utilizadas en México y en el mundo son: la prueba del antígeno tamponado (Card Test), que da buenos resultados, cuya confiabilidad depende de la calidad y control que se tenga en la producción del antígeno, y las pruebas de aglutinación en placa y en tubo las cuales son de gran valor para la identificación de animales enfermos por su fácil ejecución, siendo su principal desventaja la presencia de reacciones heteroespecíficas, que originan reacciones falso positivas y negativas y la presencia de fenómenos de zona (6,11,22); con objeto de evitar los problemas mencionados, diversos autores han sugerido el uso de la prueba de fijación de complemento, por ser una de las pruebas más sensibles y confiables, pero que requiere: tiempo, personal y equipo altamente especializado (1,5,6,10,11, 21,22).

Con respecto a esta última prueba el Comité Mixto de Expertos - en Brucelosis (FAO/OMS) en su cuarto informe y en las técnicas de laboratorio en brucelosis, mencionan que la prueba puede rea

lizarse tanto a 4°C. como a 37°C. (1) y de acuerdo a la temperatura a la que se trabaja la prueba es el tipo de inmunoglobulinas que se van a detectar, ya que por lo general las IgM fijan mejor el complemento a 37°C. que a 4°C. mientras que las IgG lo fijan mejor a 4°C. que a 37°C. (3,6,9,27,28,33).

Por otro lado la vacunación de becerras con cepa 19 origina la aparición de IgM e IgG simultáneamente al cabo de 5 días alcanzando su máximo para las IgM a los 13 días y las IgG entre los 28 y 42 días, disminuyendo paulatinamente hasta la desaparición de las IgG y una ligera persistencia de las IgM; en cambio en las infecciones hay aparición de los dos tipos de inmunoglobulinas con persistencia de IgG en los casos crónicos (6,22).

Los objetivos de este trabajo son: Primero, verificar la persistencia de inmunoglobulinas postvacunales fijadoras de complemento, de las 123 hembras Holstein de un hato del Estado de Querétaro, compuesto de animales vacunados y controlados por la Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis y amparados por un certificado de "Hato Libre de Brucelosis" y segundo, evaluar las respuestas a la vacunación de un grupo de 5 becerras pertenecientes al mismo hato; utilizando para ello las pruebas de fijación de complemento a 37°C. y a 4°C. además de las pruebas oficiales de certificación que son: aglutinación rápida en placa (Huddleson) y la prueba de la tarjeta (CT).

MATERIAL Y METODOS:

Material biológico:

- 1) Vacuna liofilizada elaborada con cepa 19 de Brucella Abortus fabricada por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, siguiendo el procedimiento descrito por el C.E.B. de la FAO/OMS (1).
- 2) Hemolisina* *
- 3) Antígenos para las pruebas de aglutinación en placa (Huddleson) y prueba de la tarjeta (CT) elaborados por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, de acuerdo a los procedimientos del C.E.B. de la FAO/OMS.(1).
- 4) Antígenos para la prueba de fijación de complemento proporcionado por el Departamento de Virología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M, elaborado de acuerdo a lo descrito por el C.E.B. de la FAO/OMS(1)
- 5) 123 hembras Holstein de diferentes edades pertenecientes a un rebando amparado con certificado de hato libre de brucelosis del Estado de Querétaro.

* Marca registrada por Difco Laboratories, Detroit, Michigan.

- 6) 5 becerras Holstein de: 3, 3½, 4, 5 y 6 meses de edad respectivamente, pertenecientes al mismo rebaño.
- 7) 20 oyes adultos clínicamente sanos, para obtener el complemento.
- 8) 5 ovinos jóvenes y clínicamente sanos, como fuente de globulos rojos para el sistema indicador de la prueba de fijación de complemento.

Metodos:

Se sangraron las 5 becerras antes de empezar el experimento, para obtener el suero, con el cual se realizaron las pruebas de: aglutinación en placa, prueba de la tarjeta y las pruebas de fijación de complemento a 37°C. y 4°C., resultando negativos a Bru cella abortus.

