

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**RESPUESTA INFLAMATORIA EN BOVINOS A LA
INOCULACION INTRADERMICA DE ANTIGENO
INACTIVADO, PREPARADO CON VIRUS DE LA
RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR).**

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

JOSE ALVARO AGUILAR SETIEN

A S E S O R E S

M. V. Z., M. PHIL ARMANDO URUCHURTU

M. V. Z., M. A., PABLO CORREA GIRON

M. V. Z., M. S. PH. D. JOSE MANUEL BERRUECOS

México, D. F.

1976



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.

A MIS PADRES

Con profundo Agradecimiento.

A INES

Con Cariño.

Agradezco a los Doctores Armando Uruchurtu y José Manuel Berruecos
catedráticos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, -
su valiosa ayuda en la elaboración de este trabajo.

Mi Agradecimiento, al Doctor Pablo Correa G, Jefe del Departamento
de Virología del Instituto Nacional de Investigaciones pecuarias -
por su orientación apoyo y facilidades que me dio para la realiza-
ción de este trabajo.

Mi reconocimiento a la Señorita Ines Pierlé a su entusiasmo y cola-
boración.

C O N T E N I D O

INTRODUCCION

MATERIALES Y METODOS

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

INTRODUCCION

Cuando se presenta un brote de abortos en ganado bovino o un síndrome respiratorio, hay cierta dificultad al realizar un diagnóstico rápido. Esto se debe a que generalmente se tienen que remitir al laboratorio de diagnóstico, especímenes procedentes de animales sospechosos, o bien animales enfermos para hacerles la necropsia y los estudios correspondientes de Virología, Bacteriología, etc., -- También se pueden remitir muestras pares de suero sanguíneo, obtenidos al iniciarse la enfermedad y 2 ó 3 semanas después, para con ellos determinar si hubo un aumento del título de anticuerpos contra el agente etiológico de que se sospecha, siendo así como se podría concluir con un diagnóstico preciso de laboratorio. Más sin embargo, en la mayoría de las ocasiones, en nuestro medio, no puede ser realizado ya que los laboratorios con equipo especializado y personal habilitado, no son tan numerosos como se requiere, especialmente, en el área de Virología.

Recientemente se ha encontrado que la Rinotraqueitis Infecciosa bovina (IBR) está ampliamente difundida en el ganado Bovino de México (8). En casos de aborto o de síndromes respiratorios, cuando se sospecha de esta enfermedad, los Médicos Veterinarios Zootecnistas, sienten la responsabilidad de hacer el diagnóstico preciso, antes de recomendar la vacunación, ya que debemos tener presente -- que muchas vacunas contra IBR no están suficientemente atenuadas y por tanto pueden inducir abortos y difundir la enfermedad. V. SANCHEZ

gastar en la vacunación contra IBR, mientras no se esté seguro que esta enfermedad ya está presente en el hato.

Por las razones anteriores es urgente encontrar procedimientos de diagnóstico que sean precisos y fácilmente aplicables a las condiciones de campo. En el caso de IBR, el aislamiento e identificación del virus y la prueba de virusneutralización, además de tomar tiempo, requieren de equipo y personal especializado, así como de la colección y envío de muestras en condiciones aceptables.

Estudios recientes (5.6) nos muestran que, mediante una --- prueba de intradermoreacción, se puede demostrar que un hato ha sido previamente expuesto a la infección por IBR. Para ello se aplicó antígeno inactivado, preparado con virus de IBR. Esta prueba -- resulta ser muy valiosa por su facilidad para ser aplicada en condiciones de campo. Por ello se deben continuar los estudios tendientes a completar el conocimiento de las características de este tipo de reacción, así como una serie de interrogantes que aparecerán conforme se siga avanzando en su Investigación.

Los antígenos que provocan una inflamación cutánea retardada del tipo de la tuberculina* pueden ser de diferente naturaleza así algunos puede corresponder a proteínas de bacterias, parásitos u hongos y dentro de este grupo de antígenos el más conocido y estudiado es la tuberculina (15, 25, 41), otros a proteínas como las ovoal

* Denominada también en la literatura: Reacción Inmunitaria celular ó Respuesta retardada de hipersensibilidad celular.

búminas y las seroalbúminas (10,25), otros más a compuestos químicos sencillos como son el cloruro de prisilo y el 2-4- dinitrofluorobenceno (11), los cuales producen la reacción sólo por contacto y por último antígenos virales entre los cuales tenemos a varios virus herpes (7, 22, 34, 42). El virus de IER ha sido clasificado dentro de los virus herpes (20).

Se sabe que una verdadera reacción inmunitaria celular, del tipo de la tuberculina, corresponde a una reacción inflamatoria inmunológicamente específica, que tarda más de 12 horas en alcanzar su máximo desarrollo (25, 15, 41). Este tipo de respuesta puede -- ser transferido de un animal sensibilizado a otro sin sensibilizar, en una forma pasiva, por células linfoides o sus fracciones. Esto-- no se logra, con el suero del animal sensibilizado (1, 9, 10, 33)-- en otras palabras, este tipo de respuesta parece tener su base en-- células de tipo linfoide y no en anticuerpos humorales como se cree que es el caso de la reacción de Arthus, la enfermedad del suero y la anafilaxia local y general (15, 25). Hay que tomar en cuenta que no hay que considerar lo dicho en el parrafo anterior como una ---- afirmación absoluta, pues una respuesta cutánea inflamatoria con base celular, casi siempre se manifiesta después de una respuesta humoral inmediata provocada por el mismo antígeno que causó la respuesta de base celular (15, 21, 25); en realidad se sabe que las reacciones de tipo celular son provocadas por células linfoides dependientes del timo (13, 21), sus fracciones o algún factor intrínseco ellas (,2); pero los mecanismos de la reacción aún no han sido bien

aclarados (15) y son materia de continuas investigaciones.

En general, en un estudio histológico de una respuesta inflamatoria de hipersensibilidad celular encontramos que, poco después de haber sido inoculado el antígeno, hay una rápida infiltración de células polimorfonucleares; esta infiltración inicial, parece no tener ninguna especificidad antigénica, pues se lleva a cabo tanto en individuos sensibilizados como en individuos que no están sensibilizados (2, 24). Posteriormente en forma retardada (6 a 24 horas) comienza una invasión de células mononucleares de tipo linfocitoide semejantes a linfocitos, macrófagos y monocitos que llegan a formar densos islotes perivasculares y perineurales. La infiltración de células linfocitoides generalmente llega a dominar este tipo de reacción y se puede considerar característica de ella y con especificidad antigénica (1, 2, 23, 25). En realidad los linfocitos, macrófagos y monocitos que aparecen en forma tardía, son células muy involucradas en las reacciones de hipersensibilidad celular. Se ha demostrado su presencia y dominancia y se ha tratado de determinar la proporción de cada una de estas células en este tipo de reacciones por métodos citoquímicos (37) y por medio del microscopio electrónico (40). La identificación de los diferentes tipos de células linfocitoides en cortes ordinarios de tejidos presenta muchas dificultades.

Se cree que la presencia de un número considerable de leucocitos polimorfonucleares infiltrados en etapas avanzadas de la inflamación, tienen relación con el grado de necrosis, la toxicidad--

del antígeno y en general el grado de daño tisular provocado por la inoculación del antígeno. Se puede decir que cuando la necrosis es exagerada, la reacción tiene un aspecto inespecífico (1, 2, 25).

Existe la dificultad de llegar a un acuerdo preciso en cuanto a la cantidad y tipo de células que se encuentran extravasadas - en las diferentes etapas de una respuesta de hipersensibilidad celular ya que, como se dijo anteriormente, es muy difícil clasificar - células en tinciones ordinarias de cortes de tejidos; además en la literatura existente se usan diferentes antígenos, especies de - - animales y tiempos de observación (23).

Cabe mencionar que el proceso inflamatorio en general, al -- ser estudiado en diferentes especies animales, revela grandes diferencias (24) . Dado que la mayor parte de la bibliografía hecha al respecto se basa en trabajos efectuados con animales de laboratorio y con seres humanos, este trabajo tratará de dilucidar ciertas características propias de la intradermoreacción en bovinos ante la --- inoculación con antígeno inactivado hecho con virus IBR. Se tratará también de encontrar puntos de identidad con lo establecido en la-- bibliografía.

El objeto del presente trabajo, es hacer un estudio histológico de la inflamación que presentan los bovinos sensibilizados, -- inoculados intradermicamente con el antígeno preparado con virus - - inactivado de IBR. De este modo, se podrán hacer comparaciones con una inflamación cutánea retardada del tipo de la tuberculina.

MATERIALES Y METODOS.

Se utilizarón 3 vacas Herford adultas de 3 años de edad procedentes de los Estados de Hidalgo y Sonora. Estas vacas dieron reacción positiva a la prueba intradérmica con antígeno inactivado de IBR 2 y 3 meses antes de iniciar el experimento.

VACA	No. de Campo	Procedencia	Titulos de anticuerpos virusneutralizantes contra IBR.
"A"	212	Estado de Sonora	1:93
"B"	204	Estado de Sonora	1:18
"C"	213	Estado de Hidalgo	1:10

1).- PREPARACION DEL ANTIGENO.

Para hacer la prueba se usó antígeno preparado con virus de IBR. El virus de IBR se reprodujo en células primarias de testículo de bovino. Después de congelar y descongelar las células infectadas, se separaron los restos celulares por centrifugación a 2000 RPM durante 20 minutos. El sobrenadante que contenía los viriones fué concentrado 40 veces por ultrafiltración, utilizando un aparato Dyflow (Amico Company), el cual tenia un filtro XM 100, que retiene los materiales con peso molecular superior a 100, 000. Se inactivó mediante calentamiento a 56°C durante 30 minutos y por medio del tratamiento con Beta- propiolactona y posteriormente fué almacenado-

a -70°C (4,5). De este antígeno viral se inyectó por vía intradérmica una cantidad de 0.03 ml. con una jeringa de tipo tuberculina, en -- los lugares destinados para hacer la prueba.

II).- PREPARACION DEL LIQUIDO TESTIGO

Se utilizó también un líquido que nos sirvió como testigo.

Este líquido se obtuvo a partir del sobrenadante de una suspensión de células de testículo de bovino (en medio Eagle), previamente lizadas por congelación y descongelación; centrifugado e inactivo a 56°C durante 30 minutos. El líquido control, se inyectó también por vía intradérmica, en los lugares destinados para ser testigos de la prueba.

III).- PROCEDIMIENTO.

Las inoculaciones se efectuaron en la parte superior de las regiones de la escapula y costal (hasta la doceava costilla), por-- ambos lados del animal (Figura No. 1).

En las vacas "A" y "B", se rasuró en las regiones antes citadas, una superficie tal que permitió dibujar sobre la piel un cuadrículado de 12 cuadros de largo; la dimensión de cada uno de los cuadros fué de 9 x 6 cm. aproximadamente (Figura No. 1). En el centro de cada uno de los cuadros de la hilera del lado izquierdo de estos animales se inoculó el antígeno viral. En el centro de cada uno de los cuadros de la hilera del lado derecho de estos animales se inoculó el líquido que sirvió como testigo (Figura No. 1) En el primer cuadro de cada lado no se hizo ninguna inoculación, y está -

fué utilizada como muestra control no inoculada.

