



20.17.
Universidad Nacional Autónoma de México

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**PRUEBA COMPARATIVA DE VIABILIDAD
DE LA VACUNA DE DERRIENGUE V-319/
ACATLAN EN RATONES LACTANTES Y
RATONES DE 21 DIAS**

T E S I S

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

RAFAEL ARMANDO OJEDA MATA

México, D. F.

1979

8315



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.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	7
RESULTADOS	14
DISCUSION	17
CONCLUSION	18
BIBLIOGRAFIA	19

RESUMEN. -

Se estudiaron 16 lotes comerciales de la vacuna contra el Derriengue V-319/Acatlán elaborados en el I.N.I.P. - - - S.A.R.H.; con el objeto de encontrar la correlación existente entre la titulación de virus viable obtenido en ratón lactante y el que se obtiene en ratón de 21 días.

Las pruebas desarrolladas para este trabajo fueron el titular ambos grupos por el método de Reed and Muench y los límites de confianza al 90% por el método de Pizzi.

Para los métodos estadísticos se perforaron en tarjetas de computación los valores del título obtenido en ratón lactante y en ratón de 21 días para su análisis; también se aplicó la prueba "T" para encontrar la significancia de los títulos obtenidos.

Los resultados parecen indicar que con los datos obtenidos, no es posible predecir el título de la vacuna en ratones lactantes, con el obtenido en ratones de 21 días.

INTRODUCCION

La rabia es una enfermedad infecciosa aguda y casi sin excepción mortal, que se manifiesta en los casos típicos, por un aumento de la excitabilidad nerviosa y síntomas paralíticos ascendentes, y que generalmente se transmite a otros animales y al hombre, por la mordedura de un animal enfermo (19). El agente patógeno es un virus neurotrópo (20) perteneciente a la familia Rhabdoviridae, género lyssavirus (16).

El virus no atraviesa la piel íntegra, requiere de una solución de continuidad para penetrar, y aunque sí atraviesa las mucosas respiratoria y digestiva, la transmisión aérea no es el mecanismo común (4,14).

En el siglo XIX la Rabia fué confirmada como una enfermedad transmitida por la mordedura de animales enfermos al aislarse el virus de la saliva (25). La infecciosidad de la saliva la demostró Zenke 1804, transmitiendo la Rabia de un perro enfermo a uno sano, comprobado más tarde 1813 por Gruner y Salm (25). En los herbívoros, lo demostraron Berndat y col. 1822, y en el hombre, Magendie, por medio de inoculaciones en ratón (19). Galtier estableció en 1879 la contagiosidad de la baba para los conejos, inoculando la saliva por vía endovenosa (3).

En la prevención y control de las enfermedades transmisibles del hombre y de los animales, tiene capital importancia el conocimiento de los vectores de éstas, para un control adecuado y un mejor entendimiento de la epizootiología de una enfermedad. La rabia paralítica o "Derriengue", puede ser transmitida al hombre y a los animales por medio de la mordedura del quiróptero hematófago Desmodus rotundus, vector y reservorio de esta enfermedad (11).

En nuestro medio, el Derriengue Rabia Paralítica, causa daños por millones de pesos cada año, pues está ampliamente diseminado en toda la zona tropical y subtropical del país, además del riesgo que representa para los humanos el manejo del ganado infectado (10). Es importante hacer notar que el Derriengue ha seguido extendiéndose en nuevas zonas en los últimos años, y éste tiene relación directa con que el vampiro se está adaptando cada vez más a vivir en mayor altura (2,300 mt. sobre el nivel del mar) por lo que en el futuro es probable que nuevas áreas sean invadidas por este mal (11).

En 1911, Semple y colaboradores reportaron las primeras vacunas contra el Derriengue inactivadas con formalina, de las que existe escasa información sobre su eficacia (5). Posteriormente, aparecieron vacunas de virus vivo modificado, como es el caso de las vacunas avianizadas, producidas en embrión de pollo (17).

Koprowski y colaboradores en 1948, adaptaron la cepa Flury en embrión de pollo, efectuando 40 a 50 pases, esta cepa fué conocida como cepa Flury bajo pasaje (5). Posteriormente en -- 1954, el mismo investigador aumentó este pasaje, hasta 142 ó 156 pases en embrión de pollo y la cepa fué denominada cepa - Flury alto pasaje (5).

En 1957, por Camargo y Velázquez fué introducida en México la llamada cepa Flury alto pasaje. (13).

En 1965, Baer, Rivera y Mancisidor (6) tuvieron conocimiento - de la ineficacia de la cepa flury para detener un brote de De- rriengue; encontraron que a los 6 meses de haber sido aplica- da, no se observaban anticuerpos protectores, siendo necesaria la preparación y aplicación de una autovacuna elaborada -- por Mancisidor (21). Otros estudios efectuados por Palacios y Ortega en 1964 (5); Baer en 1975 (5), Batalla, Arellano y - - Sureau en 1971 (7 y 2), demostraron que una sola vacunación da ba protección por seis meses como máximo, por lo que dosis re- petidas eran necesarias para reducir la mortalidad. Otro in- conveniente era la presentación de Shock anafiláctico, hasta - en un 8% de la población bovina, en el momento de la revacuna- ción (22). Como resultado de estas investigaciones, en 1971 - en México, se recomendó que no se debía seguir utilizando la - cepa Flury (22).

