



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**ADMINISTRACION DE SUERO CON ALTO CONTENIDO DE
INMUNOGLOBULINAS COMO COMPLEMENTO AL CALOSTRO
Y SU EFECTO SOBRE EL DESARROLLO DE LOS BECERROS**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
LEOBARDO BARCELO MIRANDA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES
CON MUCHO RESPETO
GRATITUD Y CARINO.

A MIS HERMANOS

A MI ESPOSA GLORIA
CON MUCHO AMOR POR
SU AYUDA Y COMPRENSION

A MIS HIJAS
CLAUDIA GISEL Y ROSA ISELA
CON MUCHO CARIÑO Y AMOR

A MIS ASESORES, SEÑORES
JUAN GARZA RAMOS Y
FERNANDO QUINTANA ASENCIO
EN AGRADECIMIENTO A SU
DESINTERESADA COLABORACION.

AL H. JURADO EXAMINADOR

M.V.Z. JORGE FLORES MENENDEZ

M.V.Z. ENGLANTINA ZAVALA DE L.

M.V.Z. ALINE S. DE ALUJA

M.V.Z. LUIS ANTONIO BASURTO

M.V.Z. JUAN GARZA RAMOS

I N D I C E

	Página
I INTRODUCCION	1
II MATERIAL Y METODOS	6
III RESULTADOS	11
IV DISCUSION	14
V RESUMEN Y CONCLUSIONES	20
VI BIBLIOGRAFIA	22

INTRODUCCION

México importó leche en polvo en el año de 1975 por valor de 1375 millones de pesos y además 100 mil vacas de ganado lechero que conjuntamente costaron más de dos mil millones de pesos. Por lo anterior resalta la importancia de los trabajos que se realicen en nuestro país, que permitan incrementar la producción nacional y disminuir las importaciones.

Uno de los problemas más graves que afectan a la ganadería lechera nacional está representado por la elevada morbilidad y mortalidad que aqueja a los becerros entre el nacimiento y el destete (16,20). En explotaciones de ganado bovino especializado en la producción de carne, ésto no es un problema grave, ya que los estudios realizados han revelado la cifra de 5.1% --- (20), que se considera dentro de los rangos normales.

La mortalidad promedio en explotaciones de ganado bovino productor de leche en México, donde se han hecho estudios, es alrededor del 20 al 25% en becerros (16) la cual es demasiado alta y ha provocado que en un gran número de estas explotaciones no se críe a los becerros, sino que éstos se vendan después de nacidos y se compren frecuentemente terneras de importación, para reponer las vacas de desecho, elevar el nivel genético y aumentar la producción.

De la alta mortalidad que se presenta en estos becerros, el 55% ocurre durante la primera semana de vida y el 27% durante la segunda (13). Las causas de esta elevada mortalidad se han estudiado en cuanto a características de manejo, alojamientos, influencia del clima y enfermedades que afectan a los becerros recién nacidos (2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 15, 29). De éstas, las presentaciones patológicas neuromoentéricas son las más frecuentes y las de mayor importancia económica, ya que son las principales responsables de la alta morbilidad y mortalidad.

La protección de los becerros recién nacidos a las infecciones se obtiene principalmente por la inmunidad adquirida en forma pasiva a través del calostro (8, 23, 25, 27).

La permeabilidad intestinal permite una absorción mayor de inmunoglobulinas, mientras más pronto se proporciona el calostro después del nacimiento al becerro (22). Por lo anterior muchos autores han estudiado los mejores sistemas de manejo que permitan la mayor absorción posible de inmunoglobulinas proporcionadas por el calostro (2,3,16,). La recomendación principal ha sido que se proporcione el calostro tan pronto como sea posible después del nacimiento, y que éste se realice en un medio ambiente adecuado en cuanto a higiene, instalaciones, manejo de vacas antes y después del parto, etc. (3,8,15,16). En cuanto a higiene, recientemente se ha sugerido que los parideros deben ser desinfectados con cal antes y después del parto y colocárseles paja seca y limpia.

