

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“APLICACION DE UNA VACUNA CONTRA ANTRAX
CEPA STERNE POR VIA ORAL EN CAPRINO”.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

NOE MORALES CAMPERO
DIRECTOR DE TESIS

M.V.Z. ARTURO BERNI LOZANO

GUADALAJARA, JAL. NOVIEMBRE 1993

AGRADECIMIENTOS:

- A Mis Padres:

Primitivo y Consuelo

Qué me han conducido por la vida con amor y paciencia, hoy ven forjado, un anhelo, una ilusión y un deseo.

- A Mi Esposa

Ma. Auxiliadora Arias E.

Por brindarme su comprensión y estímulo hasta haber llegado a la meta esperada.

- A Mis Hijos

Paulo Sergio, Elizabeth, Erika del Carmen y Noé.

Por su cariño y comprensión.

- A Mi Director de Tesis.

M.V.Z. Arturo Berni Lozano.

Por su valiosa colaboración en la elaboración de este trabajo con su incondicional apoyo y calidad humana.

- A Mi Compañero y Amigo

M.V.Z. David Avila Figueroa

Por el gran apoyo y ayuda brindada, cuando más lo necesite.

- A Mi Jurado

Por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo.

M.V.Z. David Avila Figueroa

Q.F.B. Cristina Moran Salas

M.V.Z. Sergio Velarde Espinoza.

DEDICATORIA:

Feliciano Andrés Arias Hdez.

Carmen Estrada de Arias

Arnulfo Zendejas Camarillo

Salavador Ortiz Márquez

Homero Corzo Flores

Oscar Figueroa

Juan Manuel Lomelí Vaca

Juan Manuel Gómez Solorzano

Alberto Javier Gtz, Topete

Samuel Gtz. Sánchez

César Castañeda Ibarra

Luis Felipe Arias Estrada

Efraín Ramírez Ramírez.



C O N T E N I D O

Página

RESUMEN.....	i
INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
JUSTIFICACION.....	7
HIPOTESIS.....	8
OBJETIVOS.....	9
MATERIAL Y METODOS.....	10
RESULTADOS.....	12
DISCUSION.....	14
CONCLUSIONES.....	16
BIBLIOGRAFIA.....	17

RESUMEN

La fiebre carbonosa ó ántrax, es una enfermedad bacteriana altamente contagiosa que afecta a un gran número de animales domésticos, silvestres y al hombre, se caracteriza por presentar temperaturas altas, temblor muscular, disnea, taquicardia y congestión de las mucosas, posteriormente el animal se colapsa y muere de convulsiones terminales con secreción de sangre por los orificios nasales, boca, ano y vulva.

Actualmente en la cría de ganado de lidia, no se ha podido hacer un programa de vacunación adecuado debido a lo difícil de su manejo. Con el objetivo de establecer la posibilidad de inmunizar a estos animales contra la fiebre carbonosa, por medio de la vacunación oral. Se utilizó el biológico cepa Sterne, con el que se vacunaron 20 caprinos, 10 por vía oral y 10 por vía subcutánea, además se utilizaron otros 10 sin vacunar. Para la inmunización, la vacuna se diluyo en hidróxido de aluminio y se mezcló con el alimento de consumo, el cual fue vertido en el comedero. Posteriormente a los tres meses post-vacunación, todos los animales fueron desafiados con una cepa patógena de Bacillus Antracis, la cual fue inoculada por vía oral.

Los resultados obtenidos demostraron que la inmunización por vía oral mezclada en el alimento con la cepa Sterne contra la fiebre carbonosa no ocasiona problemas post-vacunales ni signos de la enfermedad, y que al ser desafiados protege mínimo al 80 % de los animales por lo que se concluye que la vacuna cepa Sterne es segura é inocua. Para ser aplicada por vía oral.

INTRODUCCION

El toro de lidia es descendiente directo del "Bos - Taurus Primigenus". el Uro, que los celtas llamaron Auroch (Toro Salvaje), que a su vez fue descendiente de otras especies desaparecidas antes de la época Neolítica.

Cuando el hombre del neolítico domesticó al Uro primitivo, le quito su fiereza natural y genero dos tipos de animales, los dóciles y los no dóciles, a éstos últimos pertenece el toro de lidia de nuestros días, el cual ha conservado su bravura ya que es una característica instintiva y hereditaria del uro inicial.

