

---

---

Universidad de Guadalajara

---

---

FACULTAD DE AGRONOMIA



LA TECNICA DE TINCION Tb-COLOR, EN LA DETECCION DE  
TUBERCULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis*).  
EN EL GANADO BOVINO LECHERO.

---

---

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO  
P R E S E N T A

LUIS HUMBERTO GOMEZ VIRAMONTES

GUADALAJARA, JALISCO. ENERO 1992

---

---

SECCION ESCOLARIDAD

EXPEDIENTE \_\_\_\_\_

NUMERO 0943/91

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

DICIEMBRE 7 de 1991

## C. PROFESORES:

~~ING. CARLOS AGUIRRE TORRES, DIRECTOR~~  
~~ING. JUAN BOJORQUEZ MARTINEZ, ASESOR~~  
~~M.C. SALVADOR MENA MUNGUIA, ASESOR~~

Con toda atención me permito hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobado el Tema de Tesis:

LA TECNICA DE TINCION Tb-COLOR, EN LA DETECCION DE TUBERCULOSIS  
(Mycobacterium tuberculosis), EN EL GANADO BOVINO LECHERO

presentado por el (los) PASANTE (ES) LUIS HUMBERTO GOMEZ VIRAMONTES

han sido ustedes designados Director y Asesores, respectivamente, para el desarrollo de la misma.

Ruego a ustedes se sirvan hacer del conocimiento de esta Dirección su Dictamen en la revisión de la mencionada Tesis. Entre tanto, me es grato reiterarles las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"  
"AÑO DEL BICENTENARIO"  
EL SECRETARIO

  
M.C. SALVADOR MENA MUNGUIA

mam



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
FACULTAD DE AGRONOMIA

Sección ESCOLARIDAD

Expediente .....

Número 0943/91

DICIEMBRE 7 de 1991

ING. JOSE ANTONIO SANDOVAL MADRIGAL  
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA  
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
PRESENTE

Habiendo sido revisada la Tesis del (los) Pasante (es)  
LUIS HUMBERTO GOMEZ VIRAMONTES

titulada:

LA TECNICA DE TINCION Tb-COLOR, EN LA DETECCION DE  
TUBERCULOSIS (Mycobacterium tuberculosis), EN  
EL GANADO BOVINO LECHERO

Damos nuestra Aprobación para la Impresión de la misma.

DIRECTOR

ING. CARLOS AGUIRRE TORRES

ASESOR

ASESOR

  
ING. JUAN BOJORQUEZ MARTINEZ  
M.C. SALVADOR MENA MUNGUIA

srd'

Al contestar este oficio cite su fecha y número

## DEDICATORIAS.

### A MIS PADRES.

Quienes me dieron junto con la vida, su apoyo moral y económico hasta coronarse con una carrera profesional. Mi cariño y agradecimiento.

### A MI ESPOSA MIRELLA.

Que con su amor, comprensión y trabajo me ayudò a la terminación de mi carrera. Todo mi amor por ti.

### A MIS HIJOS: KARLA Y LUIS HUMBERTO.

Que son lo màs lindo que me ha dado Dios y la vida, que con sus gracias y sonrisas me hicieron olvidar los momentos màs difíciles.

### A MIS HERMANOS Y FAMILIA.

Que me ayudaron en los momentos difíciles.

### A MI QUERIDA FACULTAD.

Que me hizo profesional de la Agricultura, mi agradecimiento y respeto.

### A MI COMPADRE Y AMIGO. Ing. Mario A. Basulto B.

Por sus consejos que me alentaron para seguir adelante.

A LOURDES Y A LETICIA.

Por su apoyo y dedicación  
en la edición de este  
trabajo.

A MI DIRECTOR DE TESIS.  
ING. CARLOS AGUIRRE.

Mi agradecimiento por su  
paciencia y comprensión en  
la realización del presente  
trabajo.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

Por todos los momentos que  
convivimos y disfrutamos  
juntos durante nuestra  
carrera.

A MIS MAESTROS.

Que con paciencia e interés  
nos transmitieron sus  
conocimientos.

A NUESTRA ALMA MATER.

Que ha forjado el sendero  
de las generaciones futuras,  
todo nuestro agradecimiento.

A MI COMPAÑERO.  
LIC. LORENZO PIZANA.

Por su ayuda y apoyo en la  
realización de este trabajo.

## INDICE.

	Página
I.- INTRODUCCION	1
II.- ANTECEDENTES	2
III.- OBJETIVOS	4
IV.- HIPOTESIS	5
V.- REVISION DE LITERATURA	6
VI.- MATERIALES Y METODOS	29
VII.- RESULTADOS Y DISCUSION	36
VIII.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
IX.- RESUMEN	44
X.- BIBLIOGRAFIA	46

## I. INTRODUCCION.

La leche es un componente importante de la dieta y constituye una valiosa fuente de principios nutritivos indispensables.

