

42  
28j



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY EN SUEROS COMERCIALES CONTRA EL COLERA PORCINO

## T E S I S

Que para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

presenta

**JULIETA SANDRA CUEVAS ROMERO**



Asesores: M.V.Z. Alberto Stephano Hornado  
M.V.Z. José Morales Ruiz

México, D. F.

1987



## **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 está 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.....	a
Introduccion.....	1
1.- Antecedentes.....	1
2.- Caracteristicas de la Enfermedad.....	4
3.- Diagnostico.....	5
Materiales y Metodos.....	10
Resultados.....	13
Discusion.....	18
Cuadros.	
No. 1 Distribucion de la PR en la Republica Mexicana.	8
No. 2 Diseminacion del virus.....	9
No. 3 Titulo de anticuerpos Laboratorio "A".....	14
No. 4 Titulo de anticuerpos Laboratorio "B".....	16
Figuras.	
No. 1 Distribucion Geografica del PRV.....	7
No. 2 Grafica de titulos: Laboratorio "A".....	15
No. 3 Grafica de titulos: Laboratorio "B".....	17
Bibliografia.....	20

## RESUMEN

**CUEVAS ROMERO JULIETA SANDRA.** "Determinación de anticuerpos contra el virus de Pseudorrabia en sueros comerciales contra Cólera porcino (Alberto Stephano Hornedo y José Morales Ruiz).

La Pseudorrabia en México se confirmó en 1970, de entonces a la fecha su importancia económica ha variado considerablemente. Los estudios seroepidemiológicos realizados de 1982 a 1985, mostraron un porcentaje importante de cerdos positivos a Pseudorrabia clínicamente sanos. Dadas las características de difusión y persistencia del virus en hatos, se esperaría que esta enfermedad causara brotes drásticos y frecuentes en el país; sin embargo, hasta principios de 1985 no sucedió así, a pesar de las inadecuadas medidas de control utilizadas, lo que sugiere que en México han existido mecanismos que de alguna manera limitan la difusión o tal vez atenuan la presentación de la enfermedad.

En áreas porcícolas libres y enzoóticas de Pseudorrabia, se aplica en forma extensiva suero hiperinmune contra Cólera porcino con finalidad profiláctica o terapéutica para cualquier enfermedad del sistema nervioso central considerada como "cólera".

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la Pseudorrabia en sueros comerciales contra el Cólera porcino.

Se trabajaron 40 muestras de sueros de dos laboratorios

productores de biológicos: del "A" se evaluaron 7 diferentes lotes y del "B" con 5 diferentes lotes, todos fueron producidos en 1985 y 1986. La determinación de anticuerpos se realizó por la técnica de seroneutralización en ratón descrita por la O.M.S. en 1976.

Se observó que el 100% de los sueros presentaron anticuerpos contra el virus de la Pseudorrabia. Los títulos de anticuerpos oscilaron en el laboratorio "A" de 1:25 hasta 1:625 y en el laboratorio "B" de 1:5 hasta 1:141.

## INTRODUCCION

### 1.- Antecedentes.

La Pseudorrabia (PR) también conocida como enfermedad de Aujeszky, Comezón loca (mad itch) o Parálisis bulbar infecciosa, es una enfermedad de cerdos y otros animales domésticos así como silvestres con alta morbilidad y mortalidad. Fue descrita por primera vez por el Dr. Aladar Aujeszky en Hungría en 1902 quien logró reproducirla en conejos, mediante la inoculación de material biológico obtenido de médulas de un bovino y un canino muertos por dicha enfermedad. En 1910, Shmeidhoffer demostró que el agente causal era un virus, el cual por sus características básicas se clasificó dentro del grupo de los Herpesvirus (2,11,13,26,28).

En agosto de 1930, Shope aisló el virus del cerebro de un bovino que murió de esta enfermedad. En 1935, señaló la intervención de las ratas en la epizootiología de la PR, sin embargo, estudios posteriores demostraron que las ratas infectadas no eliminan el virus, pero estas incluyendo animales silvestres, pueden viajar determinada distancia antes de morir, contribuyendo así con la difusión geográfica del virus cuando son consumidos por otros animales (10,27,28,32).