En actualidad los propietarios de ganado de lidia han sabido conservar algunas características del toro bravo, evitando su cruzamiento con razas mansas y seleccionando a los animales de mayor fiereza.(1 y 12).

En la actualidad existe una gran variedad de enfermedades, ya sea del tipo viral bacteriano o parasitario que afectan a animales domésticos, entre ellos a los bovinos, estas enfermedades están distribuidas en todo el mundo, algunas han sido controladas y otras erradicadas, Algunas de estas enfermedades son: Actinobacilosis, Fiebre Aftosa, Aspergilosis, Botulismo, Brucelosis, Carbón Sintomático, Edema Maligno, Fiebre Catarral Maligna, Listeriosis, Queratitis Infecciosa, Septicemia Hemorrágica y Vibriosis, entre otras. El ganado de lidia también puede padecer estas enfermedades y en particular por al Fiebre Carbonosa ó Antrax. La cual es una enfermedad bacteriana altamente contagiosa que afecta a un gran número de animales domésticos, silvestres y al hombre, se caracteriza por presentar temperaturas altas, temblor muscular, disnea, taquicardia y congestión de

las mucosas, el animal se colapsa y muere de convulsiones terminales con secreción de sangre por los orificios nasales, boca, ano y vulva. (2,4,17,6,10) Se le conoce también con los sinónimos de: Piojo, Liendre, Bacera, Pústula Maligna, Septicemia de Davaine (hombre), Carbunclo, Carhunco y Carbunculo Bacteriano, Carbón, Mal del Rayo, Morriña Negra, Sangre en el Bazo. (2,21,10).

El agente causal del ántrax es la bacteria Bacillus Antracis, la cual fue descubierta por Roberto Koch 1876-77, y confirmada por Pasteur en Pouilli Le-fort en 1881. Posteriormente Sterne en 1919, en Sudáfrica, descubre la Cepa acapsulada y observa que no produce la enfermedad pero si produce inmunidad. (3, 5, 10, 15, 16)

Se sabe que el Bacillus Antracis, forma esporas que prolongan su capacidad infectiva en el medio ambiente, durante largos períodos. Las esporas resisten a casi todas las temperaturas ambientales normales y a los desinfectantes standar. En algunos estudios los bacilos carbuncosos han permanecido viables en el suelo durante 60 años en una botella cerrada con tapón de caucho, sin embargo la putrefacción de los cadáveres destruye las bacterias y siempre que estos no se abran ni expulsen secreciones, no ocurre contaminación del terreno. (2, 5, 10)

El contagio de los animales con los gérmenes carbuncosos se lleva a cabo, fundamentalmente por ingestión de alimentos que contienen esporas, las infecciones de animal tienen importancia secundaria. (5, 10, 12)

Se ha observado la enfermedad en todos los vertebrados, pero es más frecuente en bovinos y ovinos, y menos en caprinos y equinos. El hombre ocupa una posición intermedia entre este grupo y es relativamente resistente formado por cerdos, perros y gatos. Se ha postulado que la oveja argelina posee resistencia. Los carnívoro como son: perros, gatos y cerdos pueden contraer el carbunco por comer carne de animales muertos. (5, 11, 10)

La enfermedad existe en todo el mundo y abunda especialmente en los países que no están bien organizados como son: La India, China, Siberia, Rusia, Norte de Africa, algunas partes de Sudamérica. En los que se ha observado una mayor presentación de casos y un incremento en la frecuencia de fallas vacunales. En cambio en Alemania, Francia, Italia, Gran Bretaña y los Estados Unidos, la enfermedad esta bien controlada. En México se considera como problema activo de gran importancia. (5,10)

La fiebre carbonosa se manifiesta clínicamente en sus formas hiperaguda y aguda, en la primera es más frecuente al comienzo del brote. Suelen encontrarse animales muertos sin signos premonitorios. Durante el curso probablemente de unas dos horas en ocasiones se ha podido comprobar, fiebre, temblor muscular, disnea y congestión de mucosas.

