

Universidad Nacional Autónoma de México

---

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**Estudio Comparativo entre la Prueba Intradérmica y  
Prueba de MIF para Detección de Tuberculosis  
en Ganado Bovino**

**T E S I S**

*que para obtener el título de  
Médico Veterinario Zootecnista  
p r e s e n t a  
María Elena F. López López*

*México, D. F.*

1978

8042



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 ASESORES:

M.V.Z. AURORA VELAZQUEZ ECHEGARAY

M.V.Z. JUAN GARZA RAMOS

M.V.Z. ARTURO OLGUIN Y BERNAL

GRACIAS.

" ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA  
PRUEBA INTRADERMICA Y PRUEBA  
DE MIF PARA DETECCION DE TU-  
BERCULOSIS EN GANADO BOVINO".

## CONTENIDO

- I INTRODUCCION
- II MATERIAL Y METODOS
- III RESULTADOS
- IV DISCUSION
- V RESUMEN Y CONCLUSIONES
- VI BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION.

Debido a la alta incidencia de enfermedades infecciosas en nuestro medio y en varias partes del mundo, se hace cada día más necesario buscar nuevos métodos de detección y diagnóstico, fáciles de llevar a cabo y que sean seguros ó que sirvan como coadyuvantes a los ya existentes. Uno de los padecimientos de mayor importancia en nuestro medio por su alta incidencia y por las pérdidas económicas que causa al ganado y por su calidad de zoonosis es la tuberculosis. Por ello para detectarla se han desarrollado métodos IN VIVO e IN VITRO (22).

Entre éstos métodos se encuentra la medición de la respuesta inmune de base celular o respuesta de tipo retardado, en éste tipo de respuesta al igual que la de tipo inmediato se encuentra involucrada la transformación de células ya que se ha presentado en células estimuladas con un antígeno específico (12,6, 18,21,27) por lo mismo también se le llama respuesta inmune específica (24).

La respuesta de tipo retardado se puede ilustrar como sigue: La célula inmuno competente, al ponerse en contacto con el antígeno específico se activa, aumentando notablemente su metabolismo y sus procesos biosintéticos hasta llegar a la división celular. ---

Esta fase de transformación morfológica y de activación metabólica continúa por algunos días dando lugar finalmente a células efectoras, algunas de las cuales tienen la capacidad de liberar linfocinas que son productos solubles elaborados por los linfocitos T activados que actúan sobre otras células ampliando de este modo la respuesta inmune y que se producen en -- tan pequeñas cantidades que no ha sido posible su purificación.

Se han descrito hasta la fecha diferentes linfocinas: MIF (Factor de Inhibición de Migración), FQPMN (Factor Quimiotáctico para Polimorfonucleares), Factor Blastogénico, Linfotoxina, Interferon, FQM (Factor Quimiotáctico para macrófagos), FAM (Factor Armador de los Macrófagos) (5,23). Estas linfocinas a su vez movilizan células fagocíticas, las cuales se activan incorporándose a los mecanismos efectoras que resultan en la eliminación del antígeno. Además se sabe que el mecanismo efector de tipo celular y la respuesta de células T genera un sistema de células "cooperadoras", que aumentan considerablemente la respuesta humoral dirigida contra el mismo antígeno (16).

La respuesta inmune de base celular se manifiesta en la reacción a la tuberculina que es una de las formas IN VIVO de diagnóstico de la tuberculosis; es una

respuesta inflamatoria de la piel donde se aplica el antígeno y requiere de una sensibilización primaria - específica de las células. Esta reacción se desarrolla lentamente puesto que precisa tiempo para que los linfocitos se acumulen en las proximidades del antígeno, aunque concentraciones muy elevadas de ellos pueden formarse en ese lugar, de una forma que no es posible se produzca con una sustancia soluble como el anticuerpo (13).

En ésta prueba una pequeña cantidad (0.05 ml) de antígeno proteico purificado (PPD) obtenido del bacilo tuberculoso se inyecta intradérmicamente, siendo la piel de la tabla del cuello el lugar más comunmente utilizado (7,25).

Hay otra prueba que es la más simple llamada prueba intradérmica sola, donde 0.05 ml de PPD es inyectado en un pliegue anal y es examinado 72 - 96 horas -- después, la observación es entre uno y otro pliegue. - Otra variante de ésta prueba practicada en los Estados Unidos es la inyección doble en la unión mucocutánea de la vulva (25).