La PR se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, presentándose en Europa, Asia, Africa y América (21). En México fué reportada en el año de 1945, por el Dr. Bachtold, en bovinos de los estados de Aguascalientes y Guanajuato. Desde entonces no se describieron casos clínicos, sino hasta 1971, al presentarse un brote en bovinos del estado de Guerrero, que estuvieron en contacto con un lote de cerdos importados de E.U.A., en ese año el

virus fué aislado e identificado, quedando confirmada la presencia de la Pseudorrabia en México (11).

En el año de 1973, se notificó un brote de Pseudorrabia en cerdos de una granja del estado de Jalisco, donde ocasionó una mortalidad del 90 % en lechones y se extendió a granjas vecinas en un área de aproximadamente 20 Km, provocando la muerte de 3500 lechones. También se presentaron seis casos en el estado de michoacán (4, 21, 29).

En 1974, la PR pierde impulso reportándose unicamente tres brotes en el Edo. de Jalisco. Sin embargo en 1975, adquirió nueva fuerza y se presenta en el D.F., Guanajuato (poblaciones de Uriangato, Jaral del Progreso, Salvatierra, Celaya, Valle de Santiago, León, Irapuato, Moreleón, Salamanca, Cortázar, Abasolo y Pénjamo), en el estado de Hidalgo, estado de Jalisco (poblaciones de Guadalajara, Degollado y Lagos de Moreno), y en el estado de Michoacán (poblaciones de Huandacareo, La Piedad, Puruandiro, Tarimoro y Cuitzeo fueron los estados mas afectados (4,21,28,29). Desde entonces se estableció la PR en los estados de Guanajuato, Jalisco y Michoacán, reportandose brotes durante el año de 1976, año en el cual también se presenta en el estado de México (Jilotepec y Tecamac) con pérdidas mínimas (1,4,21).

Para 1977 y 1979, se extendió a los estados de Aguascalientes (Pabellón de Arteaga) y estado de México (Coacalco y Chalco); ocasionando pérdidas considerables en San Luis Potosí y en Juchitán Oax. (1,4,21).

En 1978 y 1979, se forma una clara zona enzootica en el bajo y centro de la República Mexicana (4,12,21).

En 1980, se presentó un brote en el Estado de Nuevo León y fue reportada nuevamente en el estado de México (12,16).

En 1981 y 1982 se diagnosticó en Guanajuato, Jalisco, Guerrero, Hidalgo, México y Michoacán (25).

Mercado et al., realizaron un estudio serológico en 1982, para conocer la distribución de los cerdos con anticuerpos contra el virus de la Pseudorrabia (PRV), demostrando que el estado de Michoacán tuvo un 75.68% de sueros positivos y el 100% de granjas infectadas; siendo éste el estado más afectado; después el estado de Guanajuato y finalmente el estado de Jalisco. También se muestrearon cerdos de los estados de Puebla, Querétaro, Sinaloa, Sonora y Veracruz obteniendo resultados negativos (16). Solorzano et al., en el periodo comprendido entre 1982 y 1984, continuaron con el estudio serológico para determinar la prevalencia de sueros positivos al PRV en el país, obteniendo los siguientes resultados:

	GRANJAS POSITIVAS		SUEROS POSITIVOS	
	%		#	%
Michoacán	28.5		176/377	46.6
Guanajuato	57.1		113/272	41.6
Querétaro	36.3		44/120	25.9
Jalisco	34.3		117/724	16.2
Campeche	20.0		16/202	9.3
Quintana Roo	42.8		32/79	40.5
Yucatan	100.0		51/469	35.2
Nayarit	10.6		2/56	3.6
Aguascalientes	--		2/13	15.3
Edo. de México	25.0		15/54	27.7
Colima	100.0		5/64	7.8
Zacatecas	--		6/17	35.2

Los estados que resultaron negativos fueron: Tabasco, Sonora, Coahuila, Hidalgo, Puebla, Sinaloa y Veracruz (25).

En 1985, se diagnosticaron brotes en el Edo. de México (Xalostoc, Sn. Pedro el Alto) en el D.F. (Sta. Catarina), Guanajuato, Michoacán, Jalisco y Puebla (Tehuacán, Tecamachalco).

