

Facultad de Estudios Superiores  
Cuautitlán UNAM



UNAM  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES - CUAUTITLÁN

SECCIÓN DE EXÁMENES  
PROFESIONALES Y DE GRADO

**EVALUACION DEL EFECTO INMUNOESTIMULANTE  
DEL LEVAMISOL EN BECERRAS VACUNADAS CON  
CEPA 19 DE BRUCELA ABORTUS.**

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

**HERIBERTO A. CAMACHO FLORES**

**CUAUTITLAN, EDO. DE MEX.**

**1982**



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.

C O N T E N I D O

	PAG.
I        RESUMEN	1
II       INTRODUCCION	3
III      MATERIAL Y METODOS	10
IV       RESULTADOS	15
V        DISCUSION Y CONCLUSION	20
VI       BIBLIOGRAFIA	21

## R E S U M E N

En base a las diferentes investigaciones sobre el aspecto inmuno estimulante del Levamisol reportado entre otros por Renoux y col. (1973), Kulrni y col. (1973); y Symoens (1974) así como por Brugmans y col. (1973), los cuales mencionan que la acción inmunoesti mulante radica principalmente sobre linfocitos "T" y por las evi- dencias sobre el incremento de los Acs. en algunos animales, Kul karni y col. (1973).

Se consideró el siguiente objetivo de trabajo: conocer el efecto del Levamisol sobre la respuesta inmunológica humoral en becerras vacunadas con cepa 19 y tratadas simultáneamente con Levamisol.

El trabajo se desarrolló en el Estado de Querétaro en un hato de ganado Holstein y en el I.N.I.P., empleándose 56 becerras de 4 a 6 meses de edad, serológicamente negativas a Brucelosis, con la formación de 3 grupos experimentales:

Grupo I.- Compuesto por 20 animales, recibió vacunación con cepa 19 únicamente.

Grupo II.- Compuesto por 23 animales, recibió vacunación con cepa 19 y simultáneamente aplicación del Levamisol.

Grupo III.- No se le aplicó ningún tratamiento (grupo testigo)

**Muestras:**

Todos los animales fueron sangrados al inicio del experimento, así como a los 2, 3 y 4 semanas siguientes postvacunación, los sue ros fueron evaluados serológicamente mediante pruebas de aglutina ción en tubo y aglutinación con Mercaptoetanol en tubo, realizán- dose dilusiones dobles por cada prueba. Es importante mencionar que el antígeno utilizado fue proporcionado por el I.N.I.P. En todas las pruebas se usaron sueros controles negativos y positivos.

**Análisis Estadístico**

Los títulos de anticuerpos fueron transformados logarítmicamente a fin de usar los valores obtenidos para comprobarlos mediante la

prueba T de Student. Además se realizó un análisis de varianza para examinar el efecto del tiempo y comportamiento del grupo.

#### Resultados:

Se observó que el grupo II que recibió vacuna y levamisol, la respuesta humoral fue superior al grupo I en el primer muestreo ( $P < 0.05$ ), cuando se hicieron pruebas de aglutinación en tubo pero no así cuando se evaluaron mediante aglutinación con Mercaptoetanol (M.E.) en tubo. Los niveles de anticuerpos entre grupos fueron similares. El grupo III permaneció siempre negativo.

En base al número de animales utilizados en cada grupo y por la variabilidad encontrada entre éstos, los resultados obtenidos indican un efecto fuertemente inmuoestimulante del Levamisol sobre el ganado vacunado con la cepa 19 de Brucella abortus.

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

Durante los últimos años la Inmunología ha alcanzado un desarrollo sumamente acelerado debido principalmente a los elevados presupuestos destinados a la investigación sobre enfermedades tumorales entre las que podemos citar al Carcinoma Pulmonar y al Carcinoma de la glándula mamaria (10). Entre los principales conocimientos obtenidos a raíz de las investigaciones, se debe mencionar la información referente a problemas de inmunosupresión así como inmunodeficiencias.

Si bien existen numerosos compuestos capaces de producir supresión a la respuesta inmune, por ejemplo el uso de corticosteroides para reducir procesos de Hipersensibilidad, no se cuentan aún en el mercado con compuestos capaces de normalizar la respuesta inmunológica en individuos inmunodeficientes, o de estimularla en individuos normales. En este sentido se han publicado resultados de diferentes experimentos que muestran una importante acción inmunoreguladora por parte del LEVAMISOL (4,5,7, 8 y 9)

Se han publicado evidencias en el sentido de que la administración de levamisol simultáneamente con algún tipo de vacuna dan como resultado una respuesta humoral temprana y un aumento considerable del título de anticuerpos inducidos. Esto se ha observado en humanos vacunados contra influenza así como en hamsters inoculados con el virus de la influenza (18 y 19)

Bittle 1972 (3) observó que la administración del levamisol simultáneamente con la vacuna de Brucella canis en perros causó un ligero incremento en los títulos de anticuerpos, otros autores encontraron resultados contradictorios al emplear el levamisol junto con vacunas contra el Newcastle en aves (12 y 22)

Aspectos Inmunológicos en Brucelosis. La inmunidad contra la infección por Brucella abortus en los animales domésticos tiene algunas características que la diferencian de la respuesta contra otras infecciones bacterianas.