El animal cae en colapso y muere de convulsiones terminales. Después de su muerte se comprueba secreción de sangre por las ventanas nasales, boca, ano y vulva. La bacteria se localiza a nivel de torrente circulatorio. (5, 10)

La fiebre carbonosa se ha podido prevenir con muy buenos resultados, por medio de la inmunización con la vacuna cepa Sterne, la cual puede ser utilizada para prevenir la enfermedad ó para disminuir el efecto de una infección de brote. (4, 12)

La vacunación, se puede llevar a cabo en zonas endémicas, donde se recomienda vacunar 4 semanas antes de la temporada de mayor incidencia y aplicar una dosis de refuerzo (revacunar) a los 3 ó 6 meses después de la fecha de la primera vacunación, la vía de aplicación es subcutánea (S. C.) exclusivamente en los bovinos y equinos en la tabla del cuello. En ovinos, caprinos y porcinos en la parte interna de la pierna. La dosificación en bovinos es de 2 ml., en equinos de 1 ml., en caprinos, ovinos y porcinos de 0.5 ml. (14).

Es imposible poner esquemas apropiados para todas y cada una de las vacunas disponibles en la medicina veterinaria, pero existen ciertos principios comunes a todos los métodos de inmunización activa. Un buen programa de vacunación contra fiebre carbonosa debe buscar la máxima respuesta inmune en los animales vacunados. Esto puede llevar a una disminución hasta el mínimo de presentación de quejas asociadas con el uso de las vacunas contra la enfermedad. (4)

Hasta ahora las vacunas que han dado mayor resultado son las vacunas de esporas viables atenuadas de Bacillus Antracis, cepa Sterne con hidróxido de aluminio como coadyuvante, para aumentar su poder de protección y su estabilidad. (14)

Existen varias causas por las que falla la inmunización, pero la más importante es la interferencia por inhibición de los niveles de anticuerpos maternos.

Los animales pequeños que maman de la madre quedan inmunizados siempre y cuando la madre este vacunada. (5)

Además otra de las fallas vacunales reside en la falta de potencia de algunos lotes de vacunas, cuestión que es responsabilidad directa del laboratorio productor. Por último para evitar las fallas vacunales se debe inmunizar animales totalmente inmuno competentes y que la vacuna contenga suficientes esporas, que las esporas no hayan sido sobre atenuadas. Y que el estabilizador sea el adecuado, sobre estos aspectos la S.A.R.H., dentro de su normatividad establece las pruebas a las que debe someterse un número representativo de muestras de cada lote, de los diferentes biológicos las cuales son: Prueba de pureza, pruebas de seguridad o inocuidad, prueba de titulación y pruebas de potencia. (4, 5, 14)

En adición a estos factores, las vacunas pueden fallar si no son manejadas y administradas correctamente, una de las causas que pueden provocar que la vacuna no inmunece, es el almacenaje no apropiado (calor ó frío excesivo) el cual puede inactivar las vacunas. (4, 14)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La fiebre Carbonosa ó Antrax siempre ha sido un problema para salud animal y la salud pública, ya que es una enfermedad zoonotica de etiología bacteriana y altamente contagiosa; y afecta a gran número de animales domésticos y salvajes su distribución es mundial.

Según datos del Laboratorio de diagnóstico central regional de Tlaquepaque entre 1965 a 1967, se presentaron 16 casos diagnosticados de Fiebre Carbonosa en Bovinos, en los años 1968 y 1969 no se presentaron, pero en 1970 y 1971 se presentaron 4 casos también en bovinos; en otras especies solo se tiene el dato de un caso diagnosticado de fiebre carbonosa en cerdos en 1965.

En informes más recientes de los Laboratorios de diagnósticos de Autlan de la Grana y de Gómez Farías, en la zona sur y Costa de Jalisco, se tienen reportes de los años de 1985 a 1987, en que se diagnosticaron 20 casos en bovinos un caso en cerdos y otro en equinos.

Actualmente se siguen presentando casos esporádicos ya que los ganaderos no realizan con regularidad los calendarios de vacunación, esto en gran medida se da en el ganado bovino de razas nerviosas de difícil manejo como son las razas cebuinas y el ganado de lidia.

Por lo que se hace necesario buscar alternativas de vacunación que sean de más fácil manejo sin que se pierda su efectividad.

JUSTIFICACION

Ya que la fiebre carbonosa se sigue presentando en casos esporádicos (3, 8, 7), seguramente debido a la falta de vacunación ó por alguna falla vacunal en los animales y sobre todo en aquellos de difícil manejo, como son los bovinos de razas cebuinas o el ganado de lidia. En estos últimos, lograr el esquema completo de vacunación es particularmente difícil, por lo que se ha considerado que en el caso de la vacuna contra la fiebre carbonosa se puede aplicar por vía oral en el alimento, lo cual es posible debido a que la bacteria contiene esporas viables atenuadas de *Bacillus Antracis*, cepa Sterne con hidróxido de aluminio como coadyuvante, para aumentar su poder de protección y su estabilidad. Y según la literatura el bacilo posee una cubierta de ácido dipicolínico, que al pasar por el abomaso se le quita esa cápsula, entonces al llegar al intestino es absorbido para así llegar al sistema linfático.