A fines de 1984 y en 1985, el número de brotes reportados por la dirección General de Sanidad Animal (DGSA) fue de 18, esta cifra se incrementó durante el primer semestre de 1986, al reportarse 22 brotes de Pseudorrabia. Sin embargo a juzgar por los médicos Veterinarios de campo, el número de brotes es mayor.

Hasta 1986, la DGSA reporta los estados de la república que se encuentran mas afectados por la enfermedad (Cuadro No. 1). Sin embargo esta distribución geográfica del virus se ha realizado por serología, mientras que en otros estados se ha confirmado el aislamiento, (17, 25).

## 2. Características de la enfermedad.

La pseudorrabi afecta a diferentes especies animales. En cerdos generalmente se presentan signos de encefalitis, sin embargo, los signos dependen de la edad del animal infectado, pudiendo ser mortal en lechones y/o subclínica en animales adultos. Dado que el virus es inmunosupresor y algunas cepas tienen afinidad por vías respiratorias, es frecuente la presencia de signos respiratorios. En otras especies se caracteriza por prurito, incoordinación, sialorrea, automutilación, temblor, postración y muerte (10, 27, 28, 26).

La diseminación entre los cerdos se lleva a cabo, por contacto

con secreciones nasal y oral de animales infectados, actuando éstos como portadores permanentes del virus. También es importante fuente de infección, la ingestión o inhalación de material infectado, ya que se ha encontrado la presencia del virus en heno, madera, alimento y se ha reportado el aislamiento del virus en heces, orina, leche y semen. En ruminantes y carnívoros, la diseminación del virus se esquematiza en el cuadro No. 2 (5, 7, 10, 14).

La importancia de la pseudorrabia, radica en las considerables pérdidas económicas que ocasiona. En lechones de 1 a 2 semanas de edad causa mortalidad hasta del 100 %, en animales destetados del 5 a 10 % de mortalidad y aquellos que se recuperan presentan disminución en su crecimiento y la posibilidad de permanecer como focos latentes de infección, lo mismo sucede en animales adultos. En cerdas gestantes los efectos son más drásticos, observándose abortos, reabsorción embrionaria, fetos momificados, lechones débiles al nacimiento con temblores y muerte de toda la camada de 1 a 2 días después de nacidos, en algunas cerdas gestantes produce agalactia (5, 7, 10, 18).

### 3. Diagnóstico

La PR tiene características clínico-patológicas similares a las observadas en otras enfermedades de los cerdos que cursan con encefalitis y falla reproductiva. Los hallazgos a la necropsia son poco significativos, por lo que se deben realizar pruebas de laboratorio tales como inmunofluorescencia, aislamiento del virus

conejo o en cultivos celulares; pruebas serológicas para la  
detección de anticuerpos contra el PRV. Estas últimas permiten la  
confirmación en animales portadores sanos, así como la  
evaluación seroepidemiológica de la granja; dentro de éstas  
se incluyen: seroneutralización en cultivo celular o en ratones (3,  
4); inmunoelectroforesis (10); inmunodifusión en gel de agar (8,  
9); hemaglutinación indirecta (9) y prueba de ELISA (20) entre  
otras.

**DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA ENFERMEDAD DE AUJESKY  
EN PORCINOS.**



( 17, 25 )