En la actualidad se usan biológicos antirrábicos elaborados - en cultivos celulares con diversas cepas de virus; son productos antigénicos, inócuos y que generan protección durante períodos largos de tiempo (10); como un ejemplo de ésto, tenemos la vacuna antirrábica de origen murciélago vampiro cepa V-319/Acatlán (8,18,17,22). Esta vacuna se aisló de un vampiro macho, capturado en San Vicente, Oaxaca, con infección generalizada. Se procedió a infectar monoestratos de cultivos celulares de vampiro, con una suspensión al 20% de cerebro infectado; después de 4 pases en células embrionarias de vampiro, se obtuvo un título máximo de $10^{2.6}$ DL50 para ratón lactante (12).

Dado que estos títulos eran muy bajos y debido al hecho de que el virus de la rabia se multiplica mejor en la línea celular - BUK-21, la cepa V-319/Acatlán adquirió la capacidad de formar placas en suspensión agarosa, por lo que se procedió a purificar el virus por clonación, seleccionando una caja de Petri - que contenía una sola placa.

Esta clona V-319 cl-476 alcanzó entonces un título de $10^{9.0}$ - ufp/ml. en 3 pases más, estabilizándose en este título (12).

Las características de la cepa de virus han obligado en el pasado a efectuar la titulación de virus viable en prueba de - - placas ó bien en ratón lactante.

La presente tesis tiene por objeto encontrar la correlación - existente entre la titulación de virus viable obtenido en ratón lactante, y el que se obtiene en ratón de 21 días, a fin de poder determinar dentro de ciertos márgenes de confianza, - el título de virus en ratón de 21 días y saber cual debería ser en ratón lactante.

También tiene como objeto corroborar y comparar la efectividad de la titulación en ratones de 21 días para obtener las siguientes ventajas:

- . Son animales de más fácil manejo.
- . Menor riesgo de canibalismo.
- . Una mejor observación de los síntomas.
- . Respuesta individual a la inoculación.
- . Evitar el deshechar la titulación por muerte de la madre.
- . El stress en los ratones lactantes es mucho más severo, - causando en ocasiones la muerte, como también lo es en la madre teniendo que deshechar la camada, mientras que los ratones de 21 días se recuperan fácilmente.
- . Los ratones de 21 días se pueden adaptar más rápidamente a las condiciones en que se encuentre el local, en tanto que los ratones lactantes necesitan condiciones especiales de temperatura y humedad.
- . Facilidad en la formación de grupos más homogéneos.
- . El inconveniente de tener que deshacerse de las reproductoras.

MATERIAL Y METODOS

I.- Diluyente empleado

a).- Medio HBK-21 (Gibco). Este medio es preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El pH al que se ajustó fué de 7.1, utilizando HCL 0.1. Se esterilizó por filtración en filtros millipore con presión positiva, envasándose en volúmenes de 100 ml. en botellas estériles y se conservó en refrigeración a 4°C.

b).- Suero fetal bovino.- Este se adquiere de Flow Laboratories,* en volúmenes de 100 ml., sólo fué inactivado en baño maría a 56°C durante 30 minutos y se conservó en refrigeración a 4°C.

II.- Cepa de Virus

a).- Cepa V-319/Acatlán.- Se adaptó a cultivos celulares mediante 5 pases en células de embrión de vampiro; posteriormente se le dieron 5 pases en células HBK-21, tomándose de éste último pase, una placa, la número 476 para purificar al virus; posteriormente --

* Rockville Md 20852
U.S.A.

se dieron 3 pases más en éstas mismas células donde alcanzó el virus un título de 10^9 UFP/ml. (12).

III.- Material Biológico.- Ratones blancos cepa CD-1, lactantes y al destete (21 días), estos ratones fueron proporcionados por el Departamento de Bioterio del I.N.I.P., S.A.R.H.

METODOS.

Se titularon un total de 16 lotes comerciales que fueron elaborados en el Departamento de Producción de Vacunas del I.N.I.P., S.A.R.H.

Para cada lote se utilizaron 36 ratones de destete. Estos 36 ratones se dividieron en grupos de 6 para cada dilución; estas diluciones fueron decimales, de la 10^3 a 10^8 inoculándose 0.02 ml intracerebralmente para cada ratón. Para los ratones lactantes se utilizaron 6 camadas para cada lote, seleccionando hembras con camadas de no menos de 6 crías; estos ratones se inocularon por vía intracerebral con 0.01 ml.

Los lotes se titularon al mismo tiempo por el Dr. Octavio Hernández en el Departamento de Constatación del I.N.I.P., S.A.R.H.

Aunque el virus de la rabia rara vez causa signos de la enfermedad en ratones dentro de los 5 días después de la inoculación, se optó por verificar diariamente empezando el día de la inoculación, el número de ratones encontrados normales, enfermos ó muertos; se anotaron en una tarjeta de historia de la titulación, la cual se conservó durante todo el experimento. El período de observación fué de 21 días a partir del día de la inoculación; los ratones muertos durante los primeros 5 días después de la inoculación se eliminaron repitiéndose la prueba, por no considerarse confiables los resultados.

METODOS ESTADISTICOS

Las dosis letal 50% (DL50) fueron calculadas por el método de Reed and Muench (24). Los límites de confianza al 90% de cada titulación fueron calculados por el método de Pizzi (23).

a).- Gráficas de valor lineal ajustado.

Las gráficas de valor lineal ajustando el dato par en donde le corresponde en la misma línea vertical, pero no la misma horizontal.