En la vaca "C", en las regiones citadas, se rasuró una superficie que permitió dibujar sobre la piel 2 cuadros que median aproximadamente 9 x 6 cm. cada uno (Figura No. 2) En el centro de cada uno de los cuadros del lado derecho del animal se inoculó por vía intradérmica el líquido que sirvió como testigo (Figura No. 2)

Tomando como centro el punto de inoculación de la piel, se hicieron biopsias de aproximadamente 1.5 x 1.5 cm., de la siguiente manera:

- En las vacas "A" y "B"

- 1.- Una biopsia 60 minutos antes de la inoculación (muestra no inoculada).
- 2.- Biopsia de área inoculada y control a los 15' - 30' después de la inoculación.
- 3.- Biopsia de área inoculada y control a los 60' después de la inoculación.
- 4.- Biopsia de área inoculada y control a las 6 horas después de la inoculación.
- 5.- Biopsia de área inoculada y control a las 24 horas después de la inoculación.
- 6.- Biopsia de área inoculada y control a las 48 horas después de la inoculación.
- 7.- Biopsia de área inoculada y control a las 72 horas después de la inoculación.
- 8.- Biopsia del área inoculada a las 96 horas después de la inocula

ción.

9.- Biopsia del área inoculada al 5º día después de la inoculación.

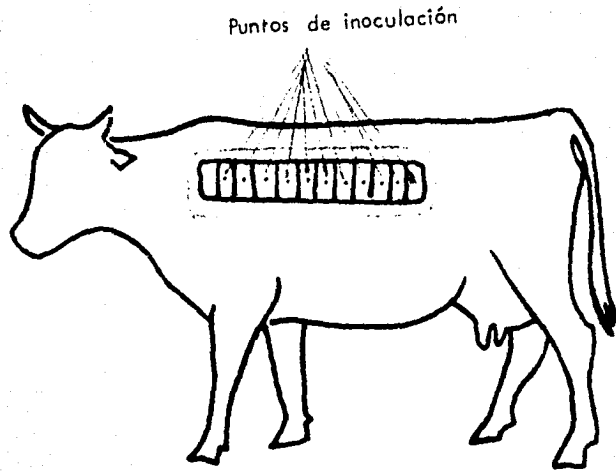
En la vaca "C" se tomaron biopsias de las áreas inoculadas y control unicamente a ls 72 horas después de la inoculación, que es cuando la inflamación está en su máximo apogeo (4, 5) y también para apreciar si había alguna diferencia con los resultados obtenidos en las vacas "A" y "B" en las que se hicieron cortes frecuentes.

Las biopsias se pusieron en formalina Q.P. al 10% y posteriormente se incluyeron en parafina, se hicieron cortes de 5 micras de espesor. Se tñieron con las tinciones de hematoxilina eosina -- y azul de toluidina, que permite distinguir a las células cebadas.

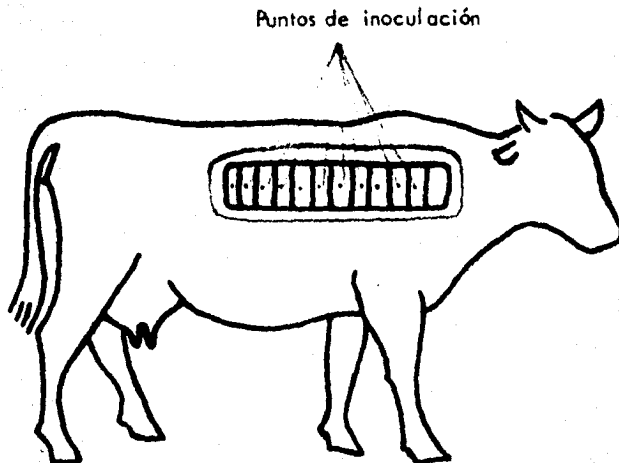
IV).- EVALUACION MACROSCOPICA DE LA DERMOREACCION.

Siguiendo el programa de la toma de biopsias antes de colectarlas se determinó el espesor de todas y cada una de las reacciones inflamatorias con un vernier. También se hizo una apreciación subjetiva calificando la inflamación con el criterio usado en el trabajo de Correa, Carmichael, Schultz (5) donde dice: "La reacción fué considerada como sospechosa (±) cuando media de 0.05 a 1 cm. de diámetro; de 1 a 2 cm. fué positiva con una cruz (+) y de 2 a 3 cm. fué-positiva con 2 cruces (++)". En esta determinación se tomó en cuenta el eritema y el área que presentaba Edema.

FIGURA NO. 1 Puntos de inoculación del antígeno y del líquido testigo, en las vacas "A" y "B".

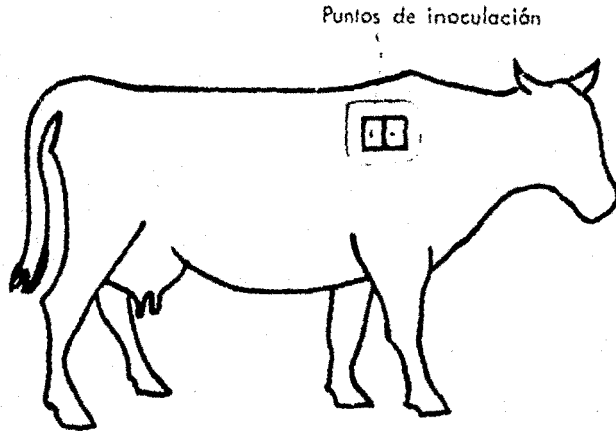


Lado izquierdo del animal, utilizado para
inocular el antígeno viral.

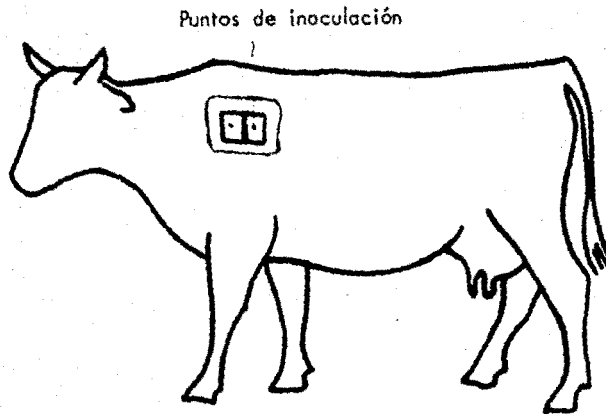


Lado derecho del animal, utilizado para
inocular el líquido testigo.

FIGURA No. 2. Puntos de inoculación del antígeno y del líquido testigo, en la vaca "C".



Lado izquierdo del animal, utilizado para
inocular el antígeno viral.



Lado derecho del animal, utilizado para
inocular el líquido testigo.

RESULTADOS.

I).- RESULTADOS DE LAS OBSERVACIONES MACROSCOPICAS.

En los cuadros Nos. 1 y 2 están representadas, en milímetros el espesor de la piel, antes de ser inoculada y después de la inoculación hasta poco antes de ser tomada la biopsia correspondiente -- a cada punto de inoculación. En estos cuadros también se pueden --- observar la evaluación subjetiva (en cruces) antes de tomar la biopsia correspondiente a cada punto de inoculación. Con el objeto de-- hacer más claramente apreciables las variaciones del espesor de la piel, en estas reacciones, se graficarón las medidas de los cuadros Nos. 1 y 2 (gráficas Nos. 1, 2, 3, 4, 5, 6).

a) Evaluación macroscopica de las áreas inoculadas con antígeno ---IBR.

Las graficas Nos. 1, 2, 3, nos muestran que:

a-1) a los 15-30 minutos después de la inoculación del antígeno viral la piel incrementa su grosor (foto No. 1). Esta inflamación inmediata decrece posteriormente durante la primera y sexta - hora después de la inoculación (graficas 1 y 2). En ocasiones se - mantiene en una meseta durante 24 horas después de la inoculación-- (grafica 3).

a-2) Posteriormente al hacer la determinación de las 24 horas, se notó un segundo incremento (graficas 1, 2, 3), el cual alcanzó su máximo de las 24 horas a las 72 horas (foto No. 2).

Se puede observar que esta reacción tardía tiene mas duración y es de mayor espesor que la reacción inmediata.

a-3) Finalmente la piel tiende a adquirir su espesor normal-- después de transcurridas 96 horas después de la inoculación.

b) Evaluación macroscópica de las áreas inoculadas con el líquido -- usado como testigo.

Las graficas Nos. 4, 5 y 6 nos muestran las variaciones de la pequeña reacción, de tipo inmediato, provocado por la inoculación -- del líquido testigo (sobrenadante de una suspensión de células de -- testiculo de bovino en medio Eagle).

Existe un fuerte contraste entre las inflamaciones provocadas por el antígeno viral y el líquido testigo, ya que con este último - entre los 15 minutos y la primera hora después de la inoculación, se presenta, en ocasiones, una moderada reacción inflamatoria de la --- piel (graficas 4, 5, y 6). Posteriormente, la piel adquiere su gro - sor normal, manteniendolo así durante el tiempo que duro la prueba.

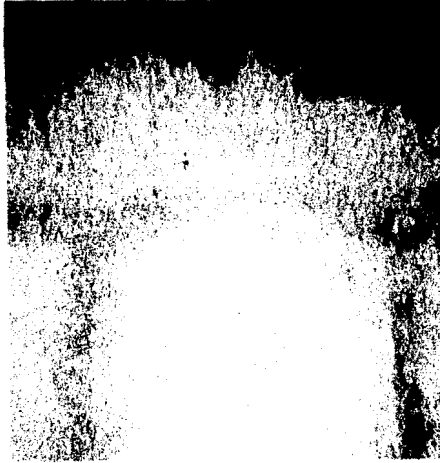


Foto No. 1.- Aspecto macroscópico de la inflamación cutánea en la vaca "B", 15 minutos después de haber sido inoculada el antígeno IBR. El área de inflamación fué señalada con colorante para hacerla más aparente.

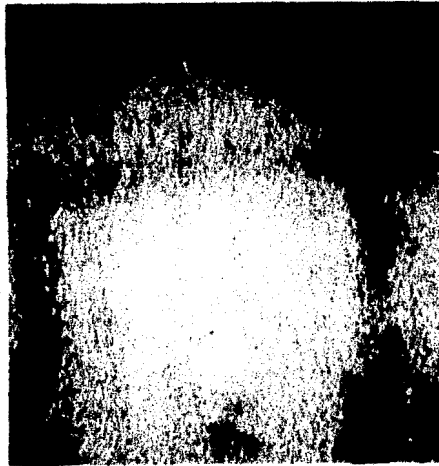


Foto No. 2.- Aspecto macroscópico de la inflamación cutánea, en la vaca "B", 72 horas después de haber sido inoculada el antígeno IBR. El área de inflamación fué señalada con colorante para hacerla más aparente.