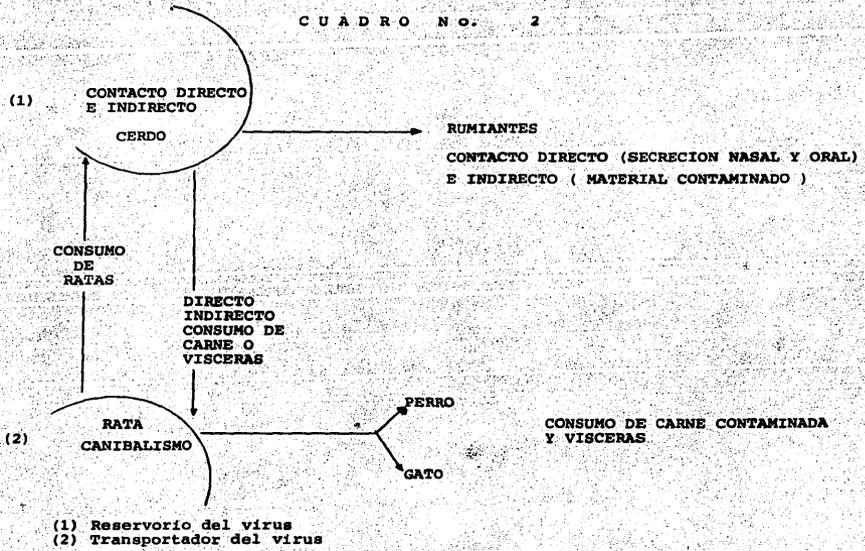
CUADRO 1

DISTRIBUCION DE LA PSEUDORRABIA EN LA REPUBLICA MEXICANA

AÑO	ESTADO
1942	AGUASCALIENTES Y LEON. GTO.
1970	GUERRERO
1973	JALISCO, MICHOACAN
1974	JALISCO
1975	D.F., GUANAJUATO, HIDALGO, JALISCO, MICHOACAN
1976	EDO. de MEX., GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN
1977	AGUASCALIENTES, EDO. de MEX., SAN LUIS
1978	POTOSI, GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN, CAMACA
1978	AGUASCALIENTES, GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN EDO. de MEXICO.
1979	EDO. de MEXICO, GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN, QUERETARO, QUINTANA ROO.
1980	GUANAJUATO, JALISCO, NUEVO LEON, MICHOACAN
1981	GUANAJUATO, GUERRERO, HIDALGO, MICHOACAN
1982	EDO. de MEXICO, GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN
1985	D.F., EDO de MEXICO, GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN, PUEBLA
1986	D.F., EDO. de MEXICO, GUANAJUATO, JALISCO, MICHOACAN

Fuente: Dirección General de Sanidad Animal.

CUADRO NO. 2



( 5 , 7 , 10 , 14 )

## MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 80 muestras de suero hiperinmune contra cólera porcino procedente de dos laboratorios productores: 40 muestras de cada uno; del laboratorio "A" se evaluaron 7 lotes y del "B" 5 lotes diferentes, producidos en 1985 y 1986.

La determinación de anticuerpos se realizó por la técnica de seroneutralización (SN) en ratón, descrita por la O.M.S. en 1976, para anticuerpos antirrábicos estandarizada para la Pseudorrabia, como se describe a continuación (3):

-Preparación y titulación del virus de pseudorrabia cepa Shope (National Animal Disease Center, US Department of Agriculture, Ames, Iowa 50010).

La propagación del virus se realizó en línea celular PK15 cultivada "in vitro" en botellas de Roux, cuando se formó el 100% de monoestrato, se infectó cada botella con 100 ml de la dilución del virus stock conteniendo de 100 a 1000 DICT 50% por ml. El inóculo se absorbió durante 60 minutos a 37 C. Posteriormente se desechó el sobrenadante y se agregaron 30 ml de MEM (medio mínimo esencial) con 5 % de suero fetal bovino y se conservó a 37 C hasat la observación del efecto citopático (ECP). Cuando del 75 al 95 % del monoestrato presentó ECP, se congeló y descongeló tres veces las botellas que contenían los cultivos, para romper el mayor número de células y permitir la liberación del virus, inmediatamente se centrifugó a 3000 rpm durante 20 min, se colectó el sobrenadante y se almacenó en viales a 1 ml a -70 C para su utilización.

Para la determinación de la dosis de infección del virus, se

tituló en ratones de 21 días, el cálculo se realizó por el método de Reed and Munch, para obtener de 100 a 300 DL 50% en 0.03 ml (6).

-Preparación del suero. Se realizaron diluciones seriadas de cada uno de los sueros problema a partir de la dilución 1:5, 1:25, 1:125 y 1:625. Se utilizó un suero control positivo y un negativo con título conocido por la técnica de seroneutralización en placa, para referencia de la prueba utilizada.

Posteriormente se realizó la mezcla suero virus, agregando a cada tubo con las diluciones de los sueros problema 0.08 ml de la dilución del virus stock, se incubaron en baño maria a 37 C durante 60 minutos, y se colocaron en un recipiente con hielo para la inoculación en ratón.