Debido a que las características funcionales del sistema digestivo de las cabras, son similares a las de los bovinos, el vacunar caprinos por vía oral y desafiarlos posteriormente, representará una prueba preliminar para ser aplicada en bovinos tanto de lidia como de razas cebuinas.

HIPOTESIS

Algunas partículas antigenicas pueden atravesar con cierta facilidad la mucosa intestinal, llegando así a vasos quiliferos y vasos porta. Posteriormente quedan atrapadas en los ganglios linfáticos mesentericos y el hígado, lo que permite se estimule el sistema inmune. Debido a esto es factible que al administrar la bacterina contra fiebre carbonosa por vía oral en caprinos se logre su inmunización.

OBJETIVOS

- 1.- Inmunizar caprinos contra el Bacillus Antracis de la fiebre carbonosa, mediante la aplicación de la vacuna por vía oral.
- 2.- Demostrar el estado de inmunidad de los animales por medio de un desafío biológico, con una cepa patógena de origen bovino.



OFICINA DE
INVESTIGACION CIENTIFICA

MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se utilizaron 30 caprinos de raza criolla de diferente edad y peso, mantenidos en explotación extensiva, fueron divididos en tres grupos a razón de 10 animales por grupo. Dichos animales estaban aparentemente sanos y libres de vacuna contra fiebre carbonosa.

Fueron observados 8 días antes de las pruebas para determinar su condición de salud durante este tiempo se pesaron y se lotificaron, se administró alimento concentrado comercial a base de maíz, sorgo y soya, los minerales y vitaminas se dieron a libre acceso. Al noveno día dos grupos fueron inoculados con la vacuna de fiebre carbonosa Cepa Sterne y el tercer grupo se dejó sin inocular.

Los grupos se manejaron de la siguiente manera:

GRUPO I.- Se inoculó con la vacuna Cepa Sterne por vía oral mezclada en el alimento.

GRUPO II.- Se inoculó con la vacuna Cepa Sterne por vía subcutánea (S. C.) con la dosis recomendada por el Laboratorio Productor.

GRUPO III.- Animales Control. Negativo. La vacuna comercial antes de ser mezclada con el alimento, fué diluida con hidróxido de aluminio a razón de 3 dosis de vacuna (6 ml.) por 10 ml. de este, lo que dió un

total de 16 ml. Esta cantidad se consideró como la dosis individual por animal, para ser mezclada con el alimento.

Ante la imposibilidad para realizar pruebas de Titulación de anticuerpos específicos contra Antrax en los animales vacunados se practicó un desafío biológico, el cual se realizó de la siguiente manera:

A los 3 meses después de la vacunación a todos los animales se les administró una cepa patógena obtenida de un caso de campo, la cual se obtuvo mediante la extracción de sangre de un animal muerto por Antrax se cultivó en agar sangre y se administró mezclado en el alimento.

Fueron observados durante 3 meses se recabaron los signos clínicos que manifestaron y en caso de muerte se les practicó la necropsia.

Los resultados obtenidos se presentan en cuadros.

RESULTADOS

En el presente trabajo se observó que los animales del:

Grupo I.- Inoculados con la vacuna contra fiebre carbonosa por vía oral, no presentaron signos post-vacunales, posteriormente al ser desafiados, tampoco se observó la enfermedad pero uno de los animales inoculado con la cepa patógena, a las 24:00 hrs. presentó signos de anorexia y 40 °C de temperatura corporal, murió a las 32 hrs. El segundo animal murió repentinamente sin presentar signos a las 36 hrs.

En cuanto al Grupo II.- Que se inoculó subcutáneamente, en el periodo post-vacunación se observó que uno de los animales murió tres minutos después de haberlo inyectado. Y otro de los animales presentó signos de desnutrición y lesiones traumáticas, murió a las 32 hrs. después. Durante el desafío con la cepa patógena no se observaron signos.