Para trazar la posición de una titulación como base, se tomó en cuenta la abscisa y la ordenada. A fin de ajustar los

datos a una línea y para trazar la posición de la titulación al azar se tomó en consideración el sitio trazado de la titulación base y la coordenada vertical (abcisa). Para trazar la otra gráfica se invierten los datos tomando la titulación que se usó anteriormente como base, al azar, y la que se usó al azar, ahora como base; de igual manera, se efectuó la comparación de las demás titulaciones (15).

Todos los valores se pueden leer en las 2 escalas (la horizontal y la vertical) en tanto que los límites de confianza sólo se deben leer en la escala vertical, de este modo, cada titulación tiene anotada en línea vertical hacia arriba ó hacia abajo, el valor con el que se le compara.

b).- Gráficas de regresión, sobre los datos no ajustados.

Para calcular las correlaciones existentes entre las series de titulaciones efectuadas, se utilizaron los valores no ajustados a una línea de correlación (los anotados como al azar, pero que en realidad no lo son). Se calculó la correlación existente entre los datos con la técnica de cuadrados mínimos y se calculó la pendiente de cada línea obtenida por este procedimiento, utilizando los valores de A y B de la fórmula de la línea de predicción (1) para obtener los valores mínimo y máximo esperados sobre la línea

así obtenida. Estos valores máximo y mínimo fueron entonces anotados en una gráfica, haciéndose pasar una línea por estos 2 puntos de intersección.

c).- Comparación entre sí de las líneas de predicción.

Una vez elaboradas las gráficas de las diferentes líneas de predicción, se comparan entre sí a fin de determinar si hay diferencias significativas entre los datos obtenidos en los 2 laboratorios que intervinieron en el trabajo y entre ratones lactantes y de 21 días.

Con los valores promedio de cada uno de los 16 lotes se perforaron en tarjetas para computación los valores del título obtenido en ratón lactante y de 21 días, tanto en el laboratorio de Producción como en el de Constatación, con los datos perforados se procedió a su análisis utilizando para ésto las facilidades del Centro de Estadística y Cómputo del Colegio de Postgraduados, S.A.R.H., Chapingo, México. Se utilizó el programa Statistical Analysis System (SAS) de acuerdo a las indicaciones de Barr y Goodnight (1972) (6B). El procedimiento empleado fué "CORR" para el cálculo de la correlación.

El análisis estadístico es importante ya que por medio de él podemos saber si la diferencia entre los valores medios de dos muestras es lo suficientemente grande como para justificar la conclusión de que las muestras representan dos poblaciones diferentes.

Para determinar la probabilidad de que la diferencia encontrada puede presentarse durante la extracción al azar de muestras de una misma población, debe desarrollarse un método para poder sacar conclusiones más precisas.

Se aplicó la prueba de "T" para muestras pequeñas, para encontrar el significado de los títulos obtenidos en los diferentes grupos.

Fórmulas empleadas:

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}$$

$$D.S. = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X)^2}{n-1}}$$

$$E.S. = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n(n-1)}}$$

$$T = \frac{\sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{(n_1 + n_2) (n_1 - 1)^2} S_1^2 + (n_2 - 1)^2 S_2^2}}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}$$

\bar{X} = media

\bar{X}_1 = media de las muestras de una población.

\bar{X}_2 = media de las muestras de la otra población.

n_1 = número de muestras de una población

n_2 = número de muestras de la otra población.

Al sacar el valor de T, se recurre a la tabla de distribución de t correspondiente a cierto grado de libertad, de donde se obtiene el valor de P. (Bancroft H. 1967) (6A).

RESULTADOS

Los resultados de titulación se anotan en el cuadro No. 1 en donde se observan los títulos que dieron cada vacuna en las cuatro titulaciones que se sometieron, conjuntamente con los límites de confianza al 90% calculado por el método Pizzi (23).

Las gráficas 1 a 8 comparan las titulaciones de diferentes maneras y fueron elaboradas con el sistema de valor lineal ajustado, descrito anteriormente. Como un ejemplo de este método, la gráfica 1 en la que se usó como base el título obtenido en ratón lactante en el Departamento de Producción y se le compara con el título obtenido en el Departamento de Constatación como dato al azar. Así tenemos que en el primer dato utilizado como base, el título fué de 7.0 con límites de confianza de ± 0.37 , comparándolo con el dato al azar cuyo título fué de 7.15 y con límites de confianza de ± 0.75 . De esta manera la titulación usada como base, tiene línea vertical directa, el valor comparativo del título obtenido de la otra titulación utilizada.

Para elaborar las gráficas, se tomó solamente la distribución de los datos al azar eliminándose la línea de ajuste. Así en la gráfica 1 se utilizó primeramente los títulos obtenidos en ratón lactante en el Departamento de Producción como base para el ajuste lineal y los títulos obtenidos de ratón lactante en el Departamento de Constatación al azar donde correspondieran, la segunda parte de la construcción de la gráfica, se hizo invir-

tiendo el procedimiento utilizando ahora los títulos obtenidos por el Departamento de Constatación en ratón lactante como base del valor ajustado y los títulos del Departamento de Producción al azar. Estos deberían dar origen a 2 gráficas que se han fundido en una sola anotando unicamente los datos al azar de ambas y eliminando por ser poco ilustrativos, los valores ajustados a una línea.

En el cuadro 2 se pueden observar los promedios de los títulos obtenidos en el Laboratorio de Producción y de Constatación usando ratones lactantes y de 21 días, así como los promedios comparativos de la suma de lactantes y de la suma de 21 días. Es decir, sumando de cada lote los valores de lactantes en Producción y Constatación, respectivamente.