También se realizaron diluciones decimales a partir de la dilución del virus, utilizada para la infección de los sueros ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ ), se incubaron al mismo tiempo que los sueros problema a 37 C y otra serie de las diluciones del virus a 4 C durante 60 minutos, esto con la finalidad de confirmar la dosis de infección del virus.

- Inoculación de ratones. Se formaron lotes de 6 ratones de 21 días de edad y se inocularon por vía intracerebral con 0.03 ml de cada dilución de los sueros problema, así como los sueros controles y de las diluciones del virus; los distintos grupos de ratones se colocaron en jaulas identificadas, permaneciendo en observación cada 24 horas durante 15 días.

- Interpretación de resultados. Se realizó en relación a la cantidad de animales muertos a partir del segundo día posinoculación de cada una de las diluciones de los sueros

problema. El cálculo del título de anticuerpos se determinó por la técnica descrita por Atanasiu, O.M.S. de 1976 (3).

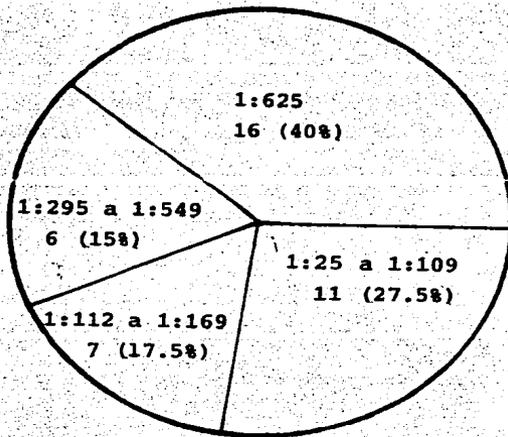
## RESULTADOS

En el 100% de las muestras trabajadas (40 sueros) del laboratorio "A" se observaron títulos de anticuerpos contra el PRV que oscilaron desde 1:25 a 1:625 (Cuadro 3), predominando los títulos de 1:625 en el 40% de la muestra (Fig. 2).

En el 100% de las muestras del laboratorio "B" (40 sueros), presentaron también anticuerpos contra el PRV, los títulos observados variaron desde 1:5 hasta 1:141 (Cuadro 4), predominando los títulos de 1:20 a 1:44 en el 37.5% de las muestras (Fig. 3).



FIGURA N° 2  
TITULO DE ANTICUERPO CONTRA EL  
PRV EN 40 SUEROS DEL  
LABORATORIO "A"  
(AGRUPACION PORCENTUAL)

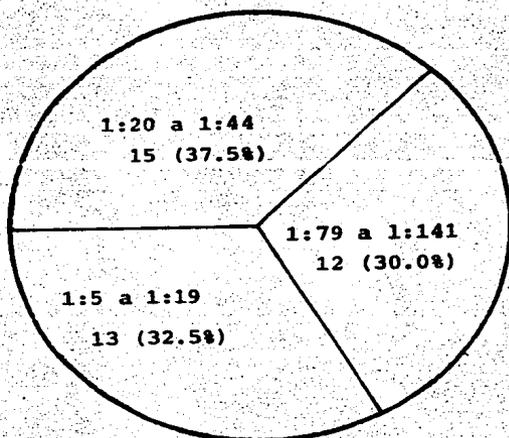


**CUADRO 4**

**RESULTADOS DE LA TITULACION DE ANTICUERPOS CONTRA EL PRV EN SUEROS  
ANTICOLERICOS DEL LABORATORIO "B"**

<b>No. de lote</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Titulo</b>	<b>1:5</b>	<b>1:11</b>	<b>1:5</b>	<b>1:11</b>	<b>1:15</b>
	<b>1:6</b>	<b>1:12</b>	<b>1:5</b>	<b>1:11</b>	<b>1:15</b>
	<b>1:20</b>	<b>1:12</b>	<b>1:79</b>	<b>1:19</b>	<b>1:25</b>
	<b>1:20</b>	<b>1:19</b>	<b>1:79</b>	<b>1:100</b>	<b>1:25</b>
	<b>1:20</b>		<b>1:104</b>	<b>1:141</b>	<b>1:25</b>
	<b>1:20</b>				<b>1:25</b>
	<b>1:33</b>				<b>1:25</b>
	<b>1:44</b>				<b>1:25</b>
	<b>1:79</b>				<b>1:28</b>
	<b>1:79</b>				<b>1:30</b>
	<b>1:20</b>				<b>1:79</b>
					<b>1:79</b>
					<b>1:79</b>
					<b>1:79</b>
<b>No de sueros</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>15 (40)</b>
<b>% positivos</b>					<b>100% (+)</b>