Dos días después se reconstituyó la vacuna, adicionando 5.Cml. de diluyente estéril por dosis, procediendose inmediatamente a - inocularla por via subcutanea en la tabla del ouello.

Posteriormente se sangraron las becerras los días: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, y 30 después de la vacunación

Las 123 hebras restantes se agruparon, de acuerdo al tiempo -

transcurrido después de que fueron vacunadas por el personal de la Campaña, haciendo para esto una revisión previa de los registros del rancho, quedando los grupos constituidos en la forma que sigue:

GRUPO No.	MESES DESPUES DE LA VACUNACION	ANIMALES MUESTREADOS
I	1 - 3	14
II	4 - 6	10
III	7 - 12	23
IV	13 - 24	43
V	25 - 35	10
VI	37 - 48	9
VII	49 - 60	9
VIII	61 - 72	5

Una vez agrupados los animales se procedió a sangrarlos y obtener el suero con el cual realizaron las pruebas de: Huddleson, GT y FC a 37°C. y 4°C. de acuerdo a las técnicas establecidas por el C.E.B. (1); considerándose positivos todos los sueros - que presentaron 80% de hemólisis o más en la dilución 1:20 en la prueba de fijación de complemento, en cualquiera de las dos temperaturas.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Antes de empezar el experimento se realizaron las pruebas de Huddleson, CT, y FC a 37°C. y 4 °C. para comprobar que las beceras no poseían anticuerpos contra Brucella abortus, en el momento de la vacunación (día 0); el Medico Veterinario encargado de la explotación hizo notar que la becerra No. 8, tenía un absceso en la región mandibular y se le había dado tratamiento con antibiomaticos y corticosteroides; se tomó la decisión de incluirla dentro del grupo de beceras vacunadas, con el objeto de obtener información adicional, observando su respuesta a la vacunación.

De acuerdo a lo señalado por Stollar y Sandberg (28,29) Casas (6), Guniff (9) y Borsos (3) respecto a que las IgG fijan mejor el complemento a 4°C. que a 37°C. y que las IgM fijan mejor el complemento a 37°C. que a 4°C., se decidió hacer las dos pruebas simultaneamente (37°C. y 4°C.), con el fin de aclarar en que momento se inicia la producción de cada tipo de inmunoglobulinas y al mismo tiempo el pico y descenso de las mismas y su interrelación con las pruebas rutinarias que realiza la Campaña Nacional contra la Brucelosis que son: Aglutinación rápida en placa (Huddleson) y la prueba de la tarjeta (CT).

Durante la realización de las pruebas se encontró que: en la becerra número 5 (gráfica 1) de 6 meses de edad, la becerra número

ro 8 de $3\frac{1}{2}$ meses de edad (gráfica 4) y la becerro número 9 de 3 meses de edad (gráfica 5), la producción de IgM (37°C.) e IgG (4°C.) fué simultánea, mientras que la becerro número 6 de 5 meses de edad (gráfica 2) y la becerro número 7 de 4 meses de edad (gráfica 3), primero se detectaron IgM con diferencia de 2 y 1 día respectivamente se detectó IgG, lo cual concuerda con lo reportado por Casas, Brinley y el Comité de Expertos en Brucelosis (4,6,22).

La máxima producción de inmunoglobulinas, se detectó para las IgM entre los 6 y 12 días después de la vacunación y para las IgG entre los 12 y 18 días (gráficas 1,2,3,4,5), encontrándose diferencias con los autores antes mencionados, que reportan para las IgM de 13 a 21 días y para las IgG de 26 a 42 días; es probable que estas diferencias se deban a que este trabajo se realizó con fijación de complemento, que es una prueba muy sensible mientras estos autores no mencionan cuales pruebas utilizaron para detectar los anticuerpos.

Durante este experimento se notó una disminución de las inmunoglobulinas M entre los 14 y 24 días (gráficas 1;2,3,4,5), y para las IgG de los 16 a los 30 días.