Se ha visto que la tabla del cuello es una zona - más sensible que los pliegues anales, pero la sujeción del animal es más problemática (25).

En la prueba simple no se distingue si es positivo a paratuberculosis ó a Micobacterium bovis y puede dar reacción cruzada con Nocardia, en ésta prueba es relativamente alta la prevalencia de animales positivos (25).

Su principal inconveniente es que puede dar falsos negativos a: animales con enfermedad crónica de tuberculosis, que hayan parido 4 - 6 semanas antes de la prueba, en animales que adquirieron la enfermedad recientemente, en animales muy viejos ó si se les hizo otra prueba dentro de las 10 semanas anteriores a la fecha (25).

La prueba doble se aplica generalmente en la tabla del cuello en la cual se inyecta tuberculina aviar y tuberculina mamífera en distintos sitios y el resultado es que: si hubo un aumento mayor en el sitio de la inyección de la tuberculina mamífera es que el animal es positivo a tuberculosis, y si el aumento es mayor donde se aplicó la tuberculina aviar el animal puede ser positivo a paratuberculosis (25).

Otra prueba es en la que se inyecta subcutáneamente gran cantidad de tuberculina y se toma la temperatura dentro de las 4 - 8 horas siguientes siendo positivos aquellos animales que presenten una elevación -

de la temperatura mayor de 1.5 °F ó que presenten --- neutrofilia después de 6 horas (25).

Existe otra prueba llamada de Storner en la cual se inyectan las dos tuberculinas en un mismo sitio -- con 7 días de diferencia (25).

Después de varias aplicaciones de cualquiera de - éstas pruebas intradérmicas pueden causar que resulte un animal como falso positivo en pruebas serológicas (7,25).

En la prueba doble de tuberculina aplicada en la tabla del cuello da como resultado que si un animal - padece una infección tuberculosa, aparece en el lugar de la inoculación en los días inmediatamente siguientes una reacción que consta de un engrosamiento de la piel, debida a la infiltración de gran número de células linfocitarias y de macrófagos y a la acumulación de líquido edematoso, hay vasodilatación e incremento de la filtración vascular, eritema y la hinchazón es característicamente dura, en reacciones severas puede producirse necrosis (7,25), incluso pecueñísimas cantidades de antígeno pueden producir gran inflamación en forma de placa en un animal infectado (7).

La respuesta máxima se alcanza hacia las 24 - 72 horas posteriores a la aplicación del antígeno y ésta

permanece por varias semanas, ésta reacción es una -- respuesta inmune específica mediada por células T ; en donde las células T sensibilizadas específicamente que están circulando se encuentran al antígeno y se acumulan y permiten la linfoquinesis (3,7,25).

Para el diagnóstico de la tuberculosis, por medio de la medición de la respuesta inmune de base celular, también se han descrito métodos IN VITRO, entre éstos métodos se encuentra la prueba de MIF (Factor de Inhibición de Migración) ó técnica de tubos capilares.

Esta técnica fué introducida por George y Vaughan; consistente en células peritoneales de cobayos a partir de células sensibilizadas por antígeno específico (24), la inhibición de migración se presenta al contacto con el antígeno específico (8,19). Esta técnica puede ser usada en células de nódulos linfáticos humanos ó en cultivo de tejidos para evaluar indirectamente IN VITRO la respuesta de hipersensibilidad retardada.

Thor introdujo la migración de macrófagos a la población de células obtenidas de ganglios linfáticos humanos en cultivo y presentó evidencia del fenómeno de transferencia a células normales con preparaciones de RNA obtenido de células sensibilizadas (4,8,9,10,-

11,13,19,20). Al momento que se ponen en contacto el antígeno y los linfocitos se producen tres etapas que son: La primera de reconocimiento de los linfocitos al antígeno que previamente ha estado en contacto con el sistema inmune; en seguida de los cambios iniciales se produce la segunda etapa que es la proliferación celular; la tercera etapa es cuando los linfocitos atraviesan por la etapa de actividad que puede ser la producción de una proteína que mediatiza la inhibición de migración de los macrófagos además de linfocinas citotóxicas y control de la respuesta inmune ya sea por cooperación o supresión (6,19).