El organismo cuenta con tres sistemas de defensa, que actúan de manera coordinada ayudándose entre ellos para evitar o combatir una infección. Dichos sistemas son: a) Sistemas Inespecíficos, b) Inmunidad Humoral, c) Inmunidad Celular.

a) Sistemas Inespecíficos: Estos comprenden una verdadera serie de barreras anatómo-fisiológicas, bioquímicas y celulares agrupados bajo el rubro de resistencia y que comparten el hecho de ser, inespecíficas y no inducidas, esto es que los sistemas son independientes de la existencia de un previo contacto con el antígeno.

Los sistemas inespecíficos se pueden resumir en:

- I) Barreras Anatómo-fisiológicas.
- II) Barreras Bioquímicas.
- III) Barreras Celulares.

I) Barreras Anatómo-fisiológicas. Las brucelas ganan acceso al huésped principalmente a través de la vía oral y de heridas.

En estos casos, este tipo de mecanismos son poco importantes ya que la vía oral es incapaz de impedir la entrada de las Brucelas, y la piel pierde su defensa mecánica al abatirse su integridad morfológica (como en el caso de una herida)

II) Barreras Bioquímicas. El tracto digestivo tiene una serie de enzimas y sustancias químicas que atacan a los microorganismos. De éstas la más importante es la que realizan el ácido clorhídrico y las sales biliares. Sin embargo, las brucelas son capaces de producir una infección entrando por vía oral.

En los polimorfonucleares de la sangre, se encuentran sustancias como la lisozima y las sustancias oxidantes (peroxidas, ion superoxido y sistemas mieloperoxidasa). Es probable que en el caso de las brucelas, estas sustancias oxidantes sean más importantes que la lisozima ya que ésta actúa preferentemente sobre Gram +. De cualquier manera estas enzimas pueden ser eficaces en combinación con el complemento (23).

Una sustancia química que se puede mencionar en relación a Brucella abortus, es el eritritol, sustancia producida por el aparato genital maduro de vacas. El eritritol estimula el crecimiento de B. abortus, y es parte responsable de que la infección por dicha bacteria se establezca en el aparato reproductor, y que las becerras antes de la pubertad rechacen la infección y queden inmunes (6)

III) Barreras Celulares. La barrera celular más importante es la fagocitosis. La fagocitosis no inmune es medida fundamentalmente por los polimorfonucleares, y en especial los neutrófilos. Los mononucleares (macrófagos y monocitos) también participan pero en menor grado.

b) Sistemas Específicos:

I) Inmunidad Humoral: Las brucelas estimulan una poderosa acción humoral, que se demuestra por los elevados títulos de anticuerpos que se producen. Estos anticuerpos son de las clases IgM e IgG (11)

II) Inmunidad Celular: La habilidad que tienen las brucelas de penetrar en las células, especialmente los polimorfonucleares, las protege tanto de las sustancias bioquímicas inespecíficas como de los anticuerpos. En caso como éste, el cuerpo reacciona desarrollando una defensa en base a la inmunidad celular, dicha defensa está centrada en la actividad de los linfocitos T y de los macrófagos.

La destrucción final de las brucelas es aparentemente llevada a cabo por los macrófagos, en especial (o exclusivamente) por los macrófagos activados, en los que se ha observado un aumento en el contenido de enzimas hidrolíticas (23)

Dicha activación es el resultado de la acción de una linfocina, el SMAF (Factor de activación del macrófago) liberado por las células T efectoras. Estas células producen toda una serie de estas linfocinas, y la inmunidad celular gira alrededor de estas linfocinas.

Características del Levamisol. El Levamisol es un antihelmíntico de amplio espectro empleado para combatir principalmente nemátodos en animales, entre éstos podemos mencionar bovinos, ovinos, cerdos y aves; y es también usado en humanos (12)

El origen del levamisol se remota al descubrimiento del compuesto racémico, el tetramisol, de donde se deriva el proceso de racemización, el cual da lugar a dos isómeros: el dextrogiro y el levógiro. Levamisol corresponde al isómero levógiro. La separación de isómeros y el descubrimiento de la actividad antihelmíntica radica en la porción levógira, ahora conocida como levamisol fue realizado en el año de 1966 en los laboratorios American Cyanamid Company (24)

Algunas características del levamisol son las de presentar una estabilidad, es sólido, con color blanco cristalino, y con peso molecular de 240.75 (12)

a) Características inmunomoduladoras. En el año de 1971, los esposos Renoux y Renoux, presentaron un trabajo a la Academia Nacional de Ciencias en París en el que reportaron por primera vez el efecto inmunoestimulante de un compuesto químico, tetramisol, sintetizado en el laboratorio cuando dicho compuesto químico fue suministrado después de la vacunación contra brucelosis a un grupo de ratones, éstos sobrevivieron en su totalidad cuando dos semanas después fueron desafiados con una cepa letal de brucela (cepa 19) (20).