Con los datos de cada lote analizado en Producción y Constatación, se obtuvieron los coeficientes de correlación simple entre las variables lactantes de Producción, 21 días de Producción, lactantes de Constatación y 21 días de Constatación así como los datos totales obtenidos en lactantes y 21 días (lactantes y 21 días respectivamente). La prueba de significancia es para determinar si el coeficiente es ó no diferente a cero. Los resultados se muestran en el cuadro 3, donde se puede notar que las asociaciones entre lactantes de Producción y lactantes de Constatación y las de 21 días de Producción con lactantes de

constatación son las únicas significativas. La asociación entre lactantes y 21 días son bajas y no significativas. Esto si bien puede indicar que la asociación no existe, también puede deberse al bajo número de datos obtenidos. En el cuadro 4 se anotan los resultados de la prueba de T, para obtener la probabilidad entre los grupos.

TITULO DE LOS 16 LOTES ESTUDIADOS CON SUS
LIMITE DE CONFIANZA AL 90%

No. DE LOTE	A	B	C	D
1	7.4 ± .67	6.35 ± .76	7.5 ± .51	7.09 ± .55
2	7.2 ± .81	6.68 ± .76	7.5 ± .51	6.2 ± .71
3	7.02 ± .71	6.89 ± .62	7.6 ± .55	7.2 ± .71
4	7.02 ± .82	7.68 ± .77	8.0 ± .71	8.2 ± .79
5	7.11 ± .55	6.89 ± .62	7.5 ± .51	6.3 ± .89
6	7.91 ± .55	7.02 ± .55	8.42 ± .77	7.3 ± .55
7	7.2 ± .51	7.35 ± .77	7.59 ± .55	6.5 ± .76
8	7.94 ± .67	7.02 ± .56	7.47 ± .59	7.3 ± .55
9	8.2 ± .71	7.02 ± .56	7.6 ± .79	7.14 ± .62
10	8.2 ± .71	7.76 ± .79	8.29 ± .67	6.2 ± .71
11	8.2 ± .71	7.94 ± .85	8.0 ± .71	6.14 ± .87
12	7.44 ± .67	6.0 ± .87	7.24 ± .67	7.16 ± .81
13	7.94 ± .67	6.35 ± .77	7.55 ± .55	6.2 ± .75
14	7.29 ± .55	6.68 ± .77	7.15 ± .75	6.5 ± .75
15	7.29 ± .55	7.2 ± .56	7.59 ± .55	6.5 ± .87
16	7.0 ± .57	6.96 ± .59	7.15 ± .75	6.2 ± .71

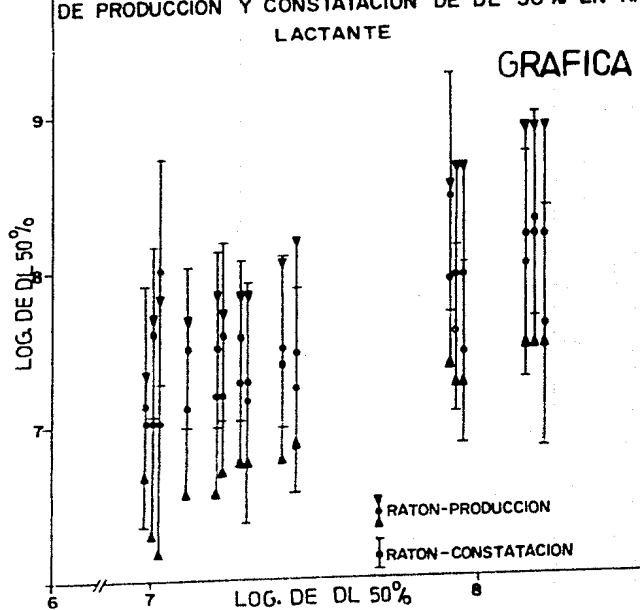
A- Título obtenido en el laboratorio de Producción en ratón lactante
 B- Título obtenido en el laboratorio de Producción en ratón de 21 días
 C- Título obtenido en el laboratorio de Constatación en ratón lactante
 D- Título obtenido en el laboratorio de Constatación en ratón de 21 días

Los títulos están expresados en DL₅₀ base 10/ml.

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN LOS DEPARTAMENTOS
DE PRODUCCION Y CONSTATAACION DE DL 50% EN RATON

LACTANTE

GRAFICA 1

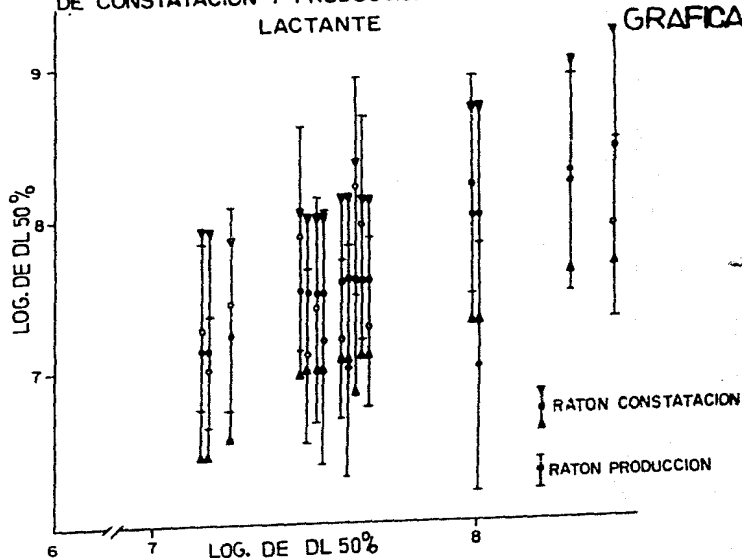


LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN LOS DEPARTAMENTOS
DE CONSTATAcion Y PRODUCCION DE DL. 50% EN RATON