Para que haya inhibición de migración es necesaria la síntesis de proteína además de otros cambios como conversión de cromatina nuclear procedente de heterocromatina a eucromatina (14), alargamiento de las células, síntesis de DNA y división celular (26), ésto se demostró con la puromicina (8).

Rich y Lewis en un experimento hecho con células de ganglios linfáticos y células del bazo observaron que los que se inhibieron por el antígeno fueron los macrófagos pero no los linfocitos (1,8).

Se hizo un experimento con células de nódulos linfáticos los cuales presentaron hipersensibilidad re-

tardada con tuberculina PPD en los cuales no hubo --- inhibición con antígeno PPD en cambio con células peritoneales sí hubo inhibición (1,8).

Mezclando ambas si hay inhibición de migración -- hasta en un 15 - 35% de células de nódulos linfáticos; de esto se sugirió que se necesitan dos tipos de células diferentes, las células sensitivas de ganglios -- linfáticos y las células de exudado peritoneal (macro fagos) (1,8). Esto hace pensar que los linfocitos poseen la información inmunológica y los macrofagos es el indicador que migra, se propuso entonces que la -- inhibición era mediada por una substancia elaborada -- por los linfocitos (1,8).

La especificidad de la inhibición de migración se demostró agregando ovoalbumina y toxoide diftérico en cobayos mediante el método de Uhr y otros (8).

En otro estudio hecho para probar la especificidad se incubaron células con PPD e histoplasmina, al poner los antígenos las células sensibles a histoplasmina se inhibió su migración con histoplasmina y las células sensibles a PPD se inhibió su migración con PPD (2,24); cuando el exudado contenía menos de 0.5 % de linfocitos no hubo migración (2).

Ruddle ha descrito recientemente un nuevo fenómeno

no que parece establecer un mecanismo común entre el efecto citotóxico de células linfoides sensibilizadas específicamente sobre células blanco de inmunidad al homoinjerto de Rosenau y Moon y la inhibición de migración de macrófagos en hipersensibilidad retardada discutido por David (11).

La hipersensibilidad retardada no se puede transmitir de un animal sensible a un animal sano por medio de suero, únicamente por células vivas como linfocitos (25).

El objetivo del presente trabajo es comparar las lecturas obtenidas de la prueba intradérmica doble -- con tuberculina en bovinos productores de leche con -- los resultados que se obtengan en la prueba de MIF -- desarrollada IN VITRO, en la que se utilice como antígeno tuberculina mamífera y tuberculina aviar; se espera que el empleo de los dos tipos de tuberculina -- permita identificar las reacciones inespecíficas como ocurre en la prueba intradérmica.

**Material biológico.-**

50 bovinos Holstein, hembras en producción de leche, en explotación intensiva, la edad varia entre 2 y 8 años, pertenecientes al Centro Nacional para la Educación, Investigación y Extensión de la Zootecnia, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México; sito en Tepotzotlán estado de México.

Tuberculina mamífera (Tuberculin PPD mamalian, Central Veterinary Laboratory, Weybridge Inglaterra).

Tuberculina aviar (Tuberculin PPD avian, Central Veterinary Laboratory, Weybridge Inglaterra).

**Método.-**

Prueba intradérmica doble de tuberculina.- Para la realización de ésta prueba se hizo según se describe en la tesis profesional de Chávez Melo (7).

La interpretación fué según el siguiente criterio: En el lugar de la inyección de la tuberculina mamífera el aumento de grosor de la piel se determina con un Vernier, mm positivos; mientras que, cuando el aumento de grosor fué en la zona de aplicación de tuberculina aviar fué en mm negativos; finalmente se hizo una suma algebraica y se interpretó como sigue: (7)

I	mm negativo	negativo
II	0.6 a 1.5 mm positivo	negativo
III	1.6 a 2.9 mm positivo	sospechoso
IV	3 mm positivo ó más	positivo