Por lo que respecta a instalaciones, de acuerdo con algunos autores los parideros deberían ser individuales y tener---

una dimensión mínima de 4 por 5 metros con únicamente 3 paredes de 1.80 de alto, comederos, bebederos y reja de acceso al frente (16). El manejo de vacas al parto y después, influye para que -- los becerros recién nacidos adquieran inmunidad a las principa-- les enfermedades neonatales. Se requiere implementar métodos que permitan que los neonatos ingieran por lo menos el 10% de su peso en calostro dentro de las primeras 6 horas de vida mamándolo directamente de la ubre materna (16). Los requisitos complementarios para que el sistema tenga éxito son: (16)

- 1.- Que el parto ocurra en un paridero individual.
- 2.- Que la vaca permanezca en un paridero individual desde dos -- semanas antes del parto o un mínimo de 5 días antes.
- 3.- Que la vaca y el becerro permanezcan juntos en el paridero -- por lo menos 18 horas después del parto.
- 4.- Que durante esas 18 horas posparto no haya intervención humana ni de otros animales.

Sin embargo, las recomendaciones anteriormente citadas en cuanto a higiene, manejo de vacas parturientas, presentan -- graves dificultades para ser llevadas a la práctica ya que re---- quieren para su ejecución de una mejora en las instalaciones y -- en la mano de obra modificando sensiblemente las inversiones y -- los costos actuales de las explotaciones lecheras.

Es deseable que se desarrollen métodos que permitan lo

grar con un mínimo de inversión un beneficio alto para que sean más productivas las explotaciones de becerros y lograr que disminuyan las importaciones actuales de hembras de reemplazo, en tanto que los machos puedan ser destinados a engorda.

Algunos autores han sugerido que se deseche a los becerros con bajos niveles de inmunoglobulinas, ya que se ha comprobado que existe relación estrecha entre éstos y la protección a enfermedades. Para evaluar el nivel de inmunoglobulinas adquiridas por el becerro, se han empleado principalmente las pruebas de turbidez por sulfato de zinc, sulfito de sodio, sulfato de amonio e inmunodifusión radial (2,6).

En gran breaña se han administrado inmunoglobulinas por vía parenteral y por vía oral como sustituto del calostro. Las inmunoglobulinas administradas parenteralmente han protegido a los becerros contra la septicemia, sin influir en la inmunidad a nivel intestinal. Las inmunoglobulinas administradas oralmente después del período de absorción inhiben las enfermedades entéricas más no la presentación de la septicemia (11).

Un problema semejante de elevada mortalidad neonatal se presenta en cerdos (26). Se ha demostrado que la administración suplementaria de inmunoglobulinas y/o suero junto con el calostro disminuye la morbilidad y mortalidad de los lechones neonatales y les permite alcanzar un peso al destete mayor en forma altamente significativa a un nivel de $P = 0.01$ (10)

Tomando en cuenta que se han administrado inmunoglobulinas como sustituto del calostro y se ha demostrado que protegen a los becerros, y considerando que por otro lado se ha recomendado que el calostro se proporcione lo antes posible después del nacimiento para lograr niveles más elevados de inmunoglobulina, el objetivo de este trabajo es determinar si la administración suplementaria neonatal por vía oral de suero además del calostro, permite disminuir las pérdidas que afectan a las explotaciones en donde se crían becerros.

II- MATERIAL Y METODOS

Material Biológico.

Se utilizaron 30 becerros, 13 machos y 17 hembras, raza Holstein-Friesian a partir del nacimiento hasta los 60 días de edad. El trabajo se desarrolló de noviembre de 1975 a febrero de 1976, en el Centro Nacional para la Educación, la Investigación y la Extensión de la Zootecnia (Rancho 4 Milpas), localizado en Tepozotlán, Edo. de México, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Métodos.

Para obtener el suero estéril que se proporcionó a un grupo de animales al nacimiento, se sangraron 6 vacas secas, las cuales tenían viviendo un mínimo de 4 años en la explotación y se obtuvo un litro de sangre por punción de las venas yugulares de cada vaca. Para esto se utilizaron dos agujas de 5 centímetros de longitud y calibre 16, conectadas con un equipo de venoclisis a un frasco estéril al vacío, la sangre una vez colectada se mantuvo primero a temperatura ambiente durante tres horas y posteriormente en refrigeración por 15 horas. Ya formado el coágulo se juntaron y decantaron los sueros en tubos estériles de 250 ml de capacidad y se centrifugaron a 2000 r.p.m. durante 30-

minutos. El suero obtenido se colectó en frascos estériles de un litro y se pasó a goteo lento por un esterilizador de luz ultravioleta de flujo continuo (*), el suero fue colectado en forma estéril en frascos de 100 ml. con 60 ml del producto que fueron mantenidos a 20°C hasta su empleo.