15
CUADRO No. 1

ESPESOR DE LA PIEL (m.m.) Y EVALUACION DE LA REACCION MACROSCOPICA, ANTES Y DESPUES DE LA INOCULACION DEL ANTIGENO IBR.

ANTES DE LA INOCULACION	INOCULACION	15 '30'	DESPUES DE LA INOCULACION					
			hora	6 hrs.	24hrs.	48hrs.	72hrs.	96hrs. 5o. día
V A C A "A"								
8* (-)								
8	-	10*(+)						
8	-	12	10*(+)					
8	-	10	9	9*(-)				
9	-	14	12	11	13.5*(++)			
9	-	12	11.5	11	13.5	14*(++)		
10	-	14	12	12	16	17	17.5*(+++)	
11	-	13	13	12	15	16.5	16	14*(+)
12	-	14	13	12	16	16	15	12 12*(-)
V A C A "B"								
6*(-)								
7	-	9.5*(+)						
6.5	-	8	7*(+)					
6	-	7	6	6*(-)				
7	-	10	9	7.5	12*(++)			
7.5	-	10.5	9	8	10.5	11*(++)		
8	-	11	9	9	12	11.5	12*(+)	
9	-	9.5	9	9	11.5	11	11	9*(-)
8	-	10	10	9	11	11	11	9 8*(-)
V A C A "C"								
8	-	9	10	10	10	13	13*()	

*Momento en que se colectó la biopsia correspondiente. La determinación del espesor de la piel se hizo en el punto de inoculación y antes de colectar la biopsia.

CUADRO No. 2

ESPESOR DE LA PIEL(m.m.) Y EVALUACION DE LA REACCION MACROSCOPICAS ANTES Y DESPUES DE INOCULACION DEL LIQUIDO TESTIGO.

ANTES INOCU , DESPUES DE LA INOCULACION
DE LA LACION
INOCU 15'30' hora 6hrs. 24hrs. 48hrs. 72hrs. 96hrs. 5o.día
LACION

v a c a " A "							
7	-	7*(-)					
7	-	7	9*(±)				
8	-	8	10	8*(-)			
8	-	8	8.5	8	8*(-)		
9	-	9	9	9	9	9*(-)	
9	-	9	9	9	9	9	9*(-)

V A C A "B"							
7	-	9*(±)					
8	-	8	8*(-)				
8	-	9	8	8*(-)			
8	-	9	8	8	8*(-)		
8	-	9	8	8	8	8*(-)	
8	-	8	9	8	8	8	8*(-)

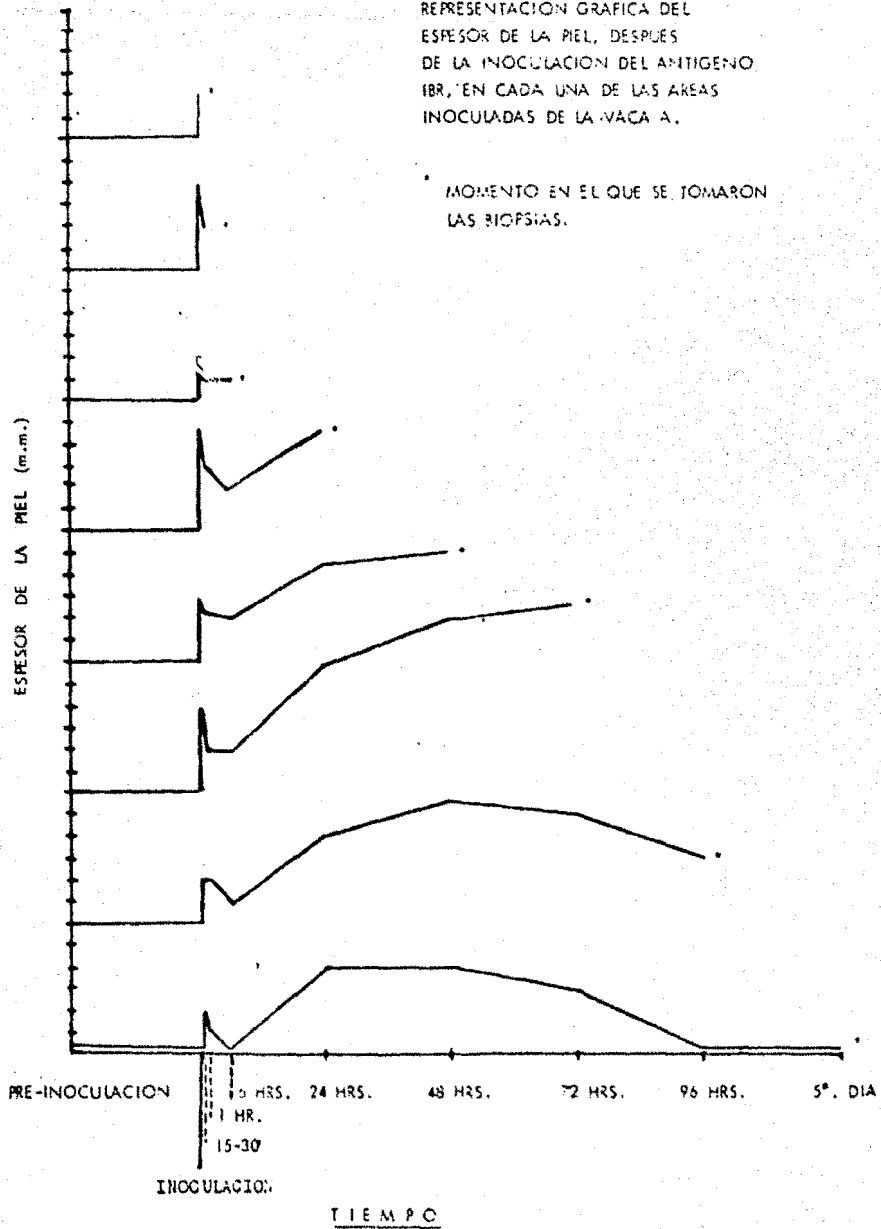
V A C A "C"							
8	-	9	8	8	8	8	8*(-)

*Momento en que se colectó la biopsia correspondiente. La determinación del espesor de la piel se hizo en el punto de inoculación y antes de coleccionar la biopsia.

GRAFICA No. 1

REPRESENTACION GRAFICA DEL
ESPESOR DE LA PIEL, DESPUES
DE LA INOCULACION DEL ANTIGENO
IBR, EN CADA UNA DE LAS AREAS
INOCULADAS DE LA VACA A.

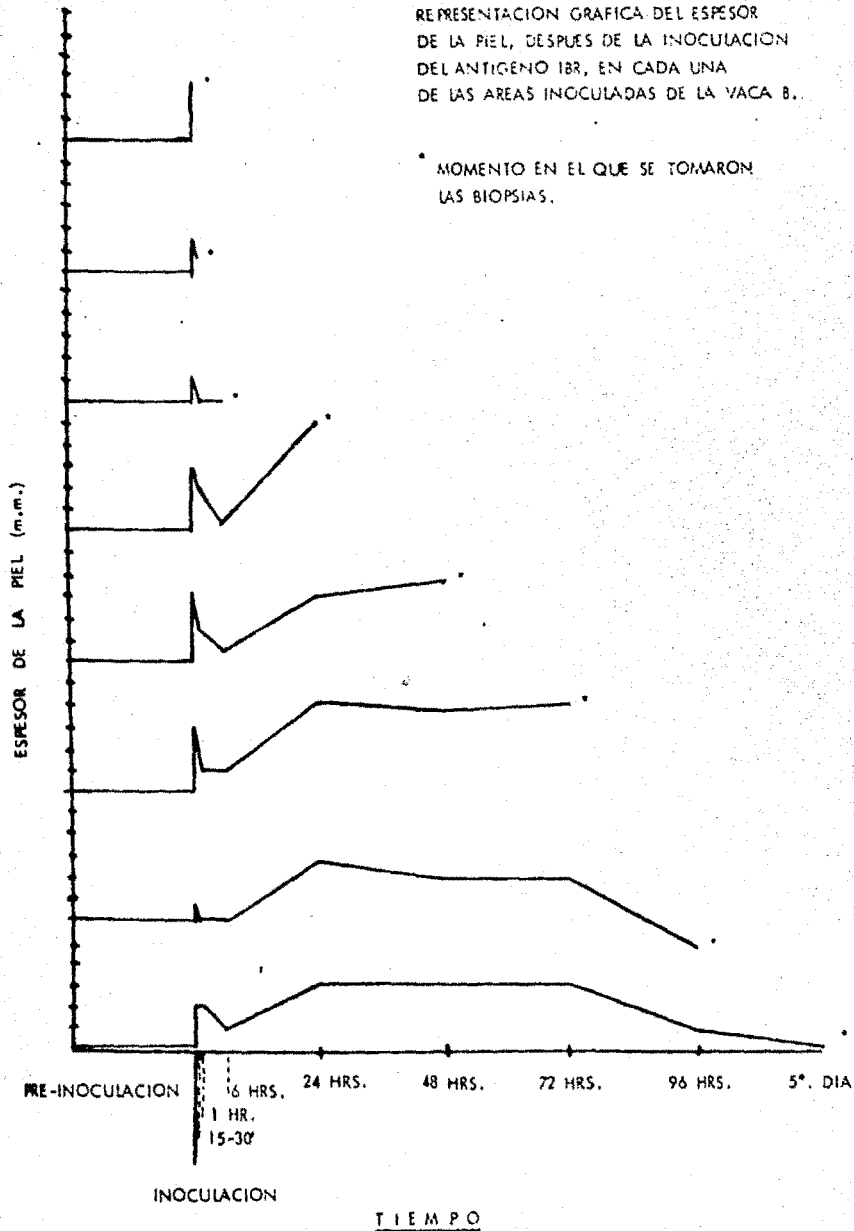
MOMENTO EN EL QUE SE TOMARON
LAS BIOPSIAS.



GRAFICA No. 2

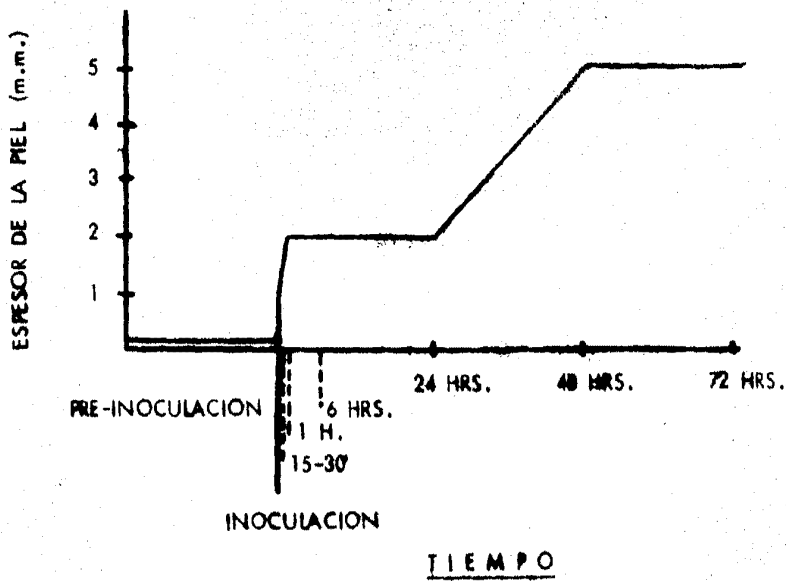
REPRESENTACION GRAFICA DEL ESPESOR
DE LA PIEL, DESPUES DE LA INOCULACION
DEL ANTIGENO IBR, EN CADA UNA
DE LAS AREAS INOCULADAS DE LA VACA B.