LACTANTE

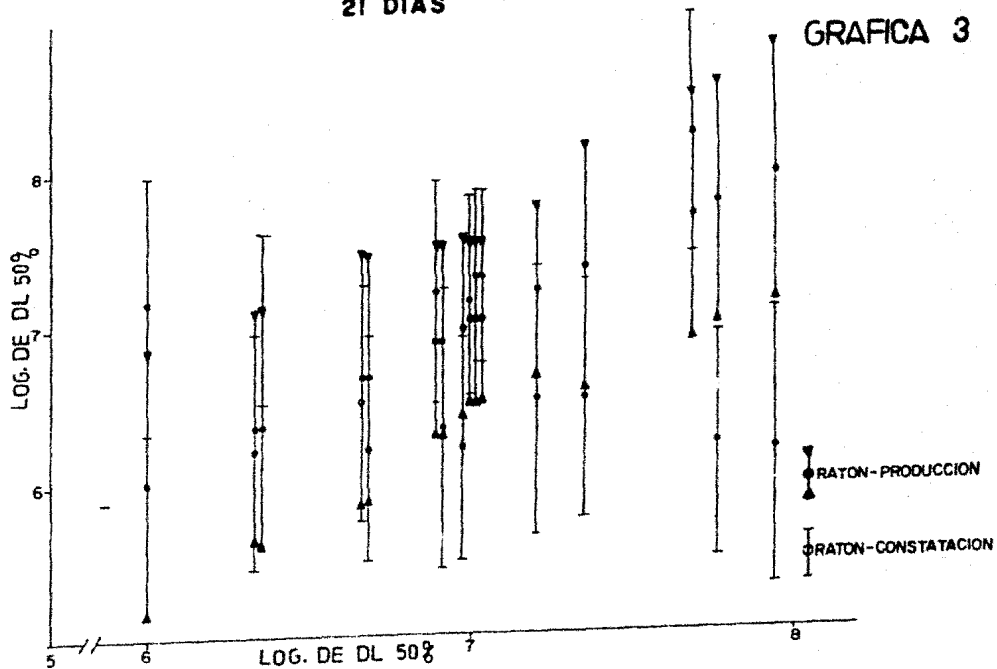
GRAFICA 2



LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN LOS DEPARTAMENTOS
DE PRODUCCION Y CONSTATAcion DE DL 50% EN RATON DE

21 DIAS

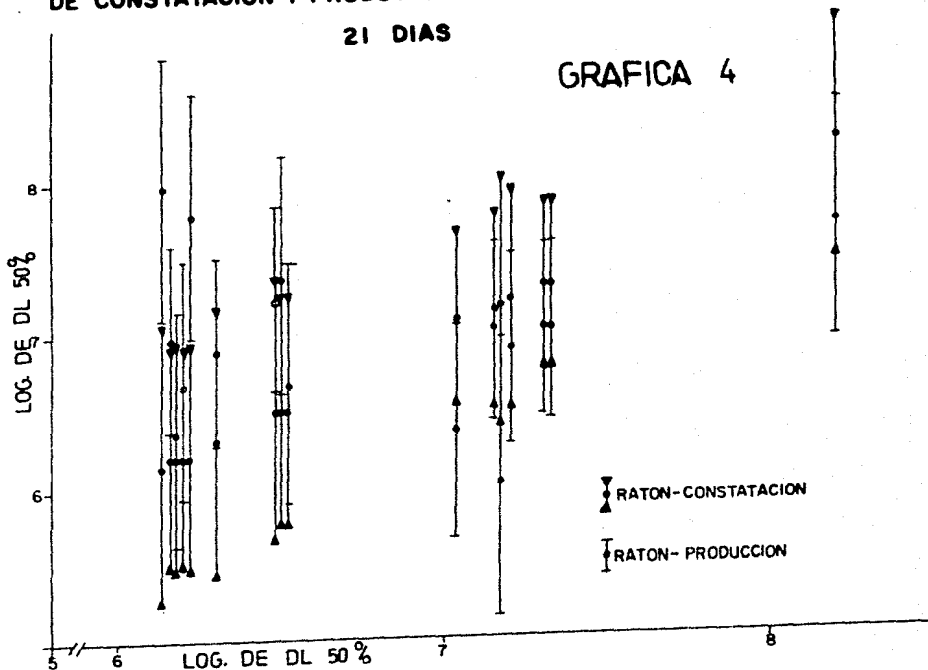


LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN LOS DEPARTAMENTOS
DE CONSTACACION Y PRODUCCION DE DL 50% EN RATON DE