#### Prueba de MLF.-

Se sangraron los animales con tubo y aguja Vacu-tainer de la vena o arteria coxígea, la cantidad de 20 ml aproximadamente, con 0.1 ml de heparina como - anticoagulante, se pesaron los tubos y centrifugaron durante 30 minutos a 1,500 rpm; con una pipeta Pas--teur se extrajeron los globulos blancos y se colocaron en otro tubo estéril sin anticoagulante, a éste se le adicionó 2.5 ml de agua destilada estéril, a los 30 segundos se le añadió 2.5 ml de solución Alsever 2x, se resuspendieron perfectamente, se pesaron nuevamente y se centrifugaron a 1,500 rpm durante 10 minutos (debe ser la misma cantidad de agua y de solución Alsever), se decantaron y se agregó 5 ml de - solución Alsever normal, se resuspendieron perfecta-mente y se centrifugaron durante 10 minutos a 1,500 rpm, se tiró el sobrenadante y se le agregó nuevamen- te 5 ml de solución Alsever normal, se volvieron a - resuspender y centrifugar durante 10 minutos; a 1,500 rpm, se decantaron y se les agregó 1 ml de medio de

cultivo mínimo de Eagle a cada muestra, se resuspendieron y se llenaron los tubos capilares (dos para cada lado de la cámara), se sellaron al fuego y se centrifugaron 5 minutos a 1,500 rpm, se cortaron con un lápiz de punta de diamante donde se encontraba la línea de globulos blancos y se colocaron en las cámaras de Bloom sostenidos con silicón. Se cerraron las cámaras con cubreobjetos sellados con parafina, se utilizó una cámara como testigo, una cámara para tuberculina mamífera y una cámara para tuberculina aviar. Se llenó la cámara con medio de cultivo mínimo de Eagle, se le agregó 0.1 ml de antígeno, se dejaron en posición vertical 5 - 10 minutos para que sedimentaran parejo, se sellaron los orificios con parafina y posteriormente se colocaron en forma horizontal, se pusieron a incubación 24 horas a 37 °C ; la migración forma un abanico en el piso de la cámara; si el antígeno específico se encuentra en el medio, los linfocitos producen la linfocina MIF y la migración es inhibida.

Pasadas las 24 horas de incubación se leyeron -- con un retroproyector, se dibujó la sombra proyectada en un papel blanco y se recortó, procurando no -- tocar el área de migración con los dedos, se pesaron y se sacó el porcentaje de inhibición. La migración

correspondiente al testigo se consideró como 100 % y la de la cámara con tuberculina mamífera y aviar se compararon con dicha cifra (6,17).

Para la interpretación se consideró el siguiente criterio: (6,17)

- I Testigo 100 % de migración
- II Aviar Tanto por ciento del testigo con -- signo negativo
- III Mamífera Tanto por ciento del testigo con -- signo positivo
- IV Suma algebraica entre 2 y 3 y si el resultado -- era mayor de más 20 el animal se consideró positivo.

## CUADRO No. 1

Resultados de la prueba de tuberculina intradérmica  
doble comparativa (realizada antes de la prueba de  
MIF).

Total de animales:	50
Animales negativos:	49
Animales sospechosos:	0
Animales positivos:	1

---

## CUADRO No. 2

Resultados obtenidos en la prueba de MIF, utilizando los mismos antígenos (tuberculina aviar y tuberculina mamífera).

Total de animales:	50
Animales negativos:	40
Animales sospechosos:	0
Animales positivos:	10

---

## CUADRO No. 3

Resultados de la prueba de tuberculina intradérmica  
doble comparativa (realizada después de la prueba -  
de MIF).

Total de animales:	50
Animales negativos:	46
Animales sospechosos:	1
Animales positivos:	3

---

## CUADRO No. 4

Resumen comparativo de los resultados de las tres -  
pruebas, de los animales positivos.

Vaca No.	Prueba intradérmica		Prueba de MIF
	anterior	posterior	
9	-	-	pos.
21	-	-	pos.
29	pos.	pos.	-
33	-	-	pos.
115	-	-	pos.
123	-	-	pos.
134	-	-	pos.
147	-	pos.	-
162	-	-	nos.
202	-	-	pos.
245	-	pos.	-
248	-	-	pos.
249	-	-	pos.
250	-	sosp.	-

En los cuadros se presentan los resultados obtenidos, tanto de la prueba de tuberculina doble comparativa como de la prueba de MIF (Factor de Inhibición - de Migración) registrados en el presente trabajo.