Estos primeros resultados, despertaron interés en todo el mundo científico y desde entonces se han reportado numerosos trabajos demostrando el efecto inmunomodulador de este compuesto químico tetramisol y más aún sobre el levamisol (12)

En la actualidad hay reportados una considerable cantidad de trabajos científicos y la casi totalidad de éstos ha sido llevado a cabo bajo la estimulación e inspiración inicial de los trabajos de Renoux y Renoux. Las publicaciones abarcan tres campos fundamentales: estudios inmunológicos in vitro, la actividad del levamisol en animales (incluyendo el hombre) susceptibles a tumores y su acción contra enfermedades virales. Es necesario señalar que las investigaciones sobre la actividad del levamisol como inmunomodulador son más numerosas en humanos que en animales (12)

**Modo de Acción.**- El efecto del levamisol como inmunomodulador, es un efecto real. El modo de acción definitivo no es conocido en su totalidad, pero los resultados de los trabajos científicos de mayor seriedad llegan a la conclusión de que el levamisol restaura hacia la normalidad las funciones de los linfocitos T, de los leucocitos polimorfonucleares y de los fagocitos, tanto en el hombre como en los animales. No parece tener acción directa contra los agentes causales de enfermedad sean éstas bacterias ó virus. El levamisol es mucho más efectivo en aquellos hospederos con funciones subnormales de los linfocitos T y de los fagocitos (21)

En varias especies animales se ha observado que el levamisol, es capaz de producir un aumento de los títulos de anticuerpos. El mecanismo de acción para explicar como se produce el aumento de anticuerpos no se encuentra totalmente esclarecido debido a que aparentemente el levamisol no afecta a los linfocitos B derivados de la médula ósea y por lo tanto no tienen un efecto directo sobre los anticuerpos. Es posible que cualquier actividad del levamisol sobre los anticuerpos sea mediante una acción de estimulación indirecta sobre las células T, los polimorfonucleares o mediante la activación de los macrófagos. (31)

Es importante mencionar que el levamisol estimula la síntesis temprana del IgG, además de que el efecto más impresionante como ya se comentó anteriormente, es cuando las células efectoras envueltas en la inmunidad de tipo celular son restauradas a su normalidad (21)

Las funciones efectoras que pueden ser restauradas con levamisol incluyen: Factor migratorio, adherencia, fagocitosis, actividad de peroxidasa, muerte intracelular por polimorfonucleares, monocitos y macrófagos (1)

Las funciones efectoras de linfocitos restaurados con levamisol incluyen: actividad mitogénica a células T, producción de linfocinas (1)

Diversos mecanismos pueden ser responsables para la acción inmunomoduladora del levamisol. La observación de que el levamisol, cerradamente imita la actividad de la hormona tímica Timopoyetina es importante. El levamisol probablemente interactúa con los sitios receptores de la Timopoyetina sobre linfocitos efectores, polimorfonucleares y macrófagos, utilizando su anillo imidasólico y la influencia metabólica celular por una alteración del radio cíclico nucleótido en las células. La hipótesis planteada anteriormente es una de las teorías que muestran la acción potencial del levamisol en su efecto inmunoestimulante, sin embargo, es importante citar que actualmente se están desarrollando más trabajos con el fin de integrar el conocimiento bioquímico funcional del levamisol como inmunoestimulante (22)

Aunque en el momento presente no hay evidencias para sitios receptores comunes al levamisol y Timopoyetina, sus similitudes, propiedades y estructuras soportan esta teoría.

O B J E T I V O

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO CON EL FIN DE:

CONOCER EL EFECTO DEL LEVAMISOL SOBRE LA

RESPUESTA INMUNOLOGICA HUMORAL EN BECERRAS

VACUNADAS CON CEPA 19 Y TRATADAS SIMULTA

NEAMENTE CON LEVAMISOL

## M A T E R I A L Y M E T O D O S

El estudio se llevó a cabo en el Estado de Querétaro, en un hato de ganado Holstein, y en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. Se emplearon 56 becerras de 4 a 6 meses de edad, serológicamente negativas a brucelosis, con éstas se formaron tres grupos que recibieron los tratamientos que se describen a continuación:

GRUPOS	VACUNACION CON CEPA 19	LEVAMISOL INYEC TABLE (7mg/kg)	NO. ANIMALES POR GRUPO
I	SI	NO	20
II	SI	SI	23
III	NO	NO	13

El levamisol\* fue administrado por vía subcutánea, al mismo tiempo de aplicar la vacuna de Brucella abortus cepa 19.

La dosis del antihelmíntico fue individual para cada animal en base a su peso. La dosis de la vacuna fue la recomendada por la Campaña de Control de la brucelosis ( $5 \times 10^{10}$ ).

a) Muestras: Todos los animales fueron sangrados al inicio del experimento, al mismo tiempo que fueron aplicados los tratamientos antes mencionados. El primer muestreo postvacunación se realizó a los 14 días, el segundo a los 21 días y el tercero a los 28 días postvacunación.

La sangre colectada se dejó coagular, se separa el coágulo del suero realizándose un centrifugado a 3000 revoluciones (1200 G) durante 10 minutos para utilizarlo en las pruebas serológicas.

\* El levamisol (Ripercol) fue proporcionado por los laboratorios CYANAMID COMPANY DE MEXICO.

b) Pruebas Serológicas: Los sueros colectados de todos los animales fueron sometidos a pruebas de aglutinación en tubo, y aglutinación con Mercaptoetanol en tubo.