Se encontró que la prueba de la tarjeta (CT) detectó a los animales positivos más precozmente, mientras que la sensibilidad de la prueba de Huddleson fué menor (gráficas 1,2,3,4,5), lo

qual concuerda con lo mencionado por Davies y Nicoletti (10,20), presentandose aglutinación en CT cuando los títulos variaban entre incompleto a 100 e incompleto a 200 (graficas 1,2,3,4,5).

Se encontraron altas y bajas de los títulos en fijación de complemento a las dos temperaturas las cuales se deben probablemente a la multiplicación y liberación de brucelas en la corriente circulatoria, no siendo detectadas estas variaciones con la prueba de Huddleson.

Se encontró que la prueba más sensible para determinar el inicio el pico y la baja de anticuerpos fué la prueba de fijación de complemento a 37°C. (IGM), debido a que estas inmunoglobulinas por su gran tamaño, son más eficaces para activar el complemento (33).

Por otro lado se encontró una estrecha relación entre la prueba a 4°C. y CT lo que esta de acuerdo con lo mencionado por Morgan y Nicoletti (18,20), ya que las dos pruebas detectan inmunoglobulinas de tipo IgG1 como mencionan: Gorbel, Paterson y Casas (8,25,6).

Las diferencias que se notan respecto a la detección de inmunoglobulinas (inicio, pico y descenso) por las diferentes pruebas, se debe a que existe una marcada diferencia en cuanto a especificidad y sensibilidad de cada una de ellas, detectando diferen-

tes tipos de inmunoglobulinas como mencionan Casas y Davies - (6,10).

La becerro enferma (gráfica 4) fué la última en reaccionar en todas las pruebas y sus títulos fueron mas bajos que los obtenidos por las sanas, principalmente en la fijación de complemento a 4°C, a este respecto Tizard R. Ian. (33) menciona que dentro de las causas de falla en la vacunación, se encuentran el uso de corticosteroides y algunos antibioticos durante la vacunación ya que estas substancias son inmunodepresoras.

En el resto de los animales probados en el hato (cuadro 1) se encontró que el 100% de los sueros correspondientes a los animales que tenían entre 1 y 3 meses después de la vacunación, reaccionaron a las pruebas CT y de fijación de complemento a 37°C. (IgM) y 4°C. (IgG), pero solo el 71.4%, reaccionó con la prueba de -- Huddleson.

Los sueros de los animales entre 4 y 24 meses después de la vacunación, resultaron negativos a las pruebas de Huddleson y CT pero continuaron reaccionando con las pruebas de fijación de complemento a 37°C. (IgM) y en menor proporción a 4°C. (IgG).

Al revisar los resultados de las muestras correspondientes a animales de 25 a 48 meses después de la vacunación, se encontró que únicamente el 20% de los animales reaccionaron a la prueba de -

37°C. (IgM), siendo negativos en las demás pruebas y por último los sueros de los animales que se encontraban entre 49 y 72 meses después de la vacunación resultaron negativos en las 4 pruebas; en vista de lo cual se puede decir que la concentración de los dos tipos de inmunoglobulinas, disminuyeron paulatinamente - desapareciendo primero las IgG (el último de los animales positivos a la prueba FC a 4°C., tenía 19 meses después de la vacunación) lo cual concuerda con lo mencionado por Brinley, Casas y el Comité de Expertos en Brucelosis (5,6,22).., las IgM persisten en algunos animales hasta 4 años después de la vacunación, esta persistencia de IgM en el hato unido a los bajos títulos aglutinantes en la prueba de Huddleson ya ha sido mencionado por Schimmel y Erler (30), y en este caso puede tener dos explicaciones:

a) Reacciones cruzadas:

Alton y Casas (1,6) mencionan que las reacciones con Yersinia - enterocolitica por la similitud de los antígenos lipopolisacáridos superficiales, no permiten la diferenciación mediante: seroaglutinación, fijación de complemento y Coombs del origen de las infecciones, con las de Brucella.