La discrepancia entre los resultados de la prueba de MIF y la prueba doble comparativa puede explicarse por varias razones entre las que pudieran incluirse - las siguientes:

Mal desarrollo de la prueba; en relación a ésta - posibilidad es interesante señalar que se hicieron -- repeticiones de algunas de las pruebas positivas y negativas y en éstos casos, los resultados fueron reproducibles, ésta situación parece indicar que los datos positivos de la prueba de MIF efectivamente corresponden a animales con respuesta inmunológica al antígeno.

Otra posible explicación sobre la discrepancia -- entre los resultados de la prueba intradérmica y de - MIF pudieran ser provocados por posibles modificaciones del estado fisiológico de los animales analizados que provoca cambios en la respuesta inmunológica (25) tal pudiera ser el caso de animales con enfermedad -- crónica de tuberculosis, que hayan parido 4 - 6 semanas antes de la prueba, en animales que adquirieron - la enfermedad recientemente, animales muy viejos ó en aquellos que se les hizo otra prueba dentro de las 10

semanas anteriores a la fecha (25).

La interpretación de la prueba de MIF fué hecha tomando un criterio semejante al que se emplea para interpretar la prueba de tuberculina intradérmica -- doble comparativa.

Será necesario que en posteriores trabajos se determine si el criterio utilizado en ésta ocasión resulta el más adecuado para la interpretación de los resultados, es factible que modificando el criterio puedan reducirse las discrepancias encontradas en -- algunos animales analizados, particularmente en ---- aquellos casos en los que la prueba intradérmica doble los resultados fueron positivos y negativos en -- la prueba de MIF o viceversa.

Se recomienda que se hagan otros trabajos que -- permitan determinar la efectividad de la prueba de -- MIF para identificar que animales tienen una respues ta inmune contra M. tuberculosis.

Sin embargo las pruebas presentan ventajas y des ventajas una sobre otra como son:

La MIF es más difícil de llevar a cabo porque se necesita personal entrenado.

La prueba de MIF no requiere un manejo excesivo

de los animales.

Los resultados son obtenidos más rápido en comparación con la prueba intradérmica.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

El objetivo del trabajo fué comparar los resultados de la prueba intradérmica doble comparativa de tuberculina en bovinos productores de leche, con los resultados obtenidos en una prueba de inhibición de migración desarrollada IN VITRO en la cual se utilizó como antígeno tuberculina mamífera y tuberculina ---aviar; con el propósito de encontrar un método más rápido y específico que pudiera ser utilizado como na técnica adicional en el diagnóstico de tuberculosis -bovina, así como identificar al emplear los dos tipos de tuberculina las reacciones inespecíficas como ocurre en la prueba intradérmica doble comparativa.

Hasta la fecha la prueba más frecuentemente utilizada ha sido la prueba doble comparativa (7) pero resulta complicado evaluar su eficiencia a nivel de campo, y es por ésto que se han buscado métodos más prácticos para su detección como el método de MIF que pudiera ser utilizado como una técnica de substitución o corroboración de resultados.

Se emplearon 50 bovinos Holstein Friesian a los -cuales se les aplicó por vía intradérmica tuberculina mamífera y aviar y se analizaron los resultados en --

dos ocasiones con un lapso intermedio de 4 meses.

En el período comprendido entre ambas pruebas intradérmicas se obtuvo sangre periférica y se realizó en cámaras de cultivo de Bloom la prueba de inhibición de migración después de separar los globulos blancos y depositarlos en medio de cultivo mínimo de Eagle adicionado de tuberculina mamífera ó tuberculina aviar o en ausencia de antígeno en los controles.

Después del período de incubación se realizó la lectura determinando el porcentaje de inhibición de migración, comparando las muestras con antígeno a las testigo.

Los resultados indicaron que en la prueba de inhibición de migración se obtuvo el 20 % de animales positivos, en tanto que en la prueba intradérmica previa se obtuvo el 2 % de animales positivos y en la posterior el 2 % de animales sospechosos y el 6 % de animales positivos.

La discrepancia entre los resultados es discutida, al señalar entre otras posibles explicaciones las siguientes: Mal desarrollo de la prueba, modificaciones en el estado fisiológico de los animales analizados, inespecificidad de los antígenos utilizados lo que --

podiera dar lugar a falsas lecturas positivas o negativas.