Las pruebas serológicas mencionadas se llevaron a cabo por necesidad y recursos de material y equipo de laboratorio, aunque sabemos que existen otras pruebas como fijaciones de complemento y Elisa.

Se hicieron diluciones dobles para cada prueba (las diluciones que se evaluaron son: 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000, 1:2000 y 1:4000).

#### Descripción de las pruebas serológicas:

Agglutinación en Tubo: En antígeno\* elaborado con la cepa 1119-3 de B. abortus, contiene 4.5% de células por volumen y se usan sin colorante. Debe mantenerse refrigerado y debe diluirse 1:100 en solución salina fisiológica fenolada:

#### 1) Preparación de la solución salina fenolada:

NaCl	25.5gr
Fenol	15ml
Agua destilada c.b.p.	3000 ml

#### 2) Preparación del antígeno en tubo diluido:

Antígeno en tubo concentrado	30ml
Solución salina fenolada	2970ml
Volumen final	3000ml

\* El antígeno empleado es el que se produce en el Lab. de Prod. de Biológicos del INIP.

**Material necesario:**

- 1) Tubos de ensaye de vidrio claro de 13mm x 100mm
- 2) Gradillas según el número de sueros que se prueben
- 3) Pipetas de 0.2ml graduadas en diluciones de 0.01ml ó de Bang
- 4) Jeringa automática o pipeta de 2ml ó más
- 5) Incubadora de 37°C

**Aglutinación en tubo:**

El suero y el antígeno deben estar a temperatura ambiente. Se colocan los tubos de ensaye en hileras de cuatro en las gradillas, marcándose el primer tubo de cada hilera con el número del suero que se va a probar. Con una pipeta de 0.2ml ó de Bang, se depositan las mismas cantidades de suero, que en las de la prueba de placa (.08, .04, .02, .01) dentro del tubo de cada hilera, deslizando la pipeta a lo largo de la superficie interna del tubo.

Posteriormente, con una jeringa automática o una pipeta de 2ml se deposita el antígeno debidamente diluído para obtener diluciones de 1:25, 1:50, 1:100 y 1:200. Para obtener diluciones de 1:250, 1:500, 1:1000, 1:2000; se coloca 1ml de suero en 9ml de solución salina fisiológica, una vez diluído se realiza el procedimiento anterior (se coloca en los tubos de las gradillas, 08, 04 y se le agrega el antígeno en la misma cantidad).

Se agitan suavemente las gradillas en tubos y se incuban a 37°C durante 40 horas.

La lectura de los resultados es como sigue:

La reacción es positiva cuando la mezcla de suero y antígeno es clara y una leve agitación no disgrega los flóculos, es incompleta cuando la mezcla del suero y antígeno es parcialmente clara y una leve agitación disgrega los flóculos.

La reacción es negativa cuando la mezcla de suero y antígeno no muestra claridad y al agitar no se observan flóculos. Existe, en algunos casos, el fenómeno llamado prozona que se presenta por una ausencia de aglutinación en las diluciones más bajas, debido a la presencia de una gran cantidad de anticuerpos que interfieren en la aglutinación, esta prueba es de tipo cuantitativo. (14)

#### Aglutinación en tubo de Mercaptoetanol:

**Antígeno:** Es el mismo que el utilizado en la prueba de tubo, la diferencia es que debe estar diluido 1:50 y la solución diluyente no debe contener fenol. (14)

#### **Material necesario:**

Similar al que se utiliza en la prueba de tubo. Se necesita, además una solución al 0.1 molar/litro de 2-mercaptoetanol. La fórmula de esta solución es la siguiente:

CLORURO DE SODIO	8.5g
2-MERCAPTOETANOL ( $C_2H_6OS$ )	7.14ml
AGUA DESTILADA c.b.p.	1 litro

... No se debe usar fenol para esta prueba

La solución se conserva a 4°C y se prepara una solución nueva cada 2 ó 3 semanas.

Es producto de fabricación extranjera.

#### **Desarrollo de la prueba:**

Se coloca el suero en tubos en la forma y cantidades descrita en la prueba de tubo (0.08, 0.04, 0.02, 0.01ml), se agrega a cada tubo 1ml de solución 0.1M de mercaptoetanol y 1ml de antígeno diluido (1:50). Se agita ligeramente las gradillas con tubos y se incuba a 37°C durante 48 horas. La lectura de las pruebas se hace de la misma forma que la de tubo (14)

Es conveniente comparar los resultados obtenidos en las pruebas de mercaptoetanol y de tubo. La prueba de tubo nos indica la cantidad de aglutininas presentes en el suero, y la prueba de mercaptoetanol nos indica la cantidad de IgG, por lo que la diferencia entre ambos títulos es la proporción de aglutinina IgM presente en la aglutinación, indicándonos de esta manera, la posible infección de los animales muestreados. Esta prueba es de tipo cuantitativo y cualitativo, ya que nos muestra el tipo y cantidad de inmunglobulina en el suero. (2,15,16,17,25)

c) Análisis Estadístico de los resultados: Los títulos de anticuerpos fueron transformados logarítmicamente a fin de usar los valores obtenidos para compararlos mediante la prueba T de Student. Además se realizó un análisis de varianza para examinar el efecto de tiempo y el comportamiento del grupo.