FIGURA N° 3  
TITULO DE ANTICUERPO CONTRA EL  
PRV EN 40 SUEROS DEL  
LABORATORIO "B"  
(AGRUPACION PORCENTUAL)



## DISCUSION

Los resultados obtenidos indican que los sueros comerciales utilizados para el tratamiento y control del Cólera porcino, tienen anticuerpos contra el PRV. El 87.5% de los sueros del laboratorio "A" y el 32.5 % de los sueros del laboratorio "B" contienen títulos de anticuerpos mayores de 1:40, lo que sugiere que los cerdos a partir de los que se elaboraron los sueros anticoléricos, provienen de zonas endémicas de pseudorrabia, así mismo los títulos mayores o iguales a 1: 128 indican infección viral (15, 19).

Mireles (1985), señala que las vacunas de virus muerto utilizadas en México, producen anticuerpos neutralizantes que oscilan de 1:10 a 1:40; por lo que en caso de haber sido vacunados (situación no deseable para cerdos utilizados para la producción de sueros hiperinmunes específicos) los títulos no deberían ser mayores de los indicados.

En 1985 se redujo la producción y utilización de suero anticolérico en el país, debido en parte a restricciones de las autoridades sanitarias en cuanto a la utilización de vacuna con suero y mayor control en la calidad de los sueros, realizándose iniciativas para la suspensión de la producción de este producto. También se observó un descenso considerable del número de casos de cólera porcino a partir de 1983 (23), disminuyendo la demanda del producto. Estos hechos aparentemente favorecieron el incremento en el número de casos clínicos de pseudorrabia.

Por lo que respecta a la técnica de seroneutralización en ratón utilizada, mostró efectividad en las 80 muestra de suero, ya que

los controles positivo y negativo presentaron idénticos resultados en el proceso.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alcay, O.J.: Continuación de los Estudios Epizootológicos de la Enfermedad de Aujeszky. Tesis Profesional. F.M.V. y Z., UNAM (1978).
- 2.- Andrews, P.: Viruses of vertebrates. Ed. Tindall. London. (1972).
- 3.- Atanasiu, P.: Titulación y prueba de potencia del suero y la inmunoglobulina antirrábicos. Organización Mundial de la Salud, México (1976).
- 4.- Balderas, D.E.: Frecuencia y Distribución de la Enfermedad de Aujeszky (en cerdos) en la República Mexicana en 1973 a 1978. Tesis Profesional. F.M.V. y Z., UNAM (1979).
- 5.- Blood and Henderson: Medicina Veterinaria. Edición Nueva Editorial Interamericana. México (1976).
- 6.- Cunningham, C.H.: Virología Práctica. Editorial Acribia. Zaragoza, España (1971).
- 7.- Gustafson, D.P.: Disease of Swine. Ed. H.W. Dunne; Lemay, A.D.; Glock, W.L.; Mengeling, R.H.C.; Peny, E.; School, B.S. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A. (1986).
- 8.- Gutekunst, D.E.; Pirtle, E.C.; Mengeling, W.L.: Development and Evaluation of a microimmunodiffusion test for detection of antibodies to Pseudorabies virus in swine serum. Am. J. Vet. Res. 39 (2): 207-210 (1978).
- 9.- Keitith, H.; Gustafson, D.P. and Kanitz, C.L.: Indirect

Hemagglutination test for Pseudorabies antibody detection in swine. J. of Clinical Microbiology 11 (3): 217-219 (1980).

10.- Martell, D.M.: Diagnóstico de las Enfermedades del Cerdo. Ed. Necoechea, R.R. y Pijoan, A.C. México (1982).

11.- Martell, D.M.; Alcocer, B.; Cerón, M.; Lozano, S.; Del Valle, P.; Auró, A.: Aislamiento y caracterización del virus de la enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia en México. Rec. Pec. Mex. 18: 27-31 (1971).