* MOMENTO EN EL QUE SE TOMARON
LAS BIOPSIAS.



GRAFICA No. 3

REPRESENTACION GRAFICA DEL
ESPESOR DE LA PIEL DESPUES DE
LA INOCULACION DEL ANTIGENO IDR,
EN EL AREA INOCULADA DE LA VACA

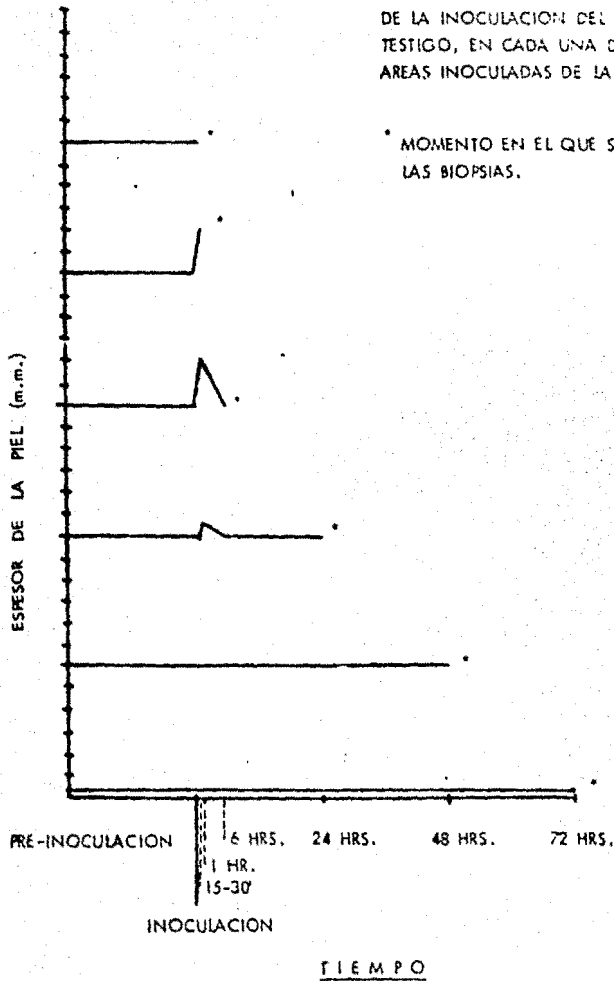


* MOMENTO EN QUE SE TOMO LA BIOPSIA

GRAFICA N^o. 4

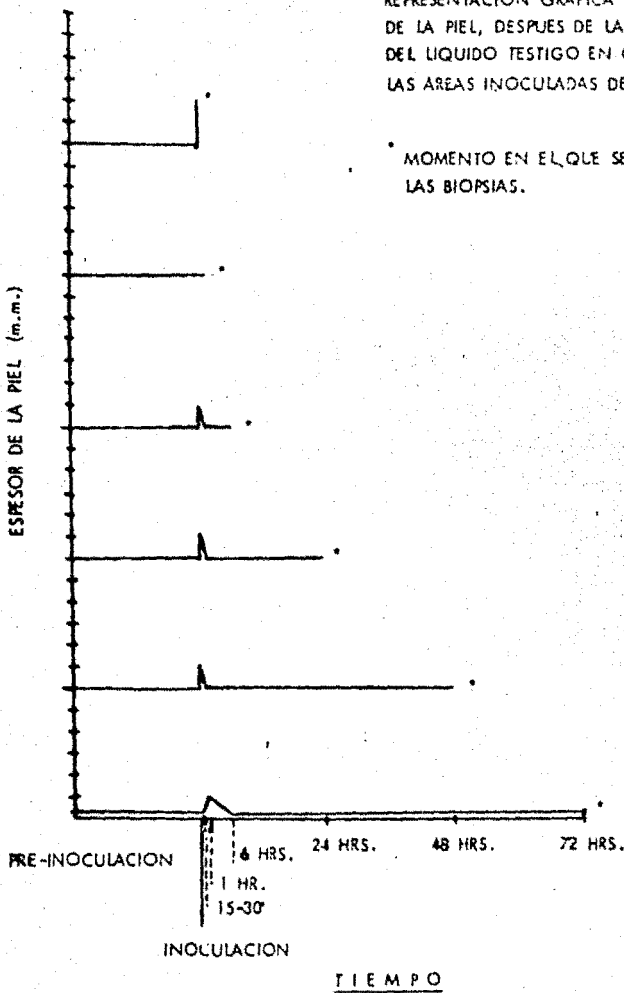
REPRESENTACION GRAFICA DEL
ESPESOR DE LA PIEL, DESPUES
DE LA INOCULACION DEL LIQUIDO
TESTIGO, EN CADA UNA DE LAS
AREAS INOCULADAS DE LA VACA A.

• MOMENTO EN EL QUE SE TOMARON
LAS BIOPSIAS.



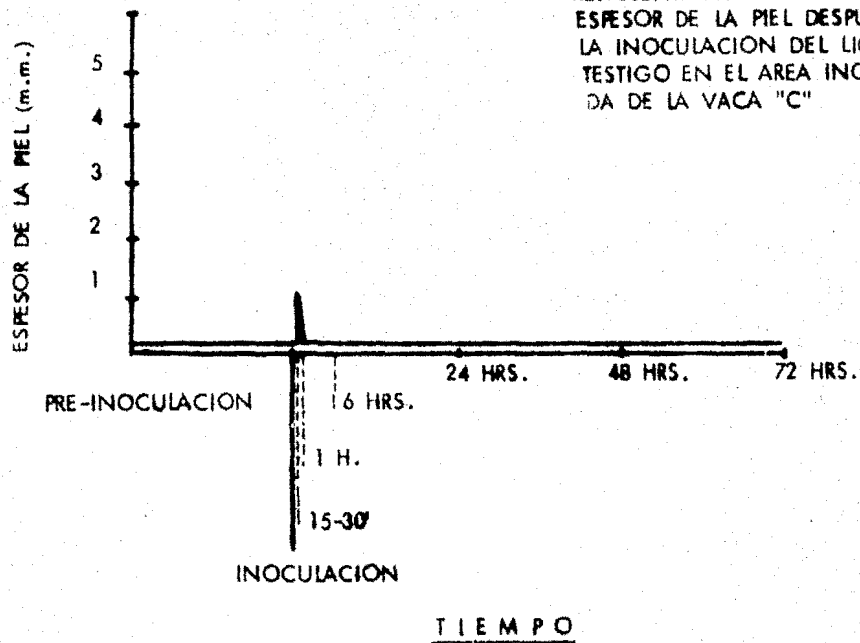
GRAFICA No. 5

REPRESENTACION GRAFICA DEL ESPESOR
DE LA PIEL, DESPUES DE LA INOCULACION
DEL LIQUIDO TESTIGO EN CADA UNA DE
LAS AREAS INOCULADAS DE LA VACA B.



GRAFICA No. 6

REPRESENTACION GRAFICA DEL
ESPESOR DE LA PIEL DESPUES DE
LA INOCULACION DEL LIQUIDO
TESTIGO EN EL AREA INOCULA-
DA DE LA VACA "C"



* MOMENTO EN QUE SE TOMO LA BIOPSIA

II).- RESULTADOS DE LAS OBSERVACIONES MICROSCOPICAS.

a) Observaciones de los cortes de piel no inoculada.

No se encontró ningún proceso patológico en estos cortes --- (14, 17, 19) (foto No. 3). Se constató la presencia de eosinofilos en estos cortes de piel no inoculada tal como lo describen Macarian y Calhoun, Hirsh (18). También se comprobó la presencia de células cebadas (foto No. 4) en piel no inoculada, en forma moderada, tal como lo describen Maximow (19), Rook y Walton (27).



Foto No. 3 .- Corte de piel normal, aparentemente sana, usada como testigo. Vaca No. "A". Tinción hematoxilina eosina -- X100.



Foto No. 4 .- Célula cebada (c) en un corte de piel normal, aparentemente sana. Vaca "B". Tinción de azul de toluidina.
X 1000.

b).- Observaciones en los cortes de la piel inoculada con el líquido testigo.

b.1).- De 15 a 30 minutos después de la inoculación:

Ligera hiperhemia y vasodilatación, escasos leucocitos en la luz de los vasos y perivasculares. Los escasos leucocitos observados fueron, principalmente células mononucleadas y eosinófilos.

b.2) A los 60 minutos despues de la inoculación:

En la piel de la vaca "B" se observó disminución en la hiperhemia y vasodilatación. Muy escasas células perivasculares, principalmente células mononucleadas y eosinofilos.

En la piel de la vaca "A" se observó un aumento en la hiperhemia y vasodilatación. Muy escasas células perivasculares, principalmente células mononucleadas y eosinofilos.

b.3) De las 6 horas al 5o. día después de la inoculación:

A partir de las 6 horas y hasta el 5o. día, en ninguna Biopsia tomada de los lugares de inoculación del líquido control, se pudo -- observar algún indicio de inflamación. Estos cortes fueron semejantes a los cortes de piel no inoculada.

C) Observaciones en los cortes de piel inoculada con el antígeno IBR
Vacas "A" y "B".

C.1). - De 15 a 30 minutos después de la inoculación:

Se observó hiperhemia y vasodilatación. Escaso infiltrado perivascular, cuyas células más frecuentes fueron: eosinofilos y mononucleares de tipo linfoide.

C.2).- A los 60 minutos después de la inoculación:

La hiperhemia, y vasodilatación fueron menores que las observadas a los 15' -30', despues de la inoculación. Las escasas células perivasculares que se distinguieron fueron células mononucleadas y eosinofilos. Se observaron muy escasas células polimorfonucleares en la luz de los vasos del tejido conjuntivo subcutáneo.

C.3).- A las 6 horas después de la inoculación:

Se encontró que el tejido conjuntivo subcutáneo existía una moderada infiltración de células predominantemente polimorfonucleares (Fotos No. 5 y 5A) (Figura No. 4). La luz de los vasos en el tejido conjuntivo subcutáneo, se encontraba repleta de células predominantemente polimorfonucleares. En la epidermis y en la dermis de los cortes tomados en esta etapa, se encontró una escasa infiltración perivascular en la que predominaron células mononucleadas de tipo linfoide (figura 4). Se observó un aparente aumento en el número de células cebadas algunas, de ellas, en proceso de degranulación.