Del suero obtenido se hicieron siembras en diferentes medios de cultivo para asegurar su esterilidad.

Forma de empleo del suero.- Para proporcionar el suero a los becerros se utilizaron 15 jeringas estériles desechables de 20 ml utilizando una jeringa para cada becerro. El suero fue descongelado antes de administrarse. Cuando se aplicó en forma subcutánea se desinfectó previamente la región.

Además se realizó un análisis electroforético en tiras de acetato de celulosa para determinar la proporción de las diferentes fracciones proteicas del suero y en particular las gammaglobulinas (7), y una prueba de Biuret para conocer la concentración de proteínas. (4)

Diseño Experimental.

Las madres de los becerros que se utilizaron en el experimento fueron separadas dos meses antes de la fecha prevista-

(*) J. J. Dill Co. Kalamazoo, Mich. E.U.A.

de parto, se les sacó y trasladó al corral de vacas secas, en -- donde permanecieron aproximadamente 45 días. 15 días antes del - parto se trasladaron a otro corral, y al observarse los signos - se introdujeron al paridero individual correspondiente.

Tomando en cuenta que el propósito del trabajo era de- terminar si suero estéril con gamaglobulinas específicas propor- cionado por vía oral a los becerros inmediatamente después del - nacimiento en forma suplementaria al calostro modificaba la mor- bilidad y mortalidad, se dividió a los animales estudiados en -- dos grupos.

Los 15 becerros del grupo 1 y los 15 restantes del gru- po dos fueron pesados al nacimiento, se les desinfectó el ombli- go dentro de las primeras 18 a 24 horas después de nacidos y fue- ron aretados para identificarlos.

A los becerros del grupo I les fueron proporcionados - 60 ml litros de suero estéril con gamablobulinas específicas den- tro de las primeras 4 horas. Seis de estos animales recibieron - el suero por vía oral dentro de los primeros 90 minutos después- del nacimiento y los 9 becerros restantes 30 ml por vía oral y - 30 ml por vía subcutánea, después se les permitió tomar calostro
AD LIBITUM.

Los 15 becerros del grupo 2, tomaron solamente calos--

tro y quedaron como testigos.

Para asegurar que la asignación de los becerros al grupo tratado o control fuera al azar se trató a los becerros alternativamente según fueran naciendo, es decir, se trató a un animal con suero y a otro no. Al personal encargado del cuidado de los becerros no se le puso en antecedentes del experimento y por lo tanto no sabían cuales eran los animales tratados y cuales -- los controles lo que aseguró el mismo trato a los individuos de ambos grupos.

Para tratar de determinar la influencia que algunos -- factores climáticos pudieran tener sobre la morbilidad y mortalidad de los becerros se obtuvo información sobre temperaturas --- máxima y mínima, humedad relativa, precipitación pluvial y vientos durante los meses que comprendió el trabajo.

Se llevaron controles individuales de los animales de ambos grupos sobre su estado de salud, días en que fueron tratados contra diferentes padecimientos infecciosos, los medicamentos administrados y la mortalidad que se presentó.

Asimismo, 72 horas después de nacidos, se sangró a los becerros y con el suero obtenido se hicieron pruebas para determinar las unidades de inmunoglobulinas por medio de sulfato de zinc. (6).

A los 3 días de nacidos los becerros se separaron de las madres, fueron colocados en becerrerías individuales y se les proporcionaron 2 litros de sustituto lácteo en la mañana y 2 en la tarde, el cual era calentado a una temperatura de 36°C antes de administrarse y además se les proporcionó concentrado ----- AD LIBITUM. Los animales fueron pesados a los 60 días de edad.