## R E S U L T A D O S

Los resultados de las pruebas de aglutinación en tubo practicados en los sueros de los 3 grupos de animales, se presentan en el cuadro 1. En éste se puede ver que en 8 animales del grupo I, se produjeron anticuerpos a niveles de 1:100 y en 12 más, las reacciones alcanzaron niveles de 1:100 o mayores en los 14 días postvacunación; en contraste con el grupo II que recibió simultáneamente vacunación más levamisol, 6 animales presentaron reacciones con títulos inferiores 1:100 mientras que 17 presentaron títulos de 1:200 los animales del grupo control, permanecieron negativos durante los 3 muestreos. En lo referente a los 21 y 28 días, se observó una ligera reducción en los niveles de anticuerpos, pero aún así, el grupo II presentaba niveles ligeramente superiores; al realizar un análisis estadístico y análisis de varianza, se encontró que la diferencia entre los grupos I y II fue significativa al  $P=0.067$ , teniendo en cuenta el reducido número de animales y la variabilidad asociada a los parámetros inmunológicos, los resultados demuestran una acción inmunoestimulante por parte del levamisol. Estos resultados se presentan en la gráfica I, la cual está expresada en logaritmos, comparando los grupos I y II.

Los resultados de la prueba de aglutinación con mercaptoetanol en tubo, se presentan en el cuadro 2, con esta técnica de identificación de anticuerpos, los títulos alcanzados fueron muy similares y aunque la conversión logarítmica muestra ligeras diferencias, éstas no fueron estadísticamente significativas. La gráfica 2, muestra los promedios logarítmicos de anticuerpos tanto en el grupo I como en grupo II.

## C U A D R O I

## RESULTADOS DE LA PRUEBA DE AGLUTINACION EN TUBO

	M U E S T R E O S ( 1 )								
	Primer muestreo 14 días posvacu- nación. # animales. G r u p o s.			Segundo muestreo 21 días posvacu- nación. # animales. G r u p o s.			Tercer muestreo 28 días posvacu- nación. # animales. G r u p o s.		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Títulos									
Neg. 1/25	4	1	13	3	2	13	7	5	13
I. 1/25	-	1	-	3	1	-	1	-	-
+ 1/25	-	1	-	2	1	-	-	2	-
I. 1/50	1	1	-	1	1	-	4	1	-
+ 1/50	1	1	-	2	3	-	2	3	-
I. 1/100	2	1	-	1	3	-	1	3	-
+ 1/100	-	2	-	2	1	-	1	3	-
I. 1/200	-	2	-	1	-	-	-	1	-
+ 1/200	1	-	-	1	1	-	3	3	-
I. 1/250	1	3	-	-	3	-	-	1	-
+ 1/250	5	1	-	2	5	-	1	1	-
I. 1/500	1	2	-	2	-	-	-	-	-
+ 1/500	1	4	-	-	2	-	-	-	-
I. 1/1000	2	1	-	-	-	-	-	-	-
+ 1/1000	1	1	-	-	-	-	-	-	-
I. 1/2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+ 1/2000	-	1	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	20	23	13	20	23	13	20	23	13
No. ANIMALES									

Grupo I Vacunación (integrado por 20 animales)

Grupo II Vacunación + Levamisol (integrado por 23 animales)

Grupo III Lote testigo (integrado por 13 animales) (sin vacunación sin levamisol)

(1) NOTA: Todos los animales fueron negativos a las pruebas serológicas antes de los tratamientos

## C U A D R O II

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE AGLUTINACION CON MERCAPTOETANOL EN TUBO

Títulos	M U E S T R E O S (1)								
	Primer muestreo 14 días posvacu- nación.			Segundo muestreo 21 días posvacu- nación.			Tercer muestreo 28 días posvacu- nación.		
	# animales. Grupos.			# animales. Grupos.			# animales. Grupos.		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Neg. 1/25	5	3	13	5	5	13	10	12	13
I. 1/25	1	1	-	-	-	-	1	2	-
+ 1/25	2	-	-	3	3	-	-	-	-
I. 1/50	2	3	-	3	6	-	5	-	-
+ 1/50	1	4	-	3	4	-	-	4	-
I. 1/100	1	-	-	2	1	-	2	-	-
+ 1/100	-	2	-	1	2	-	1	1	-
I. 1/200	5	7	-	1	1	-	1	-	-
+ 1/200	1	1	-	1	1	-	-	1	-
I. 1/250	2	-	-	1	-	-	-	-	-
+ 1/250	-	2	-	-	-	-	-	-	-
I. 1/500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+ 1/500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I. 1/1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+ 1/1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	20	23	13	20	23	13	20	23	13
No. ANIMALES									

Grupo I Vacunación (integrado por 20 animales)