Foto No. 5.- Extravasación de células predominantemente polimorfonu
cleares en el tejido conjuntivo subcutáneo, en un corte tomado a las
6 horas después de la inoculación del antígeno IBR. Vaca "B", tin --
ción hematoxilina eosina x 250.

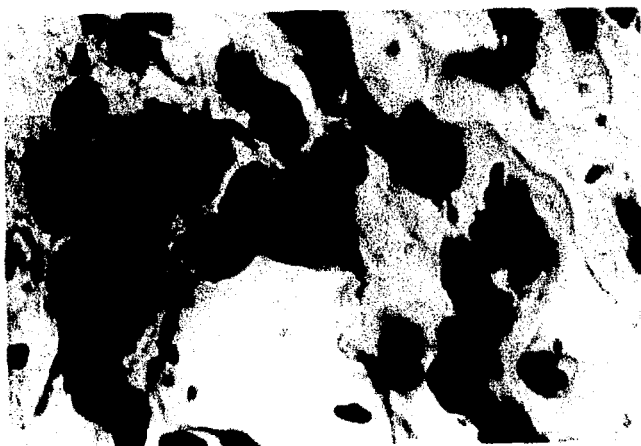


Foto No. 5 A.- Acercamiento de la foto No. 5, que muestra más clara
mente leucocitos polimorfonucleares (A). Tinción hematoxilina eosi-
x 1000.

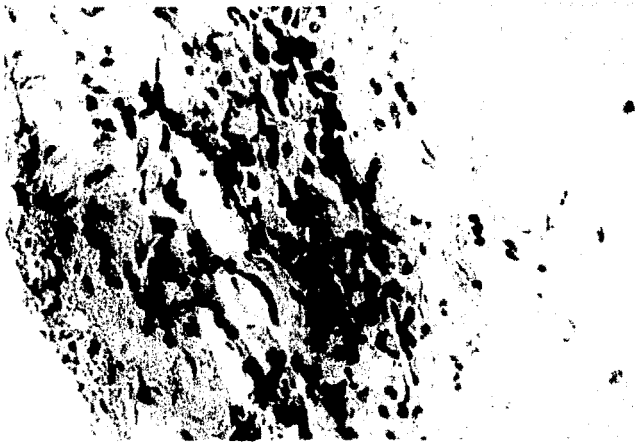


Foto No. 5.- Extravasación de células predominantemente polimorfonucleares en el tejido conjuntivo subcutáneo, en un corte tomado a las 6 horas después de la inoculación del antígeno IBR. Vaca "B", tinción hematoxilina eosina X 250.

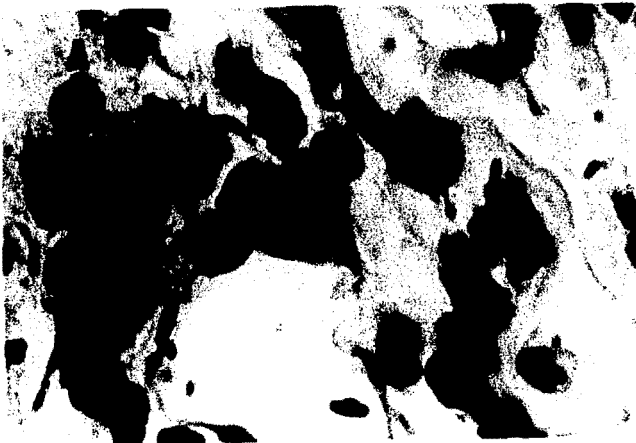


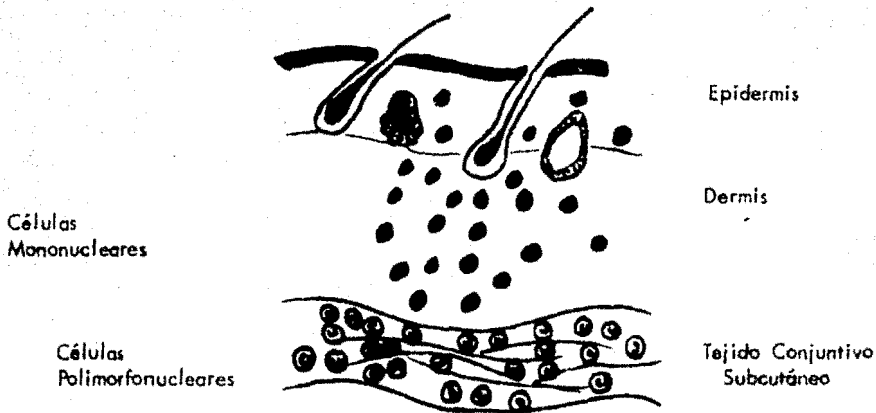
Foto No. 5 A.- Acercamiento de la foto No. 5, que muestra más clara los leucocitos polimorfonucleares (A). Tinción hematoxilina eosi-

C.5 A las 24 horas después de la inoculación:

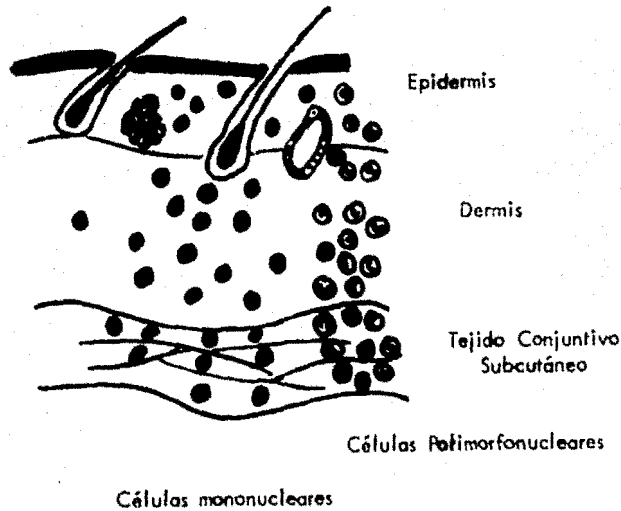
Se observó una mayor infiltración leucocitaria. Los leucocitos observados fueron tanto mononucleares de tipo linfoide, como polimorfonucleares (foto No. 6). En general, predominaron en esta etapa las células mononucleadas. En un corte correspondiente a la vaca "B", se observó en un área de la preparación, que en todas las capas de la piel, la infiltración que predominaba fue de células polimorfonucleares (foto No. 7). En otra área de la preparación, en todas las capas de la piel la infiltración fué de células predominantemente mononucleadas (foto No. 8) (fig. 4).

En esta epata, como en la anterior (6 horas), se observó un aumento del número de células cebadas y también se pudo observar -- que algunas (muy pocas) estaban en proceso de degranulación.

FIG. NO. 4



Esquematzación de la distribución de células polimorfonucleares en cortes correspondientes a las 6 horas después de haber inoculado el antígeno IBR.



Esquematzación de la distribución de células polimorfonucleares en un corte correspondiente a las 24 horas después de haber inoculado el antígeno IBR.



Foto No. 6.- Extravasación leucocitaria de un capilar de la dermis, repleto de leucocitos. (A) Leucocito polimorfonuclear, (B) Leucocito mononuclear. Corte correspondiente a las 24 horas después de la -- inoculación del antígeno IBR. Vaca "A" tinción de hematoxilina eosina X 630.

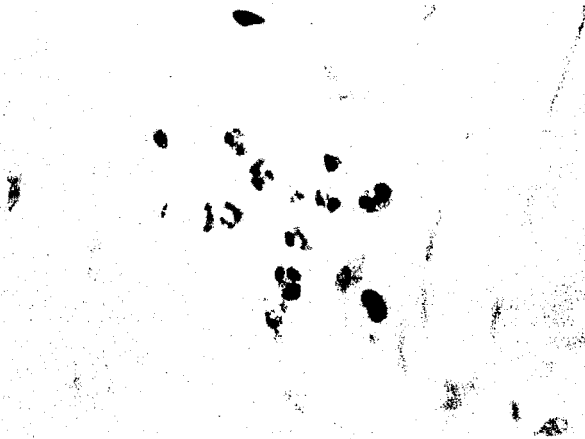


Foto No. 7.- Acumulo de leucocitos polimorfonucleares, observados-- en un extremo de la preparación. Corte correspondiente a las 24 horas después de la inoculación del antígeno IBR. Vaca "B" tinción hematoxilina eosina X 630.



Foto No. 8.- Acumulo de leucocitos predominantemente mononucleares-observados en el otro lado de la misma preparación de la foto No. 7. Tinción hematoxilina eosina X 630.

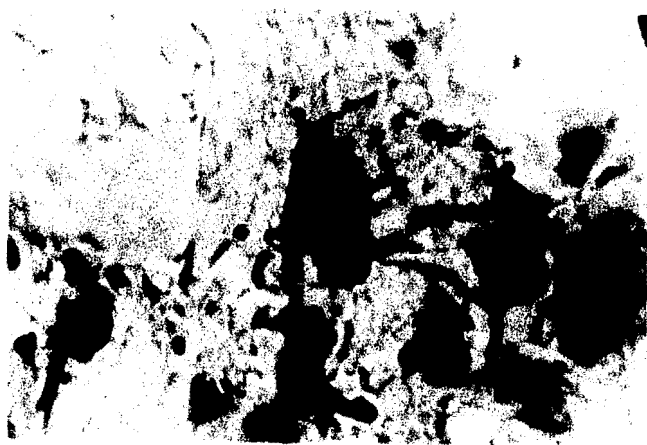


Foto No. 9.- Célula cebada (C) en proceso de degranulación, localizada en la dermis. Corte correspondiente a las 24 horas después de la inoculación del antígeno IBR. Vaca "A". Tinción de azul de toluidina X 1000.

C. 6 De las 48 a las 72 horas después de la inoculación se observó que en todos los cortes inoculados existía una abundante infiltración leucocitaria. Esta infiltración formaba islotes que se distribuían en todas las capas de la piel (fotos 10, 12 y 13). Las células mononucleares de tipo linfocito se encontraban predominantes (foto 11). Entre las masas de células mononucleares se pudieron distinguir algunos eosinófilos. Se percibieron muy escasas células polimorfonucleares. Casi no se observaron células cebadas. Las glándulas sudoríparas se observaron hipertrofiadas. (fotos No. 14 y 15).

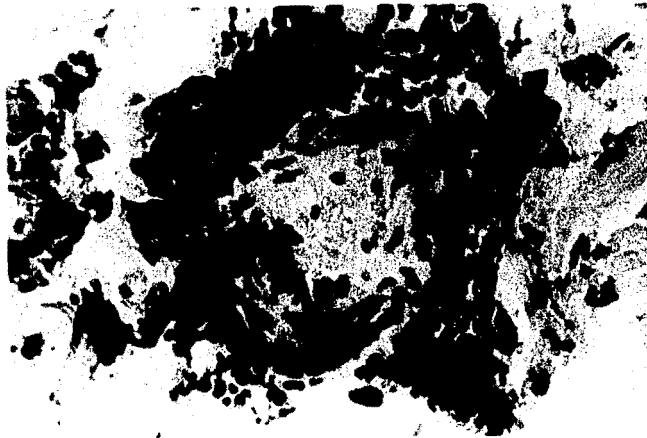


Foto No. 10.- Infiltración perivascular de células mononucleadas en dermis. Corte correspondiente a las 72 horas después de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "A". Tinción hematoxilina eosina -- X 250.