Finalmente en el Grupo III.- Que fue el grupo testigo, dos de los animales inoculados con la cepa patógena sobrevivieron y el resto de los animales presentaron signos de la enfermedad entre las 12:00 y las 24:00 hrs. Post-inoculación, murieron hasta las 36 hrs. los signos clínicos relevantes fueron anorexia y fiebre.

**RESUMEN DEL DISEÑO Y RESULTADOS DEL DESAFIO
EN 30 CAPRINOS SOMETIDOS A ESTUDIO.**

LOTE	CODIGO	EDAD	SIGNOS	DESAFIO	OBSERVACION
C-1	1-A 1-B 1-C 1-D 1-E 1-F 1-G 1-H(+) 1-I 1-J(+)	10 MESES 9 MESES 7 MESES 5 ½ MESES 5 MESES 11 MESES 6 ½ MESES 4 ½ MESES 6 ½ MESES 4 MESES	A las 24:00 Hrs. presentó anorexia y 40 °C de temperatura corporal, murió a las 32 Hrs. y el otro animal murió repentinamente sin presentar signos a las 36 Hrs.	Se desafiaron los animales con la cepa patógena.	Al administrar la cepa patógena por vía oral solamente se murieron dos animales, estos no sobrevivieron a la prueba biológica, los cuales fueron el 1-H y el 1-J. Los demás sobrevivieron a la prueba biológica.
C-2	2-A 2-B 2-C 2-D 2-E(+) 2-F 2-G 2-H 2-I(+) 2-J	5 ½ MESES 7 MESES 8 MESES 6 MESES 4 MESES 6 ½ MESES 5 MESES 10 MESES 4 ½ MESES 6 MESES	Al inyectar a los animales por vía sub'cutanea, uno de los animales murió tres minutos despues y el otro presentó signos de desnutrición y lesiones traumáticas a las 32 Hrs. murió.	Se inocularon con la vacuna cepa Sterne.	Se administró la vacuna cepa Sterne, por vía sub'cutanea, en este lote se murieron dos animales, que no sobrevivieron a la prueba biológica, los cuales fueron 2-E y 2-I. Sobreviviendo los demás a la prueba biológica.
C-3	3-A 3-B 3-C(+) 3-D 3-E 3-F 3-G 3-H 3-I 3-J(+)	6 ½ MESES 7 MESES 18 MESES 8 MESES 7 MESES 9 ½ MESES 8 MESES 7 MESES 5 MESES 11 MESES	Los animales presentaron signos a las 12:00 y las 24:00 Hrs. post-inoculación murieron a las 36:00 Hrs. los signos clínicos relevante: Anorexia y fiebre.	Se desafiaron los animales con la cepa patógena	Al administrar la cepa patógena por vía oral solamente sobrevivieron dos animales a la prueba biológica, el resto de los animales se murieron, no resistieron a la prueba biológica.

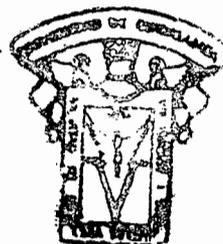
DISCUSION

En el presente estudio los animales que fueron inoculados por la vía oral no presentaron signos clínicos post-vacunales sin embargo al ser desafiados, uno de los animales presentó anorexia y 40 °C de temperatura a las 24 hrs., luego murió a las 32 hrs., el segundo animal murió repentinamente sin presentar signos clínicos a las 36:00 hrs.; el cadáver se observó con salida de sangre en los orificios naturales (ollares, boca, ano y vulva), por lo que es de suponerse que estos animales padecieron la enfermedad y murieron a causa de esta.

En el segundo grupo inoculado por vía sub'cutanea, uno de los animales murió tres minutos después de haberlo inyectado, esto posiblemente se debio a un choque asociado con el estres de manejo. (14), en el caso del otro animal que murió, no se pudo determinar la causa de su muerte ya que solo presentó signos de desnutrición y lesiones traumáticas pero sin signos sugestivos de ántrax. (4)

Finalmente en el grupo testigo, el hecho de encontrar animales vivos, a pesar de inocularlos con la cepa patógena y que además no presentaron ningún signo clínico de la enfermedad. Hace suponer que estos, tuvieron algún tipo de resistencia natural o bien que la cantidad inoculada de bacterias fue sub'letal para ellos, esto concuerda con otros estudios de desafío en enfermedades tanto virales como bacterianos en las que cierto número de animales sobreviven, pero para que no implique una falla en la prueba, es requisito que el testigo positivo, debe cumplir con un mínimo de mortalidad del 80 %, lo cual si se presento en este grupo. (4)