Resultaría conveniente para poder corroborar la validéz de éste trabajo que se hicieran exámenes clínicos (25), bacteriológicos (25), serológicos (25) y --- post-mortem (25) que pudieran determinar si los hallazgos de la prueba de MIF y/ó de la prueba doble comparativa son verídicos.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Bloom R. Barry and Bennett Boyce. Migration inhibitory factor associated with delayed-type hypersensitivity. Federations proceedings 27:(2):1315 (1968)
- 2 Bloom R. Barry and Bennett Boyce. Delayed hypersensitivity IN VITRO: The mechanism of inhibition by antigen of cell migration. Federations proceedings 25 : 355 (1966)
- 3 Benacerraff B. Cytophilic immunoglobulins and delayed hypersensitivity. Federations proceedings 27 (1) : 46-48 (1968)
- 4 Bloom Barry R. and Bennett Boyce. Mechanism of a reaction IN VITRO associated with delayed-type hypersensitivity. Science 153: 80-82 (1966)
- 5 Chapa Ruiz María del Rosario. Métodos de evaluación de la inmunidad celular. Laboratorio de Inmunología INIP SARH (1976)
- 6 Chapa Ruiz María del Rosario. Comunicación personal.
- 7 Chávez Melo Juan Francisco. Prueba de fijación de complemento para detectar anticuerpos contra

- Mycobacterium tuberculosis en sueros de bovinos de un hato bajo control de tuberculosis. Tesis profesional. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM --- (1975)
- 8 David John R. Macrophage migration intersociety simposium. Federations proceedings. 27(1): 6-12 (1968)
- 9 David John R., Lawrence H.S. and Thomas L. Effect of sensitive cells on normal cells in the presence of antigen. Journal of immunology 93: 274-278 (1964)
- 10 David John R., Al-Asakari S., Lawrence H.S. and Thomas L. The specific of inhibition of cell migration by antigens. Journal of immunology 93: 264-272 (1964)
- 11 David John R., Lawrence H.S. and Thomas L. The specific of hapten protein conjugates in the inhibition of cell migration. Journal of immunology 93: 279-282 (1964)
- 12 Dutton Richard W. Discussion of lymphocyte transformation. Federations proceedings. 27(1):33 -- (1968)
- 13 Fireman Philip, Boesman Mary, Haddad Zari and Gritlin David. IN VITRO pasive transfer of tuber

- culin reactivity. Federations proceedings. 27(1)  
: 29-30 (1968)
- 14 Hirschhorn K. Discussion of lymphocyte transformation. Federations proceedings. 27(1):31-32 ---  
(1968)
- 15 Herbert W.J. Inmunología veterinaria. Ed. 'cribia  
Zaragoza (1972)
- 16 Jimenez Zamudio Luis. Evaluación de la respuesta  
inmunológica de tipo celular. Memorias del primer  
congreso nacional de inmunología, Oaxtepec More--  
los. (1976)
- 17 Jimenez Zamudio Luis. Comunicación personal.
- 18 Kite H. Joseph. Discussion. Federations procee--i-  
dings. 27(1): 42-44 (1968)
- 19 Lawrence H.S. IN VITRO correlates of delayed hi--  
persensitiviti. Federations proceedings 27(1):  
3-5 (1968)
- 20 Nelson D.L. Macrophages and immunity. Frontiers -  
of Biology. Australia (1969)
- 21 Oppenheim Joost J. Relationship of IN VITRO lyn--  
phocyte transformation to delayed hypersensitiviti  
in guinea pigs and man. Federations proceedings  
27(1): 21-28 (1968)

- 22 Rosenau Werner. Target cell destruction. Federations proceedings. 27(1):34-43 (1968)
- 23 Saunenberg Arthur M. Jr. Cellular hypersensitivity and cellular immunity in the pathogenesis of tuberculosis: Specificity, systemic and local -- nature, and associated macrophage enzymes. Bacteriological reviews. 32(2): 85-96 (1968)
- 24 Thor Daniel E. Human delayed hypersensitivity: -- an *IN VITRO* correlate and transfer by an SNA extract. Federations proceedings. 27(1): 16-20 --- (1968)
- 25 Tizar I/M R. Veterinary Immunology. Saunders --- Philadelphia, London, Toronto. (1977)
- 26 Waksman Byron H. Discussion. Federations Proceedings. 27(1): 45 (1968)