Foto No. 11.- Acercamiento de la foto No. 10 que nos muestra más claramente células mononucleares de tipo linfoide. Tinción de hematoxilina eosina X 630.



Foto No. 12.- Tejido subcutáneo sin ningún tipo de infiltración. Cortes correspondientes a ls 72 horas después de haber sido inoculado el liquido testigo. Vaca "B". Tinción de hematoxilina eosina X 100.

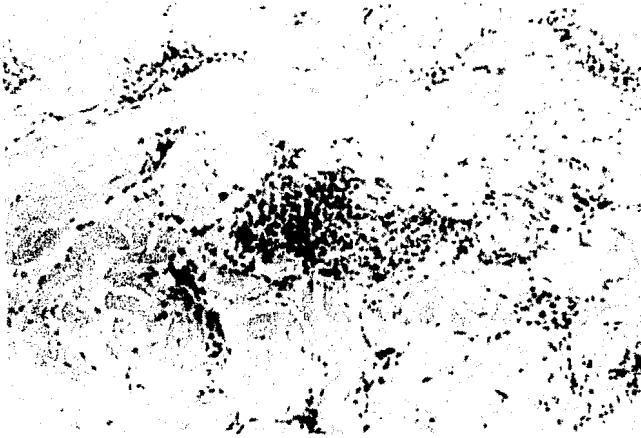


Foto No. 13.- Infiltración de células mononucleares formando islotes en tejido subcutáneo. Corte correspondiente a las 72 horas después - de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "B". Tinción hematoxilina eosina X 100.

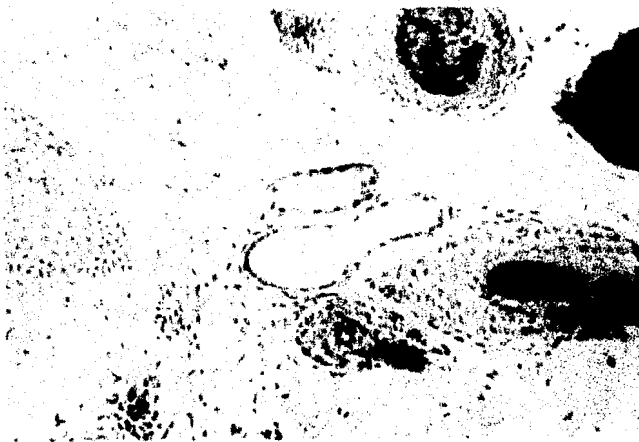


Foto No. 14.- Glándula sudorípora de tamaño normal en dermis. Corte correspondiente a las 72 horas después de haber sido inoculado el - líquido testigo. Vaca "A". Tinción hematoxilina eosina X 100.

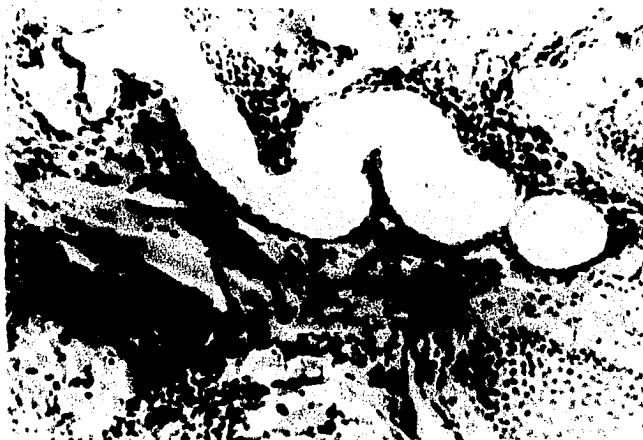


Foto No. 15.- Glándula sudorípara hipertrofiada en dermis. con infiltración leucocitaria. Corte correspondiente a las 72 horas después de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "A". Tinción-hematoxilina eosina X 100.

C.7.- A las 96 horas después de la inoculación:

Se observó que los islotes de infiltración leucocitaria, -- apreciados en la etapa anterior, estaban más aislados, más densos y más pequeños (foto 16 y 17). Las células mononucleares de tipo - linfoide eran claramente predominantes. Entre las densas masas de células mononucleares se pudieron apreciar algunos eosinófilos. En esta etapa, fué aún más difícil encontrar células polimorfonucleares. Fué también muy difícil encontrar células cebadas. Las glándulas sudoríparas aún estaban hipertrofiadas (foto 18).

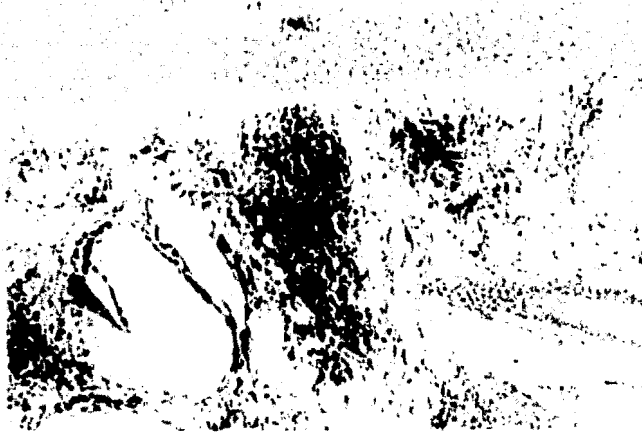


Foto No. 16.- Infiltración leucocitaria formando muy densos islotes en dermis. Corte correspondiente a las 96 horas después de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "A". Tinción hematoxilina eosina X 100.

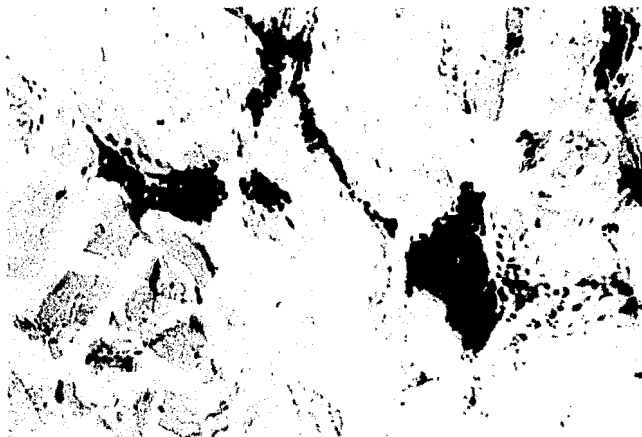


Foto No. 17.- Infiltración leucocitaria formando muy densos islotes en tejido conjuntivo subcutáneo. Corte correspondiente a las 96 horas después de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "B". Tinción hematoxilina eosina X 100.

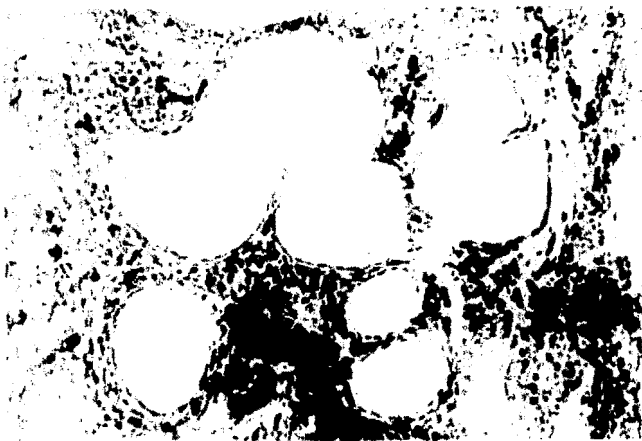


Foto No. 18.- Glándula sudorípara hipertrofiada en dermis.- Corte correspondiente a ls 96 horas después de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "A". Tinción hematoxilina eosina X 100.

Al 5o. día después de la inoculación:

Se observaron pequeños islotes de infiltración leucocitaria. Estos islotes tenían muy escasa concentración de leucocitos (foto- No. 19).

Las células mononucleares de tipo linfoide eran predominantes. En algunos lugares de las preparaciones se observaron acumulos de eosinofilos. Las células polimorfonucleares y las células cebadas se percibieron en forma muy escasa. Las glándulas sudoríparas parecían haber retornado a su tamaño normal.

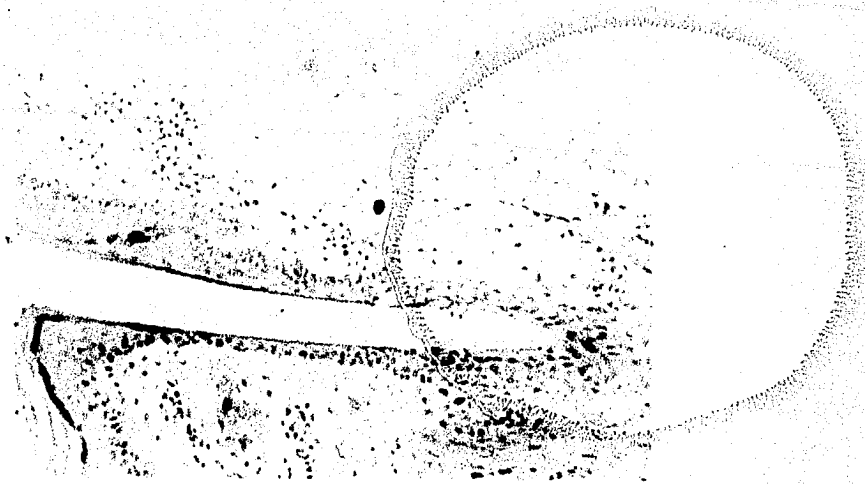


Foto No. 19.- Aspecto de la dermis 5 días después de haber sido --
inoculado el antígeno IBR. Vaca "A". Tinción hematoxilina eosina --
X 100.

d) Observaciones del corte realizado en la Vaca "C", 72 ho--
ras después de haber inoculado el antígeno IBR.

d.1) Como en los cortes pertenecientes a las vacas "A" y "B" en esta etapa, se observó abundante infiltración leucocitaria. Esta infiltración formaba islotes que se distribuían en todas las capas de la piel (Foto No. 20). Las células mononucleadas de tipo linfoides, fueron claramente predominantes. A diferencia de los cortes pertenecientes a las vacas "A" y "B", en estas muestras se observaron, entre las masas de células mononucleares, abundantes eosinófilos (Foto No. 21).

Se percibieron muy escasas células polimorfonucleares. Fué-

difícil la observación de células cebadas. Las glándulas sudoríparas estaban hipertrofiadas.



Foto No. 20.- Infiltración leucocitaria perivascular en la dermis.-

Corte correspondiente a las 72 horas después de haber sido inoculado el antígeno IBR. Vaca "C". Tinción hemtoxilina eosina X 100.