21 DIAS

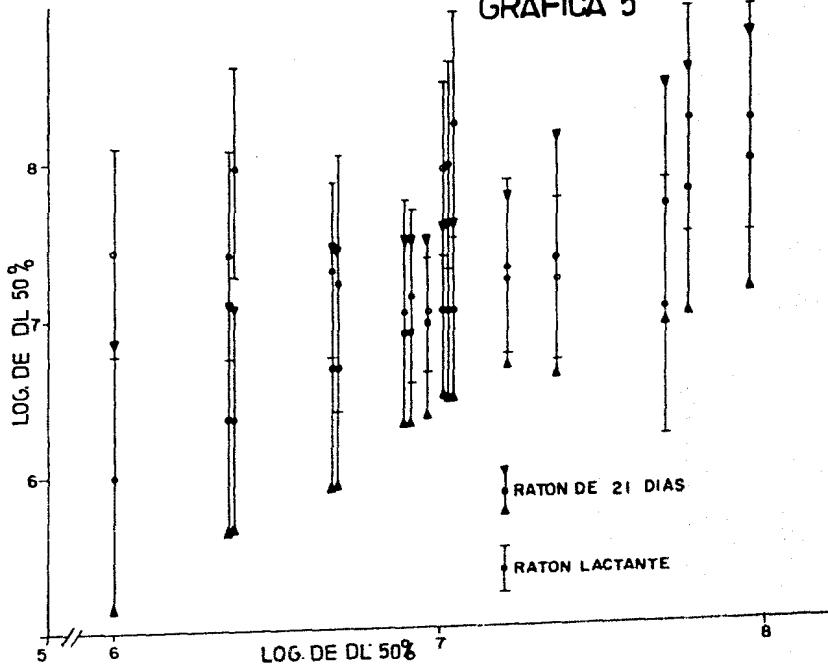
GRAFICA 4



LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

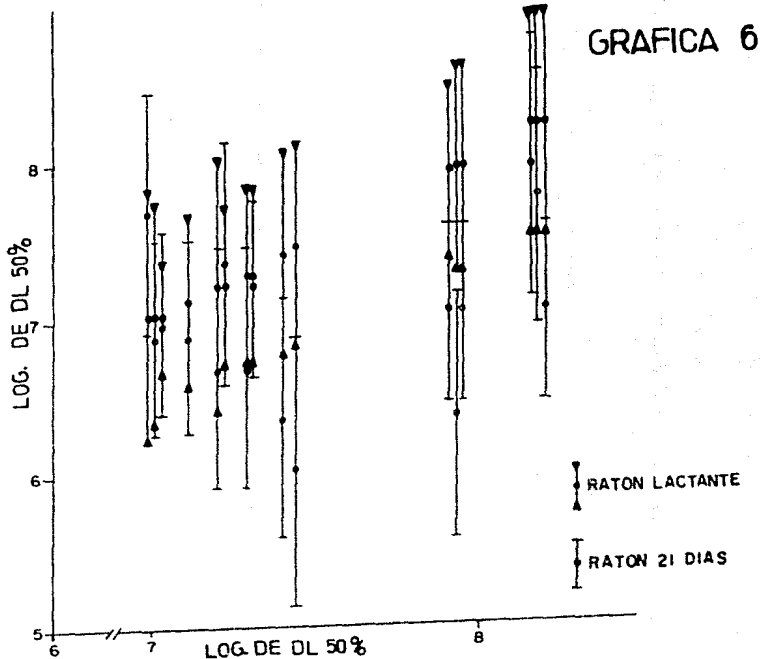
COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN EL DEPARTAMENTO
DE PRODUCCION DE DL 50% EN RATON DE 21 DIAS Y RATON
LACTANTE

GRAFICA 5



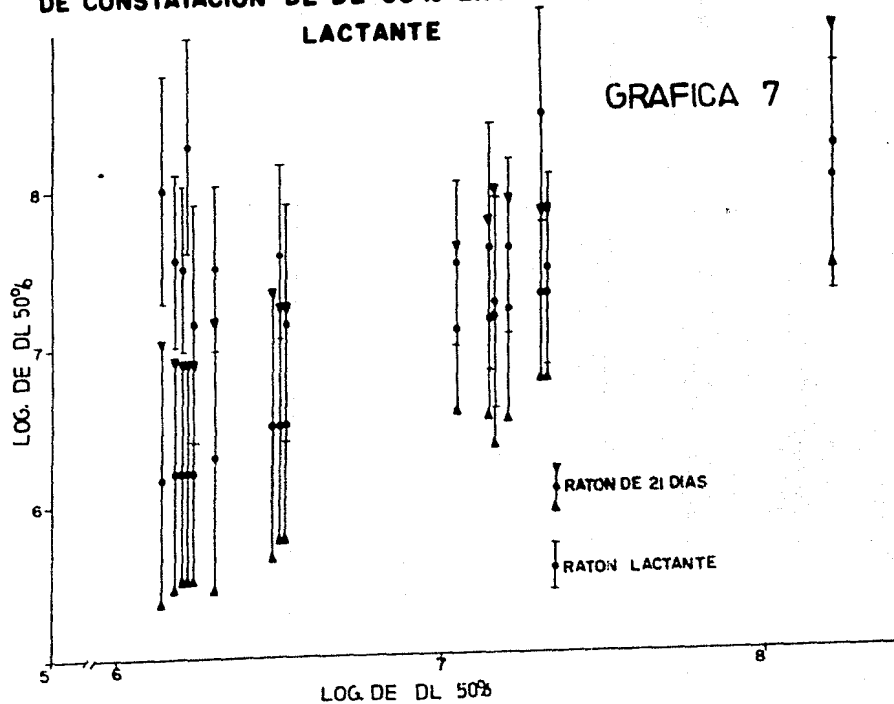
LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN EL DEPARTAMENTO
DE PRODUCCION DE DL 50% EN RATON LACTANTE Y RATON
DE 21 DIAS