Para determinar si las diferencias encontradas entre los 2 grupos de animales estudiados eran estadísticamente significativas, se hicieron análisis de los datos. La mortalidad entre ambos grupos se comparó usando la prueba χ^2 (tablas de contingencia) (24). Los datos de los niveles de inmunoglobulinas y días de tratamiento entre los becerros del grupo control y tratado, se analizaron usando la prueba det(24).

Debido a la heterogeneidad encontrada en las varianzas de las variables: costos de los medicamentos administrados y aumento de peso entre el nacimiento y 60 días, se usó la prueba -- propuesta por Scheffe para comparación de poblaciones con una varianza no homogénea. (21)

III- RESULTADOS

El cuadro 1 muestra el número de animales estudiados y los datos obtenidos sobre mortalidad, niveles de inmunoglobulinas, días de tratamiento, costos de los medicamentos dados y aumento de peso entre nacimiento y 60 días para ambos grupos, así como los resultados del análisis estadístico realizado con los datos obtenidos.

CUADRO I

	<u>BECERROS</u>	
	<u>Tratados</u> (60 ml. de suero estéril, más calostro)	<u>Controles</u> (Sólo ca- lostro)
Número de animales	15	15
Muertos +	2	4
Proporción de mortalidad	0.13	0.26
<hr/>		
Niveles de Inmunoglobulinas (promedio)++ (Unidades ZST).	26.6	19.4
Desviación estándar	9.61	9.11
Diferencia en porcentaje	+37.1	- - -
<hr/>		
Días de tratamiento de Infecciones ++ (promedio).	2.9	4.8
Desviación estándar	1.378	2.441
Diferencia en porcentaje	-39.4	- - -
<hr/>		
Costo de los medicamentos dados como tratamiento (promedio)+	\$24.11	\$45.20
Desviación estándar	15.57	45.4
Diferencia en porcentaje	-46.6	- - -
<hr/>		
Peso al nacimiento en Kg. (promedio)+	40.77	38.95
Aumento de peso en Kg. entre nacimien- to y 60 días de edad (promedio)+	17.5	15
Desviación estándar	27.3	15.25
Diferencia en porcentaje	+16.6	- - -
<hr/>		

+ Diferencia no significativa

++ Diferencia significativa $P < 0.05$

No se encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos con los animales tratados por vía oral y -- los que recibieron el suero con las gamaglobulinas por vía oral y subcutánea.