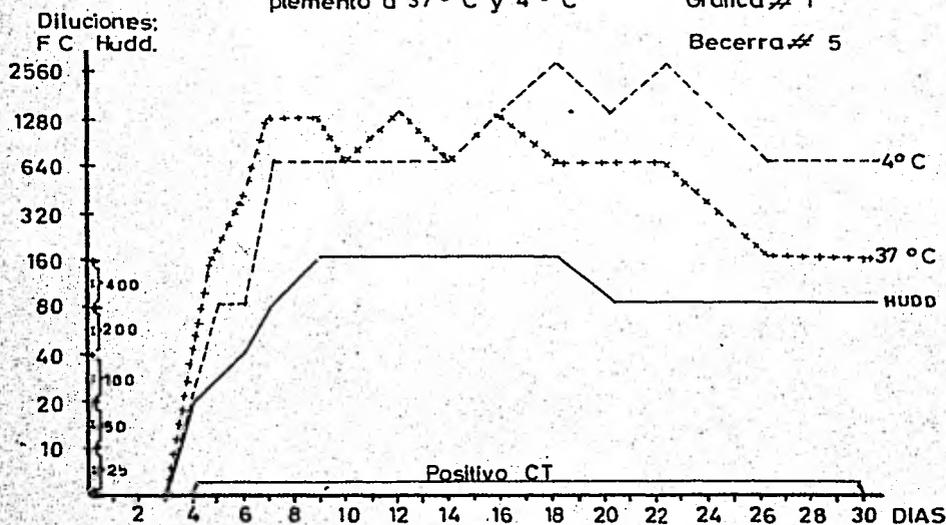
b) Anticuerpos postvacunales:

Catoni (7) hace énfasis en que el predominio de IgM, es probablemente de origen vacunal y esta explicación es la que aparece más aceptable ya que; en el hato no ha habido abortos, ni problemas reproductivos de importancia y por otro lado el hato lleva 4 años sin reactores en las pruebas de Huddleson y CT.

Resultados de las pruebas de
Huddleson CT y Fijación de Com-
plemento a 37° C y 4° C