El hecho de haber logrado un porcentaje de sobrevivencia del 80 % en el grupo vacunado por vía oral, se explica en base a que es probable que en el tubo digestivo ocurra la estimulación antigenica más intensa a los animales. Algunas partículas antigénicas, como son las bacterias que pueden atravesar con cierta facilidad la mucosa intestinal, llegando así a vasos quilíferos y los vasos porta. (15). Por lo consiguiente estos microorganismos queden atrapados en los ganglios linfáticos mesentricos y el hígado, con la consecuente estimulación del sistema inmune y la producción de anticuerpos. (11)



OFICINA DE
EXTENSIÓN CIENTÍFICA

CONCLUSIONES

- 1.- La vacuna contra fiebre carbonosa cepa Sterne al ser aplicada por vía oral no genera reacciones post-vacunales en caprinos.
- 2.- La vacunación contra la fiebre carbonosa en caprinos con la cepa Sterne por vía oral, protege hasta en un 80 % en condiciones experimentales de desafío.
- 3.- En bovinos se recomienda realizar pruebas de inmunización por vía oral, ya que la cantidad (dosis) de antígeno puede variar con la relación a la utilizada en caprinos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aguilar J. : Toro. Editorial Codex. Barcelona, España. P. 9 -13. 1972.
- 2.- Blood D. C. and Henderson J. A. Medicina Veterinaria. Editorial Interamericana México. P. 581.585. 1987.
- 3.- Cervantes C. E. : Estudio Epizootiológico de las Unidades de Producción Pecuaria en la zona Sur y Costa de Jalisco. Tesis de Licenciatura F.M.V.Z. U. de G. P. 23. 1991
- 4.- Fechner J. : Vacunas y Vacunación de los animales demésticos. Editorial Acribia; Zaragoza, España. P. 18-95-105. 1966.
- 5.- Frappe M. C. : Manual de Infectología Veterinaria. Editor Francisco Mendes Oteo, México. P. 7-18. 1986.
- 6.- Fuentes H. U. O. : Sumano L. H. S. M.V.Z. P.H. D. : Farmacología Veterinaria; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en la Universidad Nacional Autónoma de México. P. 95-111. 1986.
- 7.- García L. R. Estudio comparativo de las enfermedades reportadas en el Laboratorio de Diagnóstico Central Regional de Tlaquepaque, Jalisco, en 7 años de diferencia (1965-1971). Tesis. Licenciatura, F.M.V.Z. U. de G. P. 14-11-22. 1973

- 8.- Gómez Llanos M. V. M. Aspectos sanitarios que afectan a las explotaciones pecuarias del área de influencia del Laboratorio Central Regional de Diagnóstico en Tlaquepaque, Jalisco, estudio comparativo de 10 años (1965-1974). Tesis licenciatura F.M.V.Z. U. de G. P. 9 - 22,39. 1975.
- 9.- Manninger R. Mócsy J. Patología y Terapéutica especial de los animales domésticos. Editorial Labor, Barcelona, España. Tomo I. P. 1-24. Tomo II. P. 438. 1973.
- 10.- Maximine M. B. Catecismo de Patología Clínica Veterinaria. Compañía Editorial Continental, México-España. P. 308. 1967.
- 11.- Merck Sharp & Dohme Internacional. Manual Merck de Veterinaria. Merck & CO, Rahway New Jersey, E.U.A. AGVET. P. 232-237. 1981.
- 12.- Merchant. J. A. Parker. R. A. Bacteriología y Virología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza, España. P. 398-407. 1970.
- 13.- Orellana C. Los Toros en España. Editorial Orel, Madrid; España. P. 3. 1969.
- 14.- Prontuario de Especialidades Veterinarias (13ª. Edición). Editorial Ediciones. P. L. M. S. A. de C. V. México. P. 319. 1992.
- 15.- Spinelli J. S. Y Enos L. R. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Nueva Editorial Interamericana. México. P. 79-80. 1981.

- 16.- Tizard I. R. Inmunología Veterinaria. Nueva Editorial Interamericana. México. P. 73-85-193-201. 1987.
- 17.- Valdez. C. F. Los Bovinos, Prontuario de Síntomas, Enfermedades y Tratamientos Veterinarios. Editorial Edamex. México. P. 39-71. 1984.