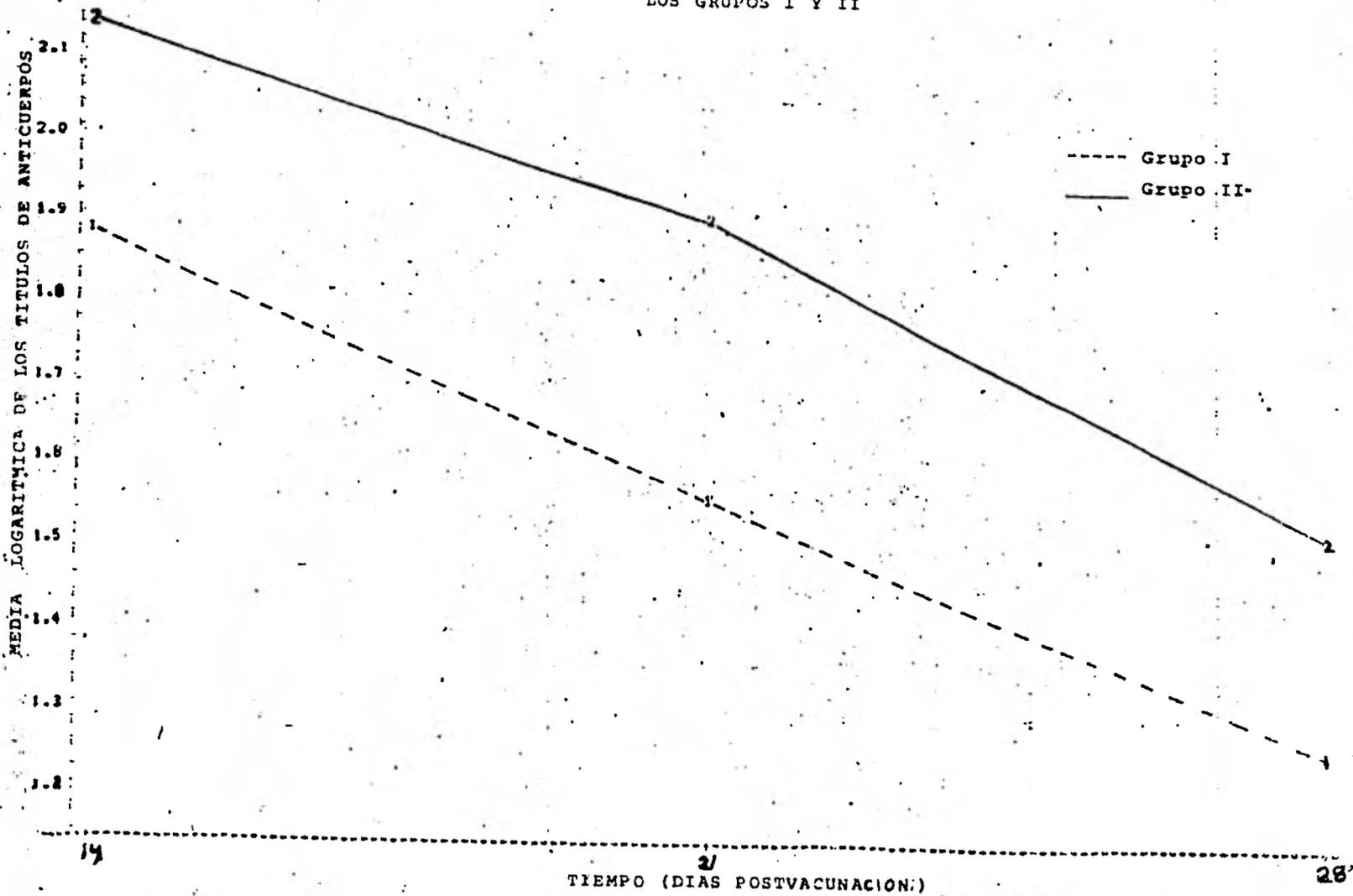
Grupo II Vacunación + Levamisol (integrado por 23 animales)

Grupo III Lote testigo (integrado por 13 animales)