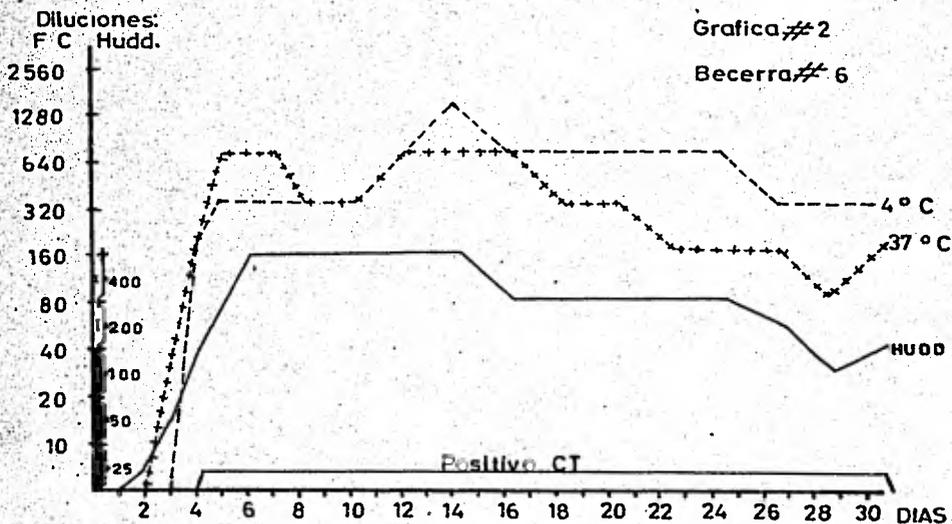
Grafica # 1

Becerra # 5



Grafica # 2

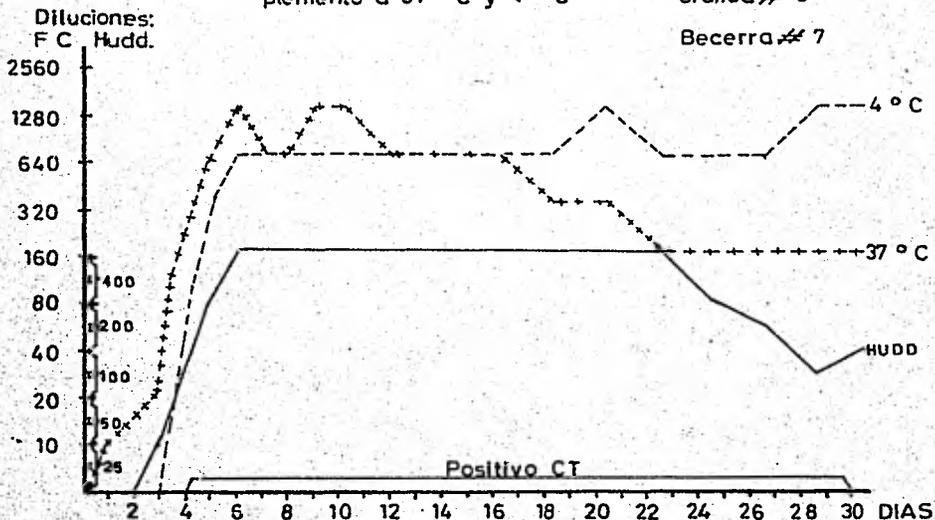
Becerra # 6



Resultados de las pruebas de Huddleson CTy Fijacion de Complemento a 37 ° C y 4 ° C

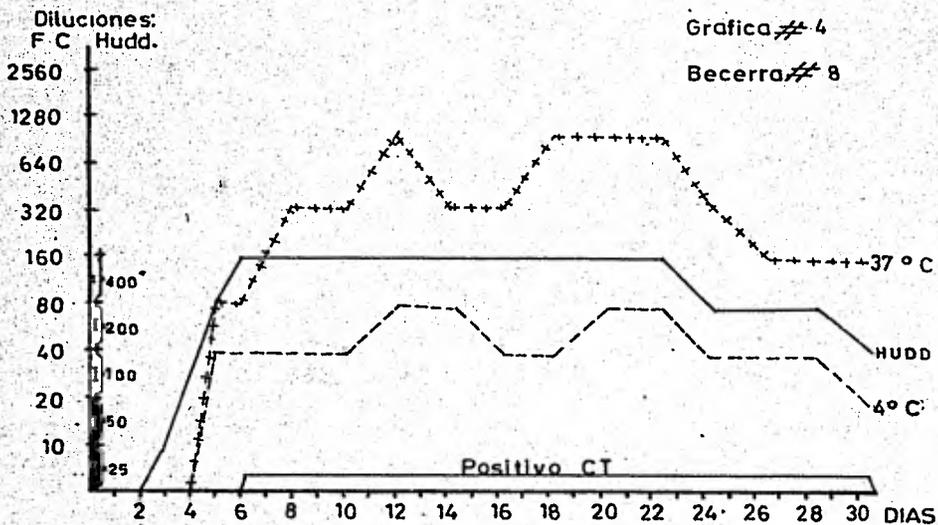
Grafica # 3

Becerra # 7



Grafica # 4

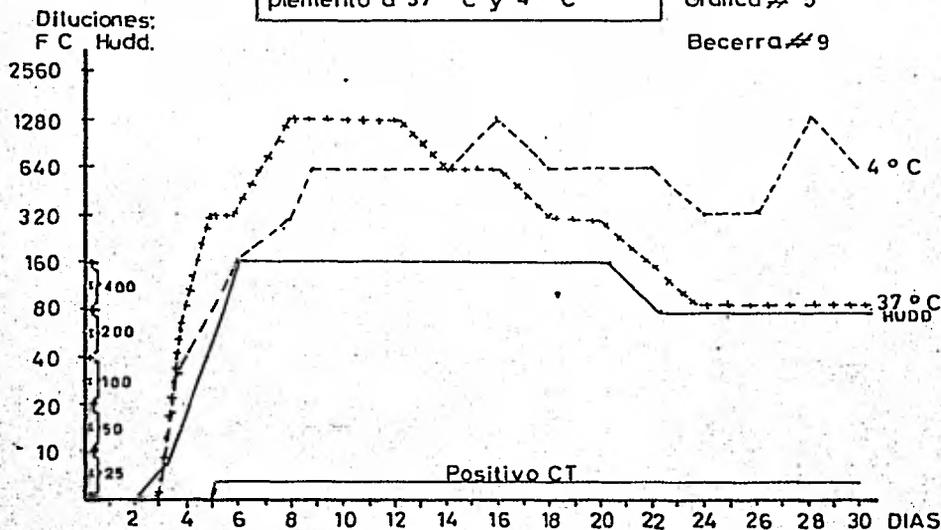
Becerra # 8



Resultados de las pruebas de
Huddleson CT y Fijacion de Com-
plemento a 37 ° C y 4 ° C