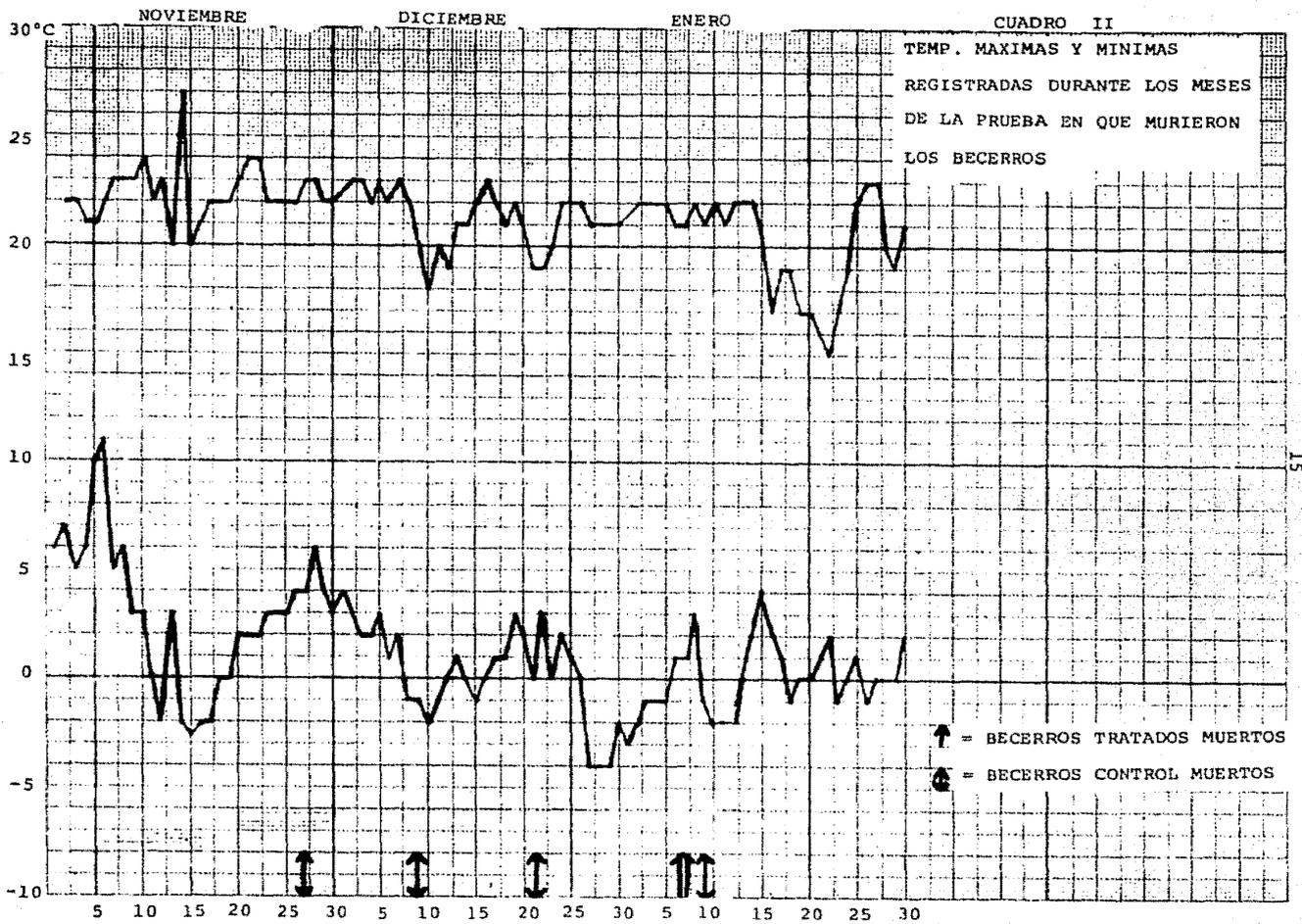
El suero estéril tuvo una cantidad de proteína total - de 7.5 g/100ml. Después de hacer la determinación cuantitativa - de las proteínas séricas separadas por electroforesis se determinó que las inmunoglobulinas tenían una concentración de 2.2 ---- g/100ml. es decir que la cantidad de gamaglobulinas en los 60 ml de suero administrado fue de 1.32 g.

IV- DISCUSION

A pesar de que en este trabajo se utilizaron pocos animales, las observaciones realizadas y el estudio estadístico de ellas, demostró que la administración durante el período neonatal de suero estéril en forma suplementaria al calostro, modificó ventajosa y en forma estadísticamente significativa los valores de inmunoglobulinas del plasma y los días de tratamiento de infecciones.

Los datos sobre la mortalidad, costo de los medicamentos usados y aumento de peso entre el nacimiento y 60 días, no tuvieron entre los dos grupos una diferencia estadísticamente significativa a nivel de $P < 0.05$. El porcentaje de mortalidad de 26% en el grupo control contra 13% en el grupo tratado, la diferencia en el costo de los medicamentos (-46.6% y el mayor incremento de peso (+16.6%), indican posiblemente que con grupos mayores de animales se pueda determinar si efectivamente el tratamiento modifica en forma benéfica y estadísticamente significativa los parámetros anteriores.

Durante el experimento el clima invernal favoreció la presentación de neumonía (Gráfica I). La alta incidencia de enfermedades durante la prueba pudo haber sido influenciada por factores meteorológicos, ya que se han hecho estudios que han permitido determinar que el frío, la humedad y el viento incre-



mentan la mortalidad en becerros (14).

En vista de que algunos autores han determinado que no basta aumentar los niveles de inmunoglobulinas en los becerros - para disminuir la mortalidad en las explotaciones, sino que debe impedirse la introducción de becerros provenientes de otras granjas (13), se recomienda que se haga un estudio para determinar - si los sueros obtenidos de otras explotaciones proporcionan las mismas ventajas que los sueros obtenidos localmente. Conociendo que una de las características principales de la respuesta inmune es su muy alta especificidad ante los antígenos con los que - el individuo tiene contacto (principalmente agentes infecciosos) es factible que el efecto benéfico se obtenga principalmente con inmunoglobulinas obtenidas de la misma explotación, debido a que contienen anticuerpos específicos contra los agentes infecciosos presentes en el medio en donde se desarrollan los animales (10).