Desde el punto de vista químico, su composición es: de agua, sólidos totales, grasa, proteínas, lactosa, variando según las especies.

Uno de los problemas que afecta a la Zona Metropolitana de Guadalajara, que se abastece favorablemente de leche bronca, es la enfermedad de la tuberculosis, que puede ser provocada por diversas causas como son: La falta de higiene de los alimentos para el ganado, el tener rebaños mezclados con animales libres de la enfermedad y animales contaminados de tuberculosis.

Debido a la susceptibilidad comprobada del hombre a la tuberculosis del tipo bovino, así como las pérdidas económicas ocasionadas por esta enfermedad, se han utilizado extensas campañas para erradicarla. Este esfuerzo ha tenido un éxito notable en la disminución de la incidencia de la enfermedad, aunque la erradicación completa, está aún por verse.

Se considera que una fuerte limitante para que dicha erradicación sea exitosa, es la falta de técnicos y recursos gubernamentales así como la poca capacitación del ganadero por detectarla.

El presente trabajo aborda el tema del diagnóstico de bacilos Mycobacterium tuberculosis, por el método de tinción Tb- Color, -- comparándola con la ya tradicional prueba de la Tuberculina.

## II. ANTECEDENTES.

La Unión Ganadera Regional de Jalisco en conjunto con la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos nos orientan con respecto a la enfermedad de la tuberculosis, que es una enfermedad transmisible al hombre por los animales, más graves en el ganado lechero, por su doble aspecto económico y social. Es común a todas las especies productoras. El agente microbiano es el Mycobacterium tuberculosis. La forma de lucha contra la tuberculosis, estudiada en el año de 1987 por la Comisión Mixta de la Organización Mundial de la Salud ( OMS ) y de la Organización para la Alimentación y -- Agricultura ( FAO ), fue presentada en el segundo informe de dicha Comisión, que dice: " Sobre todo debe tenerse en consideración que, para el buen éxito de un programa de lucha contra la tuberculosis es esencial que el plano oficial de erradicación cuente con el apoyo de los cuerpos médicos y veterinarios, así como con el conjunto de la comunidad agropecuaria, con la ayuda del cuerpo médico, será incluso más fácil ganar la confianza del público, la reacción de la tuberculina es el método fundamental que permite recoger datos seguros sobre la frecuencia y distribución de la tuberculosis.

Una de las posibles causas de esta enfermedad, en la Zona Metropolitana de Guadalajara, es el consumo de alimentos contaminados, como lo es la leche bronca de mala calidad, que puede transmitir la tuberculosis, así como intoxicaciones alimentarias, la cual afecta a los consumidores, principalmente a humanos de edad entre 25 y 44 años, datos proporcionados por la Secretaría de Salubridad y Bienestar Social en el año de 1990 y la 13va. semana de 1991, teniendo un total de 224 casos y otras causas de transmisión que va-



ría de menos 1 hasta 65, teniendo como total general de 749 casos en este lapso de tiempo.

La Universidad de Guadalajara sólo justifica la formación del individuo, en la medida que sus conocimientos sean empleados como instrumento de servicio a la comunidad y de transformación social en el sector primario, la Agricultura y Ganadería, prestando al hombre de campo la asesoría técnica adecuada para el mejor manejo y aprovechamiento de sus recursos, lo cual se materializa en el presente trabajo.

### III. OBJETIVOS.

- 1.- Utilizar una tècnica de tinciòn Tb- Color para el examen microscòpico de Mycobacterium tuberculosis.
- 2.- La tècnica puede resultar atractiva por su bajo costo y ràpido resultado comparada con la tuberculina.
- 3.- Relacionar la sanidad del ganado.
- 4.- Orientar y motivar a los ganaderos involucrados, en la sanidad del ganado.
- 5.- Definir nuevas àreas de investigaciòn, que sean campo de tesis profesionales para la orientaciòn de ganaderìa, relacionadas con problemas que afectan a nuestra comunidad.

#### IV. HIPOTESIS.

Mediante la utilización del método de tinción Tb-Color se puede encontrar la existencia de bacilos, Mycobacterium tuberculosis, lo cual nos daría una respuesta positiva, que reafirmaría la eficacia del método y orientaría sobre el estado actual de la leche que se está produciendo en este momento.

Esta técnica podría ser eficaz porque al realizar la tinción de las mycobacterias ácidorresistentes, éstas se diferencian más -- claramente por su color rojo en un fondo verde azulado, que en un fondo azul utilizado tradicionalmente.

Se pretende probar que la técnica es muy cómoda por tener en un sólo equipo todos los reactivos necesarios listos para su uso, -- facilitándonos el trabajo.

Que su alta calidad es garantizada por soluciones de tinción -- estables y estandarizadas.

Que el tiempo por cada 15 muestras, es de alrededor de una hora.