Gratica # 5

Becerra # 9



MESES POST- VACUNACION	TOTAL DE ANIMALES MUESTRADOS	PRUEBA 37 ° C %	PRUEBA 4 ° C %	PRUEBA HUDD %	PRUEBA CT %
1-3	14	100	100	71.4	100
4-6	10	90	10	0	0
7-12	23	73.9	8.6	0	0
13-24	43	32.5	16.2	0	0
25-36	10	20	0	0	0
37-48	9	20	0	0	0
49-60	9	0	0	0	0
61-72	5	0	0	0	0

CUADRO No.1

Tabla comparativa de los animales que reaccionaron a las diferentes pruebas.

CONCLUSION:

La prueba a 4°C. (IgG) debe usarse simultaneamente con la de 37°C. (IgM) para determinar si los anticuerpos presentes en un animal son de origen infeccioso ó post vacunal, lo cual tiene un gran valor en el último muestreo de los hatos antes de declararlos oficialmente "Libres de Brucelosis".

BIBLIOGRAFIA.

- 1) Alton G.G., Jones M., and Pietz D.E., "Laboratory Techniques in Brucellosis" 2a. Edición, O.M.S. Genova (Monografía 55), (1975).
- 2) Biegeleisen J.Z., Moody M.D., Marcus B.B., and Flynt J.W. "The Use of Fluorescein-Labeled Anti-Brucella suis Globulin for Demonstrating Brucella Antigen in Animal Tissues" Am.J. Vet. Res. 23: 592-595 (1962).
- 3) Borsos T. "Immunoglobulin Classes and Complement-Fixing Activity", Progress In Immunology, Ed. B. Amos, Academic Press, N. York: 841-848. (1971)
- 4) Brinley Morgan W.J. "The Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis" Vet. Rec. 80: 612-621 (1967).
- 5) Brinley Morgan W.J., Mackinnon D.J., Gill K.P.W., Gower S.G. M., and Norris P.I.W., "Standard Laboratory Techniques for Diagnosis of Brucellosis" Weybridge, Central Veterinary Laboratory, England (1971).
- 6) Casas O.R., "Diagnóstico Serológico de la Brucelosis" Zoonosis 18: 107-141 (1976).

- 7) Catoni G.H. ¿Cuándo despertará La Argentina en la Profilaxis y Erradicación de la Brucelosis? Gaceta Vet. 39:126-127 (1977)
- 8) Corbel M.J. "Characterisation of Antibodies Active in the Rose Bengal Plate Test" Vet. Rec. :484-485, (1972).
- 9) Gunniff R.V., and Stollar B.D., "Properties of 19 S Antibodies in Complement Fixation" J.Immunol. 100: 7-14 (1968).
- 10) Davies G. "The Rose Bengal Test" Vet. Rec. 88: 447-449 (1971)
- 11) Del Rio Vargas J.A., "Algunos Aspectos Técnicos Presentados en el Primer Simposium Internacional sobre Brucelosis Bovina" efectuado en la Universidad de Texas A.& M. Edición privada del Departamento de Difusión Técnica y Relaciones Públicas de la Dirección General de Sanidad Animal (1976).
- 12) Del Rio Vargas J. A., "Resumen del informe de la situación actual de la Campaña Nacional contra la Brucelosis en México" presentado en el Primer Simposium Internacional sobre Brucelosis Bovina efectuado en la Universidad de Texas A. & M. - Edición privada del Departamento de Difusión Técnica y Relaciones Públicas de la Dirección General de Sanidad Animal (1976).
- 13) Deyoe B.L. "Immunology and Public Health Significance of -