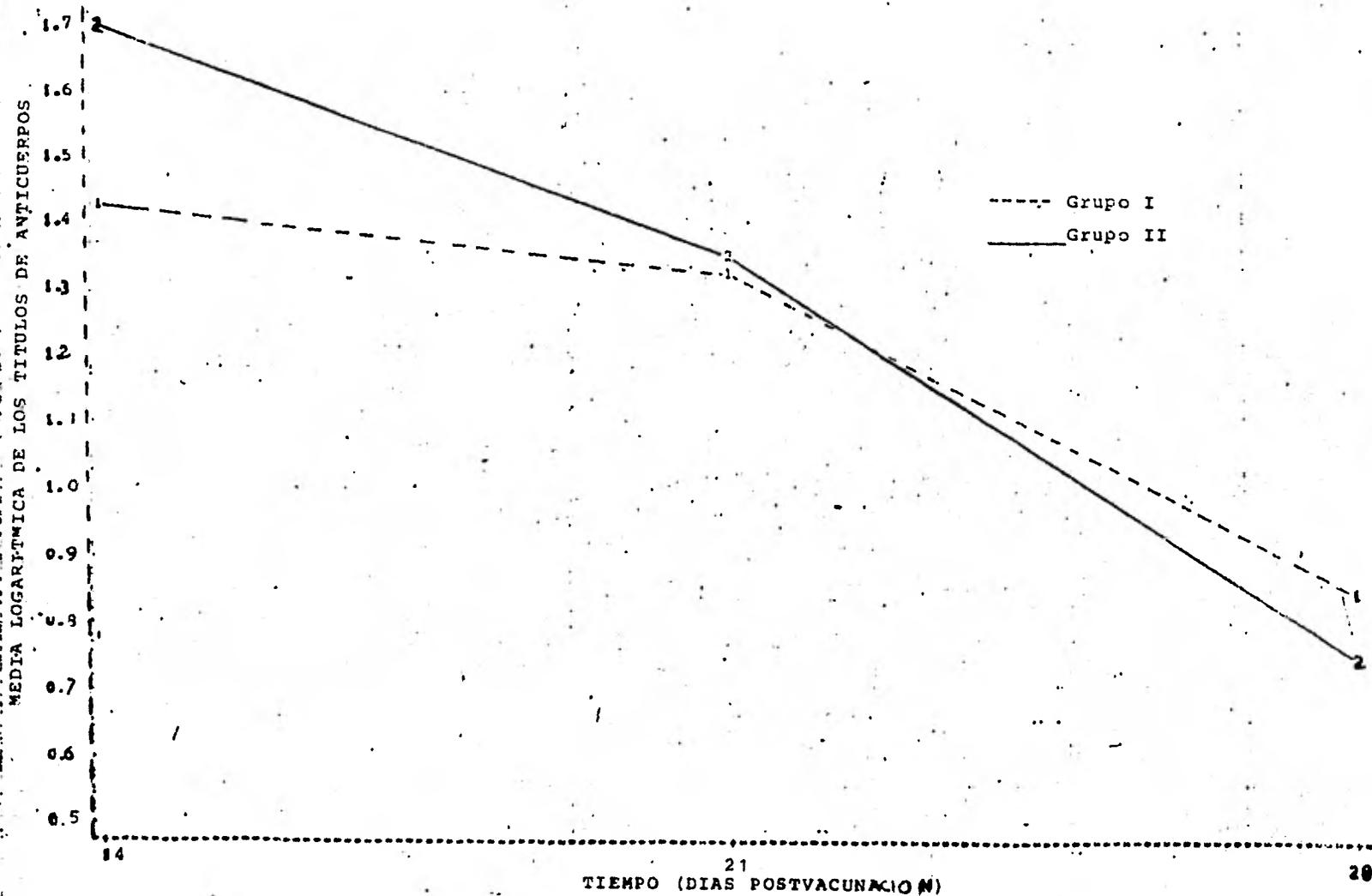
(1) NOTA: Todos los animales fueron negativos a las pruebas serológicas de tarjeta y de placa ó - Huddleson, antes de los tratamientos.

GRAFICA 1

CURVAS DE LA MEDIA LOGARITMICA DE LOS  
TITULOS DE AGLUTINACION EN TUBO ENTRE  
LOS GRUPOS I Y II



CURVAS DE LOS TITULOS DE AGLUTINACION  
EN MERCAPTOETANOL ENTRE LOS GRUPOS I Y II



## DISCUSION Y CONCLUSION

En base a los resultados obtenidos, es evidente que la aplicación simultánea de la vacuna B. abortus cepa 19 en becerras de 4 a 6 meses de edad, induce una respuesta más rápida y con anticuerpos que alcanzan niveles superiores que cuando la vacuna se aplica sin levamisol. Esta diferencia en niveles de anticuerpos, se observa, principalmente, mediante la prueba de aglutinación en tubo siendo menos aparente cuando se aplicó la prueba de aglutinación con mercaptoetanol. En este respecto podría especularse en el sentido de que la acción del levamisol propicia una producción de anticuerpos de la clase IgM, pero que su efecto es muy leve en lo referente a inducir una respuesta de anticuerpos de la clase IgG. Sabemos bien que la prueba de mercaptoetanol identifica fundamentalmente anticuerpos de la clase IgG al ser inactivados los IgM.

Si bien es importante realizar estudios que permitan evaluar la respuesta celular de animales vacunados más levamisol simultáneamente y posteriormente investigar la respuesta de estos animales ante el desafío con cepas patógenas, los resultados obtenidos hasta ahora con este experimento, nos permiten recomendar la práctica simultánea de vacunación contra Brucelosis y desparasitación con levamisol, lo que implica una reducción en el manejo de los animales y una pronta inmunidad.

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

1. AMERY WK: A HYPOTHESIS: THE MECHANISM OF ACTION OF LEVAMISOLE: IMMUNE RESTORATION THROUGH ENHANCED CELL MATURATION, J. RETICULOENDOTHEL SOC. 24:187-193, 1978.
2. ALTON, G.C. JONES, L.M., AND PIETY, D.E. 1975, LABORATORY TECHNIQUES IN BRUCELOSIS 2nd, ed. WORLD HEALTH ORGANIZATION GENEVA
3. BITTLE, J.L., RUBIC, W.J.  
THE EFFECT OF 1-TETRAMISOLE ON THE ANTIBODY TITER OF DOGS GIVEN BRUCELLA CANIS ANTIGEN. UNPUBLISHED DATA, JUNE 1972
4. BRUGMANS, J., DE COCK, W., THIENPONT, D., JANSSEN, P., VERHENGEN, H., VAN NIMMEN, L., LOUWAGIE, A.C. STEVENS  
RESTORATION OF HOST DEFENSE MECHANISMS IN MAN BY LEVAMISOLE LIFE SCIENCES 13., P.14499-1504, 1973.
5. BRUGMANS, J., DE COCK., W., THIENPONT, D., JANSSEN, P., VERHENGEN, H. VAN NIMMEN, L., LOUWAGIE, A.C. STEVENS  
IMMUNOSTIMULATING POTENTIAL OF TETRAMISOLE, ST. BARTOLOMEUS TIJDINGEN NO-2, P. 83-89, 1972.
6. BUXTON, A., FRASER, G. 1977  
ANIMAL MICROBIOLOGY  
VOLUME 1  
BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS
7. CHIRIGOS, M.A. PEARSON, J.W., PRYOR, J.  
AUGMENTATION OF CHEMOTHERAPEUTICALLY INDUCED REMISSION OF A MURINE LEUKEMIA BY CHEMICAL INMUNO-ADJUVANT.  
CANCER RESEARCH 33, P.2615-2618, 1973.
8. CHIRCHILL, W.H. DAVID, J.R.  
LEVAMISOLE AND CELL-MEDIATED INMUNITY (EDITORIAL)  
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 289, P. 375-176, 1973