Los posibles mecanismos que pudieran explicar el efecto de la administración de suero estéril no están muy claros. -- Por un lado la cantidad de inmunoglobulinas que se proporcionan suplementariamente es muy baja y no explica satisfactoriamente - por sí sola los mayores valores encontrados en la prueba de sulfato de Zinc (37.1% más elevados que en el grupo control). Por - lo anterior se enlistan algunos posibles factores que pudieran - ser responsables del fenómeno observado.

1.- Los individuos recién nacidos tienen una baja eponización - por deficiencias del sistema properdina-complemento, por ésto -- hay disminución de la quimiotaxis y de la fagocitosis (1,9,17,18) Posiblemente la administración de suero de individuos adultos -- proporcione los elementos que intervienen en la protección contra agentes infecciosos y de los que carecen los neonatos.

2.- La inmunidad celular proporcionada por los linfocitos T que secretan linfocinas es parcialmente deficiente en nónatos y se ha encontrado que el calostro favorece su desarrollo (1,9,27). - es posible que el suero de adultos proporcione elementos que eliminen la deficiencia de la inmunidad celular en los individuos - recién nacidos.

3.- Se ha encontrado que en individuos con pequeñas cantidades - de anticuerpos obtenidos pasivamente cuando son infectados tienen una respuesta inmunológica más elevada que cuando no hay anticuerpos presentes (19,28). Probablemente la administración de anticuerpos específicos en forma suplementaria al calostro pudiera favorecer la citada respuesta inmune.

En tanto se conoce el mecanismo responsable dado que - los resultados son favorables, se recomienda que se hagan estudios que permitan determinar si es factible que la inmunidad suplementaria en bovinos reduzca la alta morbilidad y mortalidad - de los becerros en las explotaciones lecheras.

Resulta pues interesante señalar que la administración de este producto biológico pudiera tener aplicaciones prácticas que permitan disminuir la morbilidad y mortalidad y obtener un mayor incremento de peso.

Es necesario que se realicen trabajos consecutivos a éste, con mayor número de animales que determinen bajo condiciones de campo, si el empleo de la inmunidad pasiva suplementaria representa ventajas que justifiquen su utilización rutinaria en bovinos especializados en la producción de leche.

Tomando en cuenta que el presente estudio se realizó obteniendo suero de la misma explotación, otro trabajo pudiera utilizar suero de una explotación diferente y comparar su eficiencia con la del suero obtenido localmente. Otro sería dividiendo las fracciones del suero y proporcionárselas a los becerros para ver con qué fracción se tendrían mejores resultados, al igual que Kurczyn y Cols. (10) lo hicieron en lechones.

En vista de que con el tratamiento se obtienen niveles más elevados de inmunoglobulinas, es posible que ya no sea necesario eliminar a becerros que bajo las condiciones actuales de manejo tendrían bajos niveles de inmunoglobulinas.

Una de las principales ventajas de la inmunidad suplementaria es que sin gasto en la modificación de insta-

por la mayor ganancia de peso de los becerros al destete, la menor mortalidad y morbilidad y consecuentemente menor costo de medicamentos dados como tratamientos y una mejor conversión alimenticia por la disminución de diarreas. Obviamente si la administración de suero estéril con gamaglobulinas se establece junto con mejoras en el manejo e higiene de las explotaciones los beneficios serán mucho mayores.

V- RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se describen los resultados obtenidos al proporcionar un refuerzo inmunológico artificial a becerros neonatos, que representa un nuevo enfoque en la solución del problema de elevada morbilidad y mortalidad. Se emplearon 30 becerros, divididos al azar en dos grupos: tratados y controles. A los 15 animales del grupo tratado se les administraron 60 ml de suero estéril (con 1.32 g de gamaglobulinas) dentro de las primeras 4 horas después del nacimiento, posteriormente tomaron calostro. Los animales del grupo control sólo tomaron calostro. Los resultados de los parámetros estudiados fueron; 2 becerros muertos en el grupo tratado (13%) y 4 en el grupo control (26%), niveles promedios de inmunoglobulinas en el grupo tratado 26.6 y en el control de 19.4 (diferencia de 37.1%, estadísticamente significativa $P < 0.05$).