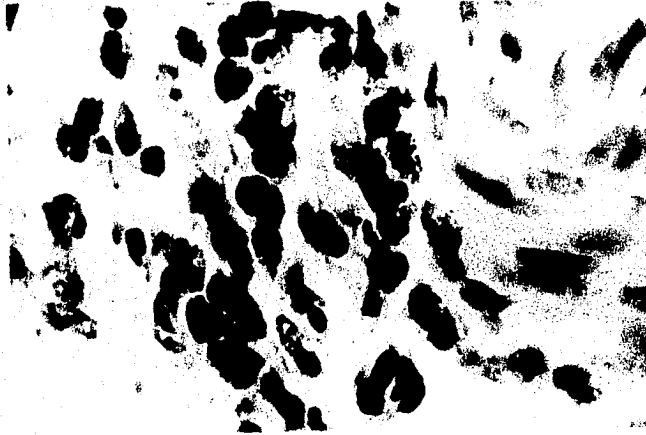


Foto No. 21.- Grupo de eosinofilos en un infiltrado leucocitario -
de la dermis. Corte correspondiente a las 72 horas después de la -
inoculación del antígeno IBR. Vaca "C". Tinción hematoxilina eosi-
na X 630.

DISCUSION

I).- INOCULACION DEL LIQUIDO TESTIGO.

En algunas areas inoculadas con el liquido testigo, se provoco inicialmente, una ligera inflamación de tipo inmediato que alcanzó 2mm. de espesor como máximo. Esta inflamación se encontró en algunos casos, en la observación correspondiente a los 15-30 minutos y en otros casos en la observación correspondiente a los 60 minutos. Al hacer la lectura correspondiente a las 6 horas después de la inoculación, esta ligera inflamación ya no estaba presente en ningún caso. En dichas áreas controles no se presentó posteriormente ninguna otra alteración macroscopica ni microscópica (gráficas 3,4 y5)

Las principales alteraciones histológicas encontradas en los cortes correspondientes a esta ligera inflamación fueron hiperhemia y vasodilatación. Darcel y Dorwar (6) reportan que al inocular antígenos preparados con cultivos tisuales no infectados con virus de IBR no se presentaba ninguna reacción de tipo inmediato. Correa et. al. (5) indican al respecto, que en las áreas inoculadas con sustancias controles, nunca encontrarán una reacción positiva. Entre las sustancias que utilizaron estos autores como testigos estaba el sobrenadante de una suspensión de células de testículo de bovino -- (en medio Eagle) lisadas por congelación y descongelación; este liquido fué el mismo que se utilizó en el presente trabajo. Es posible que la ligera inflamación que se detecto en el presente trabajo fuera causada por simple irritación mecanica. Quizas existia un cier

to tipo de sensibilidad a las proteínas que componían al líquido -- testigo. Tenemos que considerar que estos animales, habían sido inoculados 2 veces antes con el mismo líquido testigo.

II).- INOCULACION DEL ANTIGENO IBR.

En la observaciones hechas por Correa et al. (5) se expone que con la aplicación intradérmica del antígeno IBR, en la región cos--tal de bovinos sensibles "La reacción cutánea aparecía de media a -- una hora después de la inoculación, posteriormente decrecía para -- para reaparecer a las 24 horas, y durante los siguientes 3 días es--tuvo presente". Con mucha semejanza en los resultados del presente--trabajo, también se encontró que con la inoculación del antígeno -- IBR se provocaba una reacción que presentaba 2 fases inflamatorias.

La primera fase correspondió a una ligera inflamación de tipo--inmediato que se presentó entre los 15-30 minutos y 1 hora después--de haber inoculado el antígeno IBR. (Gráficas 2 y 3) (Foto No.1). -- La segunda fase correspondió a una inflamación de tipo retardado -- que se presentó entre las 24 y 72 horas después de haber inoculado--el antígeno IBR (Gráficas 1, 2 y 3) (Foto No. 2).

a).- Inflamación de tipo inmediato.

La inflamación de tipo inmediato que se presentó poco tiempo -- después de inocular el antígeno IBR alcanzó 5 mm. de espesor como -- maximo. Las principales alteraciones histológicas observadas en los cortes correspondientes a esta ligera inflamación de tipo inmediato fueron hiperhemia y vasodilatación. Microscopicamente se encontró -- mucha semejanza entre la inflamación de tipo inmediato que resultó--

de inocular el líquido testigo y la inflamación de tipo inmediato -- que se presentó al inocular el antígeno IBR. Cabe la posibilidad de que estas reacciones de tipo inmediato sean una respuesta de hipersensibilidad con base humoral, a sustancias comunes al antígeno IBR y - al líquido control. Estas sustancias pueden ser restos de células de testículos de bovino o suero fetal de ternera, que se usa como nu--- triente en cultivos celulares, o alguna otra proteína. Por esta ra--- zón es preferible tomar como específicas para el virus de IBR la --- reacción de tipo tardío. Herbert (15) en su libro de texto, nos ex--- plica que las reacciones cutáneas de tipo tardío van precedidas con frecuencia de una respuesta de hipersensibilidad inmediata. Esta res- puesta inmediata, se cree que es producida por el mismo antígeno que posteriormente produce la respuesta tardía. Es probable también que este sea el caso de la inflamación de tipo inmediato que apareció - después de inocular el antígeno IBR. Cabe mencionar al respecto que en general, macroscópicamente, la reacción de tipo inmediato que se presentó al inocular el antígeno IBR fué mas fuerte que la provoca- da por el líquido control. Esto nos hace pensar que fueron dis--- tintos los antígenos que provocaron estas reacciones de tipo inmedia- to.

Antes de que empezara por segunda vez el incremento en el espe- sor de la piel y en el momento que la primera inflamación había de- clinado al mínimo, o sea a las 6 horas después de la inoculación --- del antígeno IBR. (Gráficas 1,2,3.) el suceso más llamativo fué la - moderada infiltración de células polimorfonucleares en el tejido con

juntivo subcutáneo (Figura No. 4). Esta infiltración de células -- polimorfonucleares pudo ser detectada hasta las 24 horas y des--- pues ya no se encontraron .

La forma en la cual estaban distribuidas estas células poli-- morfonucleares sugería que se acumulaban en las margenes del área-- inflamada (figura No. 4) (Foto No. 7 y 8) o que quizás solamente -- se acumulaban en los lugares de mayor daño tisular. La infiltración de células polimorfonucleares, que tal vez comenzó entre la primera y las 6 horas, nos hace pensar en la infiltración inicial de célu-- las polimorfonucleares descrita por Bloom (2). Esta infiltración -- de polimorfonucleares sucede tanto en animales sensibilizados como-- en los no sensibilizados, cuando se les inocula un antígeno que pro-- duce una respuesta de tipo retardado en los sensibilizados. En rea-- lidad esta infiltración de células polimorfonucleares está, proba-- blemente, sin relación alguna con una respuesta específica y más -- bien relacionada al daño tisular.

En esta misma etapa, antes de que empezara el segundo incre--- mento en el espesor de la piel (a las 6 horas) se observó un modera-- do incremento en el número de células cebadas y muy pocas de ellas-- en proceso de degranulación.

b).- Inflamación tardía.

La segunda inflamación que apareció en forma tardía al inocu-- lar el antígeno IBR, fué mayor en intensidad y duración que la pri-- mera (gráfica 1,2 y 3) (foto No. 2). Como en los lugares inoculados con el líquido testigo no apareció esta reacción, se puede concluir que esta reacción retardada fué específica a el virus de IBR. ----

Howard* nos informó que al inocular intradérmicamente un antígeno - preparado con una vacuna de IBR, inactivada con formalina al .05% se - presentó una reacción tardía. El principal cambio histopatológico - que el encontró en esta reacción fué una infiltración de células mo nonucleares de tipo linfoide semejantes a macrofagos y linfocitos. - Esta infiltración apareció desde las 24 horas después de haber ino- culado el antígeno y se localizaba formando islotes o cúmulos alre- dedor de las arteriolas. En forma muy parecida, en el presente tra- bajo, se observó que en los cortes correspondientes a la inflama- ción de tipo retardado, que ocurrió entre las 24 y las 72 horas -- después de haber inoculado el antígeno IBR la principal alteración- histopatológica fué una gran infiltración de células mononucleares- de tipo linfoide. Estas células se encontraban formando islotes peri vasculares en todas las capas de la piel. En la literatura revisada. (1, 2, 23, 25), se nos explica que esta infiltración perivascular - de células mononucleares de tipo linfoide que aparece en forma tar- día, es característica de las reacciones de hipersensibilidad célu- lar y que se puede considerar inmunológicamente específica.

Se sugiere que en experimentos futuros se intente poner de ma- nifiesto la sensibilidad al antígeno IBR, por parte de las células- linfoides de animales que dan reacción positiva a esta prueba intra- dérmica con el antígeno IBR. Lo anterior se puede lograr mediante - pruebas invitro con linfocitos de animales sensibles o tratando de transmitir la sensibilidad, pasivamente a un animal, no sensibili-

* Comunicación personal.

zado mediante la inyección de células linfoides de animales sensibilizados (9,25). Al combinar los resultados de los estudios histológicos con los de las pruebas in vitro y los de la transmisión pasiva de la sensibilidad, se tendrían resultados todavía más completos.

Cuando la inflamación cutánea comenzaba a declinar o sea después de las 96 horas, los islotes de infiltración leucocitaria se hicieron más densos y pequeños. Estos pequeños islotes no eran necesariamente perivasculares y sugirieron que quizás estaban localizados en los lugares en donde probablemente se hubiera acumulado -- el antígeno. Al 5o. día después de la inoculación del antígeno --- IBR, en la infiltración leucocitaria predominaban todavía las células de tipo linfoide. Pero el número de estas habían disminuido -- considerablemente.

A lo largo de esta segunda inflamación de tipo retardado, en las masas de infiltración de células linfoides, siempre se hicieron presentes algunos eosinófilos que resultaron más abundantes en la vaca "C", de la que solo se tomó una biopsia a las 72 horas. La diferencia que resultó en la vaca "C", en este período de inflamación no pareció ser muy significativa. Sin embargo se podría hacer cortes en mayor número de vacas para poder determinar si influyó - de alguna manera en la presentación de determinado tipo de leucocitos, el haber hecho varias biopsias, en el mismo animal.

Herbert (15) nos informa que en las reacciones cutáneas provocadas por la tuberculina es común encontrar un buen número de eosinófilos infiltrados. Recientemente Smith y Mengeling (1975) (31) -

hicieron pruebas intradérmicas en cerdos utilizando como antígeno - el virus de la pseudorabia inactivado por calor. Hay que destacar - que el virus de la pseudorabia y el virus de IBR son virus Herpes.- El virus inactivado de la pseudorabia causó una reacción cutánea de tipo retardado cuando se inoculó intradermicamente en cerdos anteriormente expuestos a un virus homólogo. Los cambios histopatológicos en esta reacción fueron típicos de una reacción de hipersensibilidad retardada con base celular. En esta inflamación retardada causada por el virus de pseudorabia las células infiltradas fueron células mononucleadas con una conspicua presencia de eosinófilos. En esta inflamación también existían numerosos focos de necrosis y -- por consiguiente era aparente la presencia de polimorfonucleares. - La presencia de numerosos focos necróticos en esta reacción nos hace pensar que el antígeno preparado con el virus de la pseudorabia provocaban una reacción de mayor intensidad que la provocada por el antígeno preparado con el virus de IBR.