- Swine Brucellosis" J.A.V.M.A. 160: 640-642 (1972).
- 14) Elizondo L.A. "Brucelosis en la Laguna" Boletín Epidemiológico 20: 80-81 (1956).
 - 15) Garca Chavez J.E. y personal de la Campaña Nacional contra la Brucelosis, observaciones personales (1977).
 - 16) Gil T.C., Giraudo J. A., Ambroggi A., Fava N., "Comparación de la Prevalencia de Brucelosis Bovina en Rodeos abiertos y cerrados" Zoonosis 18: 142-145 (1976).
 - 17) Kirsch E. "Os Caminhos de Brucelose" Manchete 1977 Rio de Janeiro (1977).
 - 18) Morgan W.J.B., Mackinnon D.J., Lawson J.R. and Cullen G.A. Vet. Rec. 85: 636 (1969).
 - 19) Nicoletti P., "Utilization of the Card Test in Brucellosis Eradication" J. Amer. Vet. Med. Ass. 151: 1778-1783 (1967).
 - 20) Nicoletti P., "Further Evaluation of Serological Test Procedures Used to Diagnose Brucellosis" Amer J. Vet. Res. 30: 1811-1816 (1969).
 - 21) O. I. R. S. A. "Procedimientos para la Realización de Pruebas Complementarias para el Diagnóstico de Brucelosis" Tra-

- ducción del Departamento de Sanidad Animal del O. I. R. S. A. (1973).
- 22) O. M. S./F. A. O. "Quinto Informe del Comité Mixto F. A. O./O. M. S. de Expertos en Brucelosis" serie de informes Técnicas No. 464 Génova (1971).
- 23) Onofre M., Coll R., Cerda M.S., y Gutiérrez G. "Seroepidemiología de la Brucelosis en la República Mexicana" Boletín Epidemiológico 20: 103-108 (1956).
- 24) P. Chávez y A. Fernández Luciano "Significado Epizootiológico de los Animales con Títulos Bajos a la Seroaglutinación Lenta en la Brucelosis" Rvta. Cub. Cienc. Vet. 4: 143-151 (1973).
- 25) Patterson J.M., Deyos B.L. and Stone S.S. "Identification of Immunoglobulins Associated With Complement Fixation, Agglutination and Low pH Buffered Antigen Tests for Brucellosis" - Am. J. Vet. Res. 37: 319-324 (1976).
- 26) Ramírez H.J. y Col. "Aspectos Socioeconómicos de la Alimentación en México" en la Sociedad Mexicana presente y futuro, Serie de Lecturas del Fondo F. C. E. México. (1974)
- 27) Rice C. E., Alexander D. C. and Barret B. B. "Chromatogra--

- phic Studies of Sera from Calves Vaccinated with Brucella abortus, Strain 19" *Canad. J. Comp. Med.* 31: 114-121 (1967).
- 28) Sandberg A. L., Stellar B. D. "Comparisons of Antibodies Reacting With DNA" *J. Immunol* 96: 764-771 (1966).
- 29) Stellar B. D. and Sandberg A. L. "Comparisons of Antibodies reacting With DNA" *J. Immunol* 96: 755-763 (1966)
- 30) Schimmel D. and Erler W. "Characterization of Agglutinins of Cattle Serum Against Brucella abortus" *Am. J. Vet. Res.* 28: 1919-1920 (1967).
- 31) Secretaría de Programación y Presupuesto "La Población de México, su Ocupación y sus Niveles de Bienestar" Serie Manuales de Información Básica de la Nación, S. P. P. México 1979.
- 32) Secretaría de Salubridad y Asistencia "Control de Enfermedades Transmisibles" 2a. Edición (Publicación Técnica No. 1), S. S. A. México 1975.
- 33) Tizard R. Ian. "Introducción a la Inmunología Veterinaria" W. B. Saunders Company (1977).
- 34) Williams C. Boyd "Fundamentos de Inmunología" 2a. Ed. Editorial Universitaria de Buenos Aires: 326-347 Argentina 1970.