Días de tratamiento promedio para el grupo tratado 2.9 y en el control de 4.8 (diferencia de 39.4% menor, significativa $P < 0.05$), costos de medicamentos dados \$ 24.11 en los tratados y \$ 45.20 en los controles (diferencia de 46.6% de menos costo) y diferencia entre el aumento de peso promedio en Kg entre el nacimiento y 60 días para los tratados 17.5 y en los controles 15 (diferencia de 16.6%).

Se señalan las posibles aplicaciones prácticas que pu

dieran tener la inmunidad pasiva suplementaria y se discuten -- los posibles mecanismos inmunológicos que pudieran ser responsables de los resultados.

VI- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Allison, A. C. (1974). Transplant.Rev. 19:3.
- 2.- Barber, D.M.L. (1976). Vet. Rec. 98:121
- 3.- Boyd J.W. Baker J.R. y Leyland A. (1974). Vet. Rec. 95:310
- 4.- Chaykin, S. (1966). Biochemistry Laboratory Techniques. J. Wiley,N.Y.
- 5.- Dunne, H.W., Huang, C.M., y Lin W.J. (1974). J.A.V.M.A. 164:290
- 6.- Fisher E.W. y Martínez A.A. (1976). Vet. Rec. 98:31
- 7.- Gelman Instrument Co. (1968). Procedures and Techniques for Electrophoresis. Ann Arbor, Mich.
- 8.- Ingram D.G. y Smith A.N. (1965). Can. Vet. J. 6:194
- 9.- Krestschmer R. (1976). Gaceta Médica México. En Prensa.
- 10.-Kurczyn R.G.H., Garza J., Olguín F. y Quintana F. (1976). Aceptado para su publicación en Veterinaria.(Méx.)
- 11.- Logan, E.F., Stenhouse A., Ormrod D.J. y Penhale W.J. (1974). Ros. Vet. Sci. 17:290
- 12.- Logan E.F., Stenhouse A. J.Ormrod D.J. y Penhale W.J y Armishaw M. (1974). Vet. Rec. 94:386
- 13.- Martín, S.W., Schwabe C.W. y Franti C.E. (1975). Am. J. Vet. Res.36:1099
- 14.- Martín S.W., Schwabe C.W. y Franti C.E. (1975). Am. J. Vet. Res.36:1105
- 15.- Martín S.W., Schwabe C.W. y Franti C.E. (1975). Am' J. Vet. Res.36:1111
- 16.- Martínez A.A. (1976). M.V.Z. 1 (6):13
- 17.- Mittal K.R. e Ingram D.G. (1975). Am. J.Vet. Res. 36:1183

- 18.- Mittal K.R. e Ingram D.G. (1975) Am. J. Vet. Res. 36:1189
- 19.- Renshaw H.W. (1975) Am. J. Vet. Res. 36:5
- 20.- Rodríguez R., O.L. y Escrivá S.J.L. (1972) Tec. Pec. en México 22:22
- 21.- Sheffe H. (1963) The analysis of variance. 2a. Ed. Wiley N.Y.
- 22.- Schoenaers F. y Kaeckenbeeck A. (1971).Memorias del XIX Congreso Mundial de Med. Vet. y Zoot. 1:220 México, D.F.
- 23.- Smith A.N. e Ingram, D.G. (1965) Can. Vet. J. 6:226
- 24.- Snedecor G.W. y Cochran W.G (1971) Statistical Methods. Iowa St. Univ. Press., Ames.Iowa.
- 25.- Stormont C. (1972) J. Anim. Sci. 35:1275
- 26.- Uruchurtu A. y Doporto J.M. (1975) Veterinaria (Méx.)6:96
- 27.- Wilkie B.N. (1974) Can. Vet. J. 15:243
- 28.- Williams M.R., Spooner R.L. (1975) Vet. Rec. 96:81
y Thomas L.B.
- 29.- Woode G.N. y Bridger J.C. (1975) Vet. Rec. 96:85