III.- OBSERVACIONES GENERALES A TODOS LOS CORTES.

En ninguno de los cortes se observó necrosis tisular, ni con la inoculación del antígeno IBR, ni con la inoculación del líquido usado como testigo.

En ninguno de los cortes estudiados se pudieron observar células plasmáticas ni células gigantes multinucleadas.

CONCLUSIONES.

I) INOCULACION DEL LIQUIDO TESTIGO

- 1.1.- En algunas áreas inoculadas con el líquido testigo se provocó; inicialmente, una ligera inflamación de tipo inmediata.
- 1.2.- Esta ligera inflamación se encontró en algunos casos a los - 15 - 30 minutos y en otros a los 60 minutos, después de haber inoculado el líquido testigo.
- 1.3.- De las 6 a las 72 horas después de haber inoculado el líquido testigo no hubo cambios macroscópicos ni microscópicos.
- 1.4.- Los principales cambios histopatológicos observados en esta ligera inflamación fueron hiperhemia y vasodilatación.
- 1.5.- Esta ligera inflamación puede ser causada por la irritación-mécanica o por reacción a ciertas proteínas que contenía el líquido testigo; ya que se hicieron 2 inoculaciones previas de este líquido.

II).- INOCULACION DEL ANTIGENO IBR.

- II.1.- Con la inoculación del antígeno IBR se provocó una reacción que presentó 2 fases inflamatorias.
- II.2.- La primera fase correspondió a una inflamación de tipo inmediato que se presentó entre los 15-30 minutos a una hora -- después de la inoculación.
- II.3.- La segunda fase correspondió a una inflamación de tipo retardado que se detectó desde las 24 horas hasta el 5o. día después de la inoculación.

Inflamación de tipo inmediato.

II.4.- La primera inflamación de tipo inmediato, tuvo como principales alteraciones histopatológicas hiperhemia y vasodilatación, muy semejantes, microscópicamente a la ligera inflamación de tipo inmediato provocada por el líquido testigo.

II.5.- Las causas que provocaron esta inflamación de tipo inmediato, pudieron haber sido una hipersensibilidad de tipo inmediato, con base humoral, ante proteínas comunes al líquido control y/o al antígeno IBR, o a la irritación mecánica.

II.6.- Antes de que se hiciera manifiesto un segundo incremento en el grosor de la piel, se observó moderada infiltración de células polimorfonucleares que en base a la información existente en la literatura (1, 2, 25) probablemente carecía de especificidad antigénica.

Inflamación de tipo retardado.

II.7.- La segunda inflamación de tipo retardado fué de mayores dimensiones y duración que la primera.

II.8.- Los cambios histológicos encontrados en esta inflamación de tipo retardado fueron típicos de una reacción de hipersensibilidad retardada, con base celular.

II.9.- Se observó infiltración predominante de células mononucleadas de tipo linfocito formando islotes perivasculares en todas las capas de la piel.

II.10- Se observó una notable presencia de eosinófilos entre las masas de células mononucleadas infiltradas.

II.11.- La especificidad de esta prueba, a las 24-72 horas, es de utilidad para el diagnóstico de hatos previamente infectados con el virus de IBR.

BIBLIOGRAFIA

- (1).- BENACERRAF, B. and I. GREEN, 1969, Cellular hypersensitivity, Annual review of experimental medicine, California, 20:141.
- (2).- BLOOM, B.R., 1971, Vitro approaches to the mechanism of cell-mediated immune reactions, Advances in immunology, New York - and London, 13:102.
- (3).- COLE, L.R. and B. FAVOUR, 1955, Correlations alpha plasma protein fractions, antibody titers, and the passive transfer of - delayed and mediate cutaneous reactivity to tuberculin PPD -- and tuberculopolysaccharides, J. of Exptl. Med., 101:391
- (4).- CORREA, G.P., L. CARMICHAEL, R. SCHULTZ, 1975, Observaciones sobre la respuesta de los bovinos a una prueba de intradermo-reacción utilizando un antígeno preparado con el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina, en Resúmenes de la XII Reunión Anual de I.N.I.P.
- (5).- CORREA, G.P., L. CARMICHAEL, R. SCHULTZ, 1975, Observations - on the response of cattle to a skin test using infectious -- bovine rinotracheitis (IBR) inactivated antigen, Proceedings - of eighteenth annual meeting of the American Association of - Veterinary Laboratory Diagnosticians. Portland Hilton Hotel, Portland Oregon, November 2-7
- (6).- DARCEL, C. LE Q., and W. DORWARD, 1972, Skin reactivity and - infectious bovine rinotracheitis, Can. Vet. Jour., 13:100
- (7).- DAWE, D.L. BYERLY, J. BROWN, R. DAVIS, 1972, Skin test for -- the detection of Marek's disease-infected chickens, J. Am. -- Vet. Med. Ass., 158:1908.
- (8).- DE QUEVEDO, J.M., P. CORREA, J.M. BERRUECOS, 1975, Investigación serológica de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Tesis profesional para obtener el título de M.V.Z., FMVZ UNAM, México, D.F.
- (9).- EHRENKRANZ, J.N., H. WAKSMAN, 1956, Failure to transfer tuberculin sensitivity passively with plasma fractions containing - alpha globulin, J. of Exptl. Med., 104:935
- (10).- GELL, P.G., B. BENACERRAF, 1961, Delayed hypersensitivity to - simple proteins in Guinea pigs, Advances in immunology, New - York and London, 1:319
- (11).- GELL, P.G., B. BENACERRAF, 1961, The relationship between -- contact and delayed sensitivity: a study on the specificity -

- of cellular immune reactions, J. of Exptl. Med., 113:571
- (12).- GOLDSBERRY, S., L. CALHOUN, 1959, The comparative histology of the skin of hereford and Aberdeen angus cattle, Am. J. - Res., 20:61.
 - (13).- GRAHAM, F.M., 1975, La cooperación celular, La Recherche, 6:926
 - (14).- GRESHAM, G.A., 1971, Color Atlas of general pathology, 1a.- Ed, year book medical publishes, Chicago USA, 137.
 - (15).- HERBERT, W.S., 1972, In munología Veterinaria, 1a Ed. Editorial Acribia, España
 - (16).- HIRSCH, J.C., 1965, Neutrophil and eosinophil leucocytes. - En the inflammatory process, Academic Press, New York and -- London, 269.
 - (17).- HORST, D.D., 1971, Veterinary Histology, Ed. by Lea and Fieber, Philadelphia.
 - (18).- MACARIAN, H.Q., L. CALHOUN, 1966, Microscopic Anatomy of -- the adult swine skin, Am. J. Vet. Res., 27:765.
 - (19).- MAXIMOW, A., BLOOM, W., 1957, A textbook of Histology, 7a - Ed, W.B. Sanders Company, Philadelphia and London. 62.
 - (20).- Mc KERCHER, P.G., 1975, The Herpes Virus, Academic Press, - New York, 429.
 - (21).- MILLS, J.A., R. COOPERBAND, 1971, Lymphocyte Physiology, -- Annual review of experimental medicine, California, 22:185.
 - (22).- NAGLER, F.P., 1942, A Especific Cutaneous reaction in persons infected with the virus of herpes simplex, J. Immun., -- 48:213
 - (23).- NELSON, D.S., 1969, Macrophages and Immunity, North Holland publishing Company, Amsterdam and London, 144
 - (24).- PAPASOLOMONTOS, P.A., 1970, The inflammatory process in the - fowl, Ph. D. Thesis, University of London.
 - (25).- PEREZ, T., LARRALDE, C., KERTSCHMER, L.B., 1968, Inmunopatología, Ed, La Prensa Médica Mexicana, México D.F. 161.
 - (26).- PEREZ, D.R., A. URUCHURTU, M. ORDONEZ, 1972, Un estudio sobre el proceso inflamatorio de la vaca y la acción de la beta-metazona, Revista Veterinaria UNAM, 3:44.

- (27).- ROOK A.J., G. WALTON, 1965, comparative physiology and pathology of skin, 1a. Ed., Blakwel scientific publications,-- Oxford, 367
- (28).- ROK, F.O., 1953, Respuesta hematológica ante la tuberculina en tuberculosis pulmonar. Teses profesional para obtener el título de Q.F.B., UNAM, México, D.F.
- (29).- ROSE, H.M., 1952, Differences in the capacity of human serum to neutralize herpes simplex virus, J. Immun, 68:687
- (30).- RUNNERLS, R.A., S. MONLUX, A. MONLUX, 1960, 1960, Principles of Veterinary pathology, 5a Ed, Univ. Press, Iowa, USA.
- (31).- SANDRITTER, W., B. WARTMAN, W., 1969, Color atlas and textbook of tissue and cellular pathology, 3a Ed, Year book medical publishers Inc., Chicago, USA.
- (32).- SCHALM, O., 1964, Hematología Veterinaria, 1a Ed, Editorial-Uthea, México, D.F., 279.
- (33).- SHUSUKE, T., SHUNSAKJ, O., MORIO, O., TAKATEW I., 1964, J. - Immunol, 93:838
- (34).- SMITH, P.C., L. MENGELING, A skin test for pseudorabies virus infection in swine, abstracts of papers presented at the 56th. Annual Meeting of the conference of research workers in animal disease, La Salle Hotel. 10 North. La Salle Street, - Chicago Illinois 66 602. Dec. 1-2
- (35).- STAUB, O.C., 1970, Allergische Sofort-und spatreaktionen bei IBR-IPV- immunen Rinden, zbl. Bakt., Abt. Orig, 214:483
- (36).- TRAUTMAN, A., FIEBIGER, 1950, Histología y anatomía microscopica comparada de los animales domésticos, 1a Ed, Editorial Labor, España
- (37).- TURK J. L., S. RUPNER, J. KEATCHER, 1966, Intern-Arch. Allergy. Appl. Immunol, 30:248
- (38).- UHR, J., M. PAPPENHEIMER, M. YONEDA, 1957, Induction of Hypersensitiviti to diphteria toxin in Guinea pigs by infection with Corynebacterium diptheriae, J. of Exptl. Med. 105-1
- (39).- UHR, J., M. PAPPENHEIMER, M. YONEDA, 1957, Induction of ---- hypersensitiviti in Guinea pigs by means of antigen-antibody complexes, J. of Exptl. Med. 105:11
- (40).- WIENER, E., A. BEK, SHILD, M., 1965, Lab. Invest, 114:475

(41).- WILSER, J., 1971, Fundamentals of immunology, 3a Ed. by Kimpton, H., London.

(42).- WAWETS, E., COLEMAN, V., ALLENDE, 1951, Studies on herpes -- simplex virus, J. Immun., 67:197.