9. COPELAND, D., STEWART, T. HARRIS, J. (1974)  
EFFECT OF LEVAMISOLE (NSC-177023) ON IN VITRO HUMAN  
LYMPHOCYTE TRANSFORMATION.  
CANCER CHEMOTHER REP. 58:167-170
10. GARGALLO J. 1981 LAS PERSPECTIVAS DEL LEVAMISOL COMO IMMUNOESTIMULANTE, X REUNION ANUAL DE SANIDAD ANIMAL, MEXICO D.F.
11. GIBBONS, W.J., CATCOTT, E.J., SMITHCORS, J.F. 1970  
BOVINE MEDICINE AND SURGERY  
AMERICAN VETERINARY PUBLICATIONS, INC.
12. JANSSEN PA : THE LEVAMISOLE STORY. PROG.DRUG.RES.20:347-383, 1976.
13. KULRNI, V.B., MULBACAL, A.N., PARANJAPE, V.L. KHOT, J.B., MANDA, A.V.  
IMMUNOSTIMULANTING EFFECT OF TETRAMISOLE ON ANTIBODY FORMATION AGAINST NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN CHICKS.  
INDIAN VETERINARY JOURNAL 50 (3), P. 225-227, 1973
14. MANCERA A., TORRES G., 1981. MEMORIAS DEL CURSO DE INMUNOLOGIA. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES PECUARIAS, MEXICO, D.F.
15. MORGAN, W.V. B. 1967, THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF BOVINE BRUCELOSIS, VET. REC., 80, 612.
16. MORGAN, W.V.B. 1970, REVIEWENS OF THE PROGRESS OF DAIRY SCIENCES. E. DISEASES OF DAIRY CATTLE; BRUCELOSIS J. DAIRY RES., 37, 303.
17. OLITZKI, A., IMMUNOLOGICAL METHODS IN BRUCELOSIS RESEARCH II., IN VIVO PROCEDURES, IN BIBLIOTECA MEDICA VOL. 9 S. KARGER, BASEL, 1970.

18. POTTER, C.W., CARR, I., JENNINGS, R., REES, R.C., MCGINTY P. RICHARDSON, V.M.  
LEVAMISOLE INACTIVE IN TREATMENT OF FOUR ANIMALS TUMOUR S.  
NATURE 249, P. 567-569, 1974.
19. RENOUX, G. RENOUX, M., MORAD, PH., DARTIGUES, P.  
ACTION IMMUNOESTIMULANTE DU LEVAMISOLE SUR LES PERSONNES  
AGEES. REVUE MEDICALE DE TEURS 7, P. 797, 1973.
20. RENOUX G., RENOUX M: EFFECT IMMUNOSTIMULANT D" UN IMIDO-  
THIAZOLE DANS L" IMMUNISATION DES SOURIS CONTRE L' INFECTION  
PAR BRUCELLA ABORTUS. C. ACAD. SCI PARIS SERIES D 272:  
349-350, 1971.
21. SYMOENS J, ROSENTHAL M: LEVAMISOLE IN THE MODULATION OF  
THE IMMUNO RESPONSE: THE CURRENT EXPERIMENTAL AND CLINICAL  
STATE. J. RETICULOENDOTHEL SOC 21:175-221, 1977.
22. SYMOENS, J. 1974 THE EFFECT OF LEVAMISOLE ON HOST DEFENSE  
MECHANISM. PROCEEDINGS OF THE LEVAMISOLE MEETING HELD AT  
THE NATIONAL CANCER INSTITUTE IN BETHESDA, DECEMBER 1974
23. TIZARD, I.R. 1977  
AN INTRODUCTION TO VETERINARY IMMUNOLOGY  
W.B. SAUNDERS COMPANY
24. THIENPONT D, VAMPARISIS OF , RAEYMAEKCRS.  
AHM ETAL: TETRAMISOLE (R 829 a) A NEW POTENT BROAD SPEC-  
TRUM ANTIHELMINTIC. NATURE 209: 1084-1086, 1966
25. VOINT FAO/WHO, EXPERT COMMITTEE ON BRUCELOSIS, FIFTH REPORT  
WHO TECH. REP. SERV., 464, 1970.