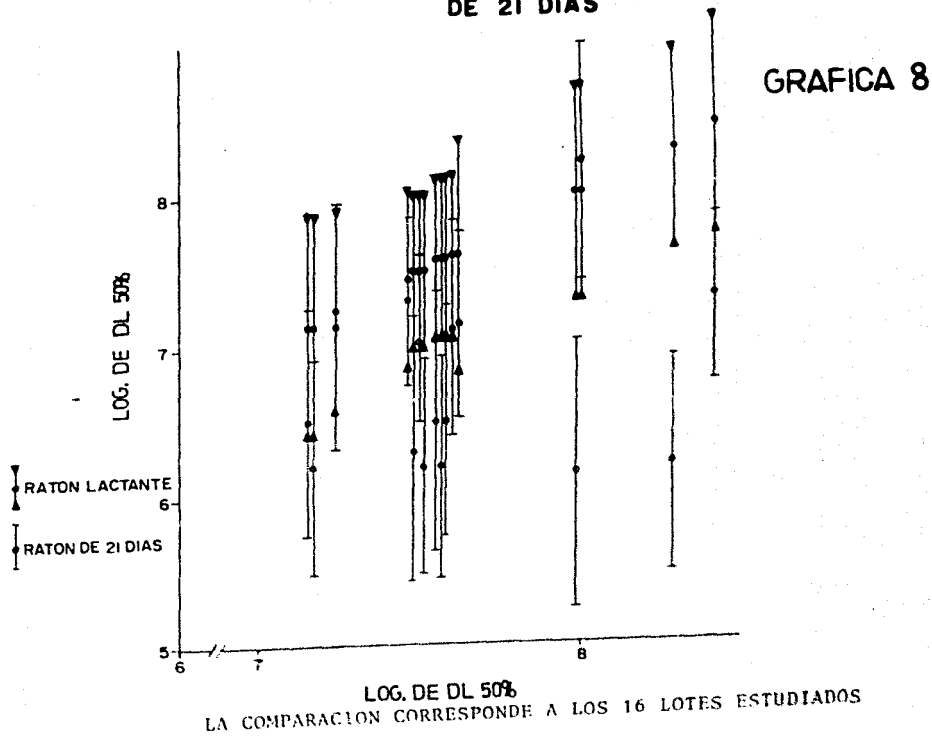
LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN EL DEPARTAMENTO
DE CONSTATAION DE DL 50% EN RATON DE 21 DIAS Y RATON
LACTANTE



LA COMPARACION CORRESPONDE A LOS 16 LOTES ESTUDIADOS

COMPARACION DE TITULOS OBTENIDOS EN EL DEPARTAMENTO
 DE CONSTATAION DE DL 50% EN RATON LACTANTE Y RATON
 DE 21 DIAS



CUADRO 2

Promedios y desviaciones estándar de las determinaciones -
obtenidas en el laboratorio de Producción y Constatación -
en Ratón lactante y de 21 días. *

VARIABLE	$\bar{X} \pm S$	C. V.
Producción Lactante	7.52 \pm 0.46	6.10
Producción 21 días	6.99 \pm 0.53	7.54
Constatación Lactante	7.64 \pm 0.37	8.42
Constatación 21 días	6.75 \pm 0.60	8.81
Lactantes	7.57 \pm 0.36	4.73
21 días	6.87 \pm 0.39	5.72

* n = 16

CUADRO 3

Coefficientes de Correlación **a**

	21 Prod.	Lact.Const.	21 Const.	Lact.	Veintuno
Lact.Prod.	0.24 ns	0.50 *	- .12 ns	0.90 **	0.07 ns
21 d.Prod.		0.63 **	- .02 ns	0.48 ns	0.65 **
Lact.Const.			0.19 ns	0.83 **	0.56 *
21 Const.				0.02 ns	0.74 **
Lactantes					0.33 ns

a n= 16

** altamente significativo (P < 0.01)

* significativo (P < 0.05)

ns no significativo (P > 0.05)

CUADRO 4

DATOS ESTADISTICOS DE LOS GRUPOS

	A	B	C	D
Media	7.52	6.99	7.64	6.75
D.S.	± 0.456	± 0.53	± 0.37	± 0.60
E.S.	± 0.10	± 0.13	± 0.10	± 0.14

DATOS ESTADISTICOS DE LA COMPARACION DE LOS GRUPOS

	AB	AD	BC	CD
P - <	0.001	0.001	0.001	0.001

D.S. = Desviación estándar

E.S. = Error estándar

P. = Probabilidad

DISCUSION. -

Como se puede notar, los títulos obtenidos para lactantes son siempre superiores a los encontrados en 21 días independientemente que se realicen en producción ó en constatación. Los coeficientes de variación fueron siempre inferiores en lactantes, aunque sin diferencias apreciables. El hecho de no haberse detectado significancia en la asociación entre lactantes y 21 días, si bien puede deberse a un problema de tamaño de muestra tanto en el número de lotes como en las -- titulaciones, también puede deberse a que los animales a los 21 días se comportan en forma diferente, debido a un cambio en la susceptibilidad de los animales con la diferencia de edades entre los dos lotes.

CONCLUSION. -

Con los datos obtenidos hasta ahora no es posible predecir el título de la vacuna en ratones lactantes, con el obtenido en ratones de 21 días.