12.- Martínez, S.V.M.: Estudio comparativo de la sensibilidad de dos pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky en cerdos. Tesis Profesional E.M.V. y Z. FES-Cuautitlán, UNAM. México (1980).

13.- Mattheus, R.E.F.: Clasification and Nomenclature of Viruses. Intervirology. 17 (1-3), 49 (1982).

14.- Mc. Ferran, J.B. and Dow, C.: The distribution of the virus of Aujeszky's disease (Pseudorabies virus) in experimentally infected swine. Am. J. Vet. Res. 26 (112): 631-635 (1965).

15.- Medina, G.L. y Correa, G.P.: Presencia de Anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky en sueros de cerdos de diferente procedencia. Rec. Pec. Mex. 32: 93-96 (1977).

16.- Mercado, S.S.; Rosales, O.J.; Martell, D.M.: Avances de los resultados serológicos de la enfermedad de Aujeszky en México. Reunión de Investigación Pecuaria en México (1982).

- 17.- Mercado, S.S.; Solorzano, R.F.; Avila, R.G.: Avances en el estudio epizootológico de la enfermedad de Aujeszky en México. Reunión de Investigación Pecuaria en México (1985).
- 18.- Merchant, I.A. and Packer: Veterinary Bacteriology and Virology. Iowa State University Press, U.S.A. (1967).
- 19.- Mireles, V.: Vacunas y Vacunación. Simposio Sobre el Análisis y Perspectivas de la Enfermedad de Aujeszky (1984).
- 20.- Moenning, V.; Woldesenbet, D.; Frey, H.R.; Liess, B.; Dopatka, H.D. and Behrens, F.: Comparative evaluation of ELISA and Neutralization test for diagnosis of Aujeszky's disease. Wittmann, S.A. (Eds.), Aujeszky's Disease. ECSC, EEC, EAEC, Brussels-Luxembourg, (1982).
- 21.- Nieto, L.A.B.: Revisión Bibliográfica de la Enfermedad de Aujeszky en Cerdos (1960-1979). Tesis Profesional. E.M.V. y Z., UNAM, México (1981).
- 22.- Pfeiffer, N.E. and Schipper, I.A.: Evaluation of Pseudorabies viral antigens in the agar gel immunodiffusion test. Am. J. Vet. Res. 40 (4); 595-598 (1979).
- 23.- Rodriguez, H.G.: Reporte de la Dirección General de Sanidad Animal, México (1985).
- 24.- Shope, R.E.: Disease of Swine. Ed. H.W. Dunne. The Iowa State University Press. Ames Iowa, U.S.A. (1986).
- 25.- Solorzano, B.S.; Mercado, S.S.: Pruebas serológicas

disponibles y resultados de encuesta hecha en México. Epizootiología de Pseudorrabia (Enfermedad de Aujeszky). Simposio sobre el análisis y perspectivas de la Enfermedad de Aujeszky. (1984).

26.- Stephano, H.A.: Enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia. Porcivama, 9 (100): 61-75 (1984).

27.- Stewart, W.C.; Corbreg, E.A.; Kresse, L.J.; Snyder, R.A.: Infections of swine with Pseudorabies virus and enteroviruses, laboratory confirmation clinical and epizootilologic features. J.A.V.M.A., 165 (5): 440-442 (1974).

28.- Udall, D.H.: Práctica de la Clínica Veterinaria. Saivat Editores, Barcelona, Buenos Aires (1959).

29.- Ugalde, V.E.: Características Generales de un Brote de la Enfermedad de Aujeszky en Cerdos. Tesis Profesional. F.M.V. y Z., UNAM, México (1981).

30.- Urbanech, D.: Use of Immunofluocense diagnose Virus born swine disease. Monotsh Veterinare Med., 26 (14): 550-554, (1971).

31.- West, G.; Rosales, C. y Ruppner, R.: Evaluación de un antígeno intradérmico para el diagnóstico de la Pseudorrabia (EA) en cerdos naturalmente infectados. Reunión de Investigación Pecuaria en México (1979).

32.- Wilson, M.R. and Lee, J.: Review of Pseudorabies (Aujeszky's Disease) in Pigs. Can. Vet. J., 20: 65-69 (1978).