En el análisis de varianza, el reducido tamaño de los coeficientes de variación indican que las dos poblaciones están bien controladas, aún cuando tienden a ser menores en lactantes, las diferencias no son significativas.

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

- 1.- Adler, H. and Edward, B.R.: Introduction to probability and statistics, 5th ed. San Francisco, W. H. Freeman, 1972.
- 2.- Arellano, C. Sureau, P. Batalla, D. y Morales, J.: Evaluación de la eficacia de la vacuna cepa - - flury, contra la rabia paralítica bovina. Téc. Pec. Méx., 19: 9-14 (1972).
- 3.- Atanasiu, P.: El virus de la rabia. Salud Pública en México., Vol. XVI 3: 345 (1974).
- 4.- Atanasiu, P.: Patogenia de la rabia. Salud Pública en México., Vol. XVI 3: 357 (1974).
- 5.- Baer, G.: The natural history of rabies. New York. - Academic Press, 1975.
- 6.- Baer, G. Rivera, R. y Mancisidor, A.: Títulos de sero- - neutralización contra el Derriengue producidos por una vacuna autógena. Téc. Pec. Méx., 6: 11-15 (1965).

- 6A.- Bancroft, H.: Introducción a la Bioestadística. Editorial Universitaria de Buenos Aires, EUDEBA. 1967
- 6B.- Barr, A. and Goodnight, J.: Statistical Analysis System. North Carolina State University, N.C.S.U. 1972.
- 7.- Batalla, D. Arellano, C. y Sureau, P.: Evaluación serológica de las vacunas antirrábicas para bovinos que existen actualmente en México. - *Téc. Pec. Méx.*, 18: 22-26 (1971).
- 8.- Bijlenga, G. Hernández, B. y Mar, R. Vacunación experimental en ganado con una cepa de rabia - origen murciélago vampiro, elaborada en cultivos celulares. Reunión Anual VIII. I.N.I.P. S.A.G. México. 26-29 (1971).
- 9.- Bijlenga, G. y Hernández, B.: Adaptation, attenuation -- and plaque purification of a rabies - - - isolate (V319) from a vampire Bat (*Desmodus rotundus*). *Am. J. Vet. Assoc.*, (1974).

- 10.- Boletín epizootiológico sobre rabia parálitica; Vol. I:
No. 2, Segundo trimestre de 1975.
P.I.R.P. - I.N.I.P. (S.A.G.).
- 11.- Boletín epizootiológico sobre rabia parálitica; Vol. I:
No. 3, Tercer trimestre de 1975.
P.I.R.P. - I.N.I.P. (S.A.G.).
- 12.- Boletín epizootiológico sobre rabia parálitica; 1976. Va
cuna antirrábica de origen murciélago-vam
piro, cepa V-319/Acatlán para proteger al
ganado bovino contra la rabia pasesiante.
en México. P.I.R.P. - I.N.I.P. (S.A.G.).
- 13.- Camargo, N. y Velázquez, A.: Desarrollo y producción en
México de la vacuna avianizada para el
control del derriengue. Bol. of Sanit. -
Panam., 43: 251-259 (1957).
- 14.- Correa, P. Allen, R. and Sulkin, S.: The infectivity and
pathogenesis of rabies virus administered
orally. Am. J. Epidemiology., 91, (2); 203-
215 (1970).
- 15.- Corzo, D. Hernández, B.E.: Comparación de la sensibili-
dad de las pruebas de seroneutralización
con diferentes cepas de virus de la rabia.
II. Comparación de la prueba de reducción

de placas utilizando 3 cepas de virus rabí
co adaptado a cultivos celulares. Tec. Pec.
Méx., 32: 69-75 (1977).

- 16.- Fenner, F. Mc. Auslan, B. Mims, C. Sanbrook, J. and White,
D.: The biology of animal viruses.
Second edition. Academic Press. New York -
and London, 1974.
- 17.- Hernández, B. E.: La rabia parasiante bovina, definición -
del problema y metodología de control. - -
Ciencia Veterinaria., Primera edición. - -
U.N.A.M. (1976).
- 18.- Hernández, B. E.: Boletín sobre rabia paralítica. P.I.Z.
P. - I.N.I.P. (S.A.G.) 1976.
- 19.- Hutyra, F. Marek, J. y Manninger, R.: Patología y tera-
peútica especiales. 5a. ed. Labor S.A. Bar-
celona, España 1973.
- 20.- Koprowski, H.: Experimental Studies on Rabies Virus. --
Canad. J. Publ. Hith. 17: 1080 (1957).
- 21.- Mancisidor, A.: El uso de una vacuna autógena en el con-
trol de un brote de derriengue en México.
Tec. Pec. Méx., 5: 27-29 (1965).

- 22.- Morales, R. y Flores, R.: Prevención de la rabia paraf-
tica bovina. Control de la enfermedad. Tec.
Pec. Méx., 29: 81-86 (1975).
- 23.- Pizzi, M.: Sampling Variation of the fifty percent --
end point determined by the Reed and - - -
Muench (Beherens). Hum. Biolo., 22: No. 3,
151-190 (1950).
- 24.- Reed, L. J. and Muench, H.: A simple method of estima--
ting fifty percent end points. Am. Jour.
Hyg., 27: 493-497. (1938).
- 25.- Steel, H. J.: Nuevos conceptos sobre epidemiología y --
control de la rabia.
Memorias primer seminario internacional -
sobre rabia para las americas. B. Aires.
(1967).