Que el manejo de la técnica de tinción Tb- Color es accesible para su manejo, por cualquier persona con conocimientos agropecuarios.

## V. REVISION DE LITERATURA.

La tuberculosis es una enfermedad crónica infecciosa, producida por Mycobacterium tuberculosis y se caracteriza por la formación de pequeños nódulos no vasculares, en distintos órganos del cuerpo animal.

Existen tres cepas distintas de bacilo tuberculosos: Humano, Aviar y Bovino. De estas cepas la bovina es la que causa tuberculosis grave en otros animales, además del huésped primario. La tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas reconocidas desde hace muchísimo tiempo, incluso en los tiempos bíblicos, la mayor parte de los estudios se realizaron con el bacilo tuberculoso.

El bacilo tuberculoso puede atacar cualquiera de los tejidos orgánicos, excepto el pelo, pezuñas y cuernos. En el bovino se encuentran con más frecuencia en los pulmones, pleura, hígado, bazo, peritoneo y ganglios linfáticos. La tuberculosis se adquiere generalmente, por exposición continua del material infeccioso, ( 9 ).

La importancia de la tuberculosis en el ganado bovino, estriba en que disminuye gradualmente en la vida media de las reses de las ganaderías infectadas y hace cada vez más frecuentes la necesaria eliminación de animales cada vez más jóvenes, cuya cría, por la frecuencia con que se tuberculizan, tropiezan por añadidura con grandes dificultades. Además, la disminución de la secreción láctea y el enflaquecimiento, restringen el valor

individual de los animales enfermos, lo que con la exclusión de numerosas reses tuberculosas de consumo, representa todos los años, - un importante prejuicio para la riqueza de las naciones.

Acerca de la difusión de la tuberculosis, proporciona datos -- estadísticos por una parte, la prueba de la tuberculina, mientras - la otra parte, la pericia y el cuidado de las personas encargadas - del examen, que pueden hacer variar mucho las cifras, en estadísti- cas hechas en los mataderos, únicamente figuran los casos que pre- sentan.

En cierto modo, las alteraciones patológicas notables, las - pruebas diagnósticas tuberculínicas, revelan la enfermedad, casi - en todos los casos de infección tuberculosa y naturalmente, dan ci- fras más elevadas. ( I ).

#### ETIOLOGIA.

El agente de la tuberculosis es el bacilo (Mycobacterium tuber- culosis) de Koch. Dentro de esta especie bacterica se distinguen va- rios tipos o variedades, las cuales difieren uno del otro, en múlti- ples aspectos.

La denominación de los tres tipos deriva que son: Los bacilos del tipo humano, los agentes principales de la tuberculosis bovina y los bacilos del tipo gallinaceo. .

El bacilo de la tuberculosis típico es ácido y alcohol resisten- te, pues teñido, por ejemplo, con solución caliente de fucsina, fija -

el colorante tan enèrgicamente que no se disuelve ni siquiera por la acciòn de àcidos minerales ( àcido sulfùrico al 5 % y àcido -- nìtrico al 30 % ) ni de alcohol, en eso coincide con los agentes - patògenos de la lepra y de la tuberculosis de los bovinos y tambièn en ciertos sapròfitos, pero se distinguen por esta misma propiedad de todas las demàs bacterias conocidas hasta hoy como productoras- de enfermedades. ( 3 ).

El bacilo de la tuberculosis tiene una forma de bastoncito del gado de 1.5 a 4 micras de largo y de 0.3 a 0.5 de ancho, son rec-- tos o ligeramente curvos sin movimiento propio.

#### RESISTENCIA.

Los bacilos de la tuberculosis resisten mucho las influencias externas, viven en el moco pulmonar bovino de 30 a 40 dïas en luz difusa, si bien pierden ya su virulencia en 10 dïas; en heces in-- testinales bovinas en los prados al aire libre a lo sumo en 13 dïas mueren, en esputos desecados, en 126 dïas en la obscuridad y ex-- puestos al sol en 5 horas; en moco pulmonar en putrefacciòn en 6 - semanas, en pulmòn bovino enterrado, en 167 dïas y en contenido in-- testinal mezclado con estièrcol en 178 dïas.

En la leche resisten màs de 15 dïas el proceso de acidifica-- ciòn y en los quesos blandos que se preparan sin previa ebulliciòn del lïquido, no lo perjudica la labificaciòn ni la acidificaciòn;- en mantequilla dulce viven cuatro semanas, pero en la àcida y muy salada mueren a los 10 dïas y a veces a los 5 dïas, màs en casos

excepcionales conservan la virulencia durante 45 días y en quesos duros cuya maduración requiere de 4 a 5 meses, no se hallan bacilos de tuberculosis vivos.

La leche queda libre de bacilos en 25 minutos por la temperatura de 65° C, cuando se calienta en recipientes cerrados; pero si se calienta en recipientes abiertos ( como en estos no pueden calentarse uniformemente todas las capas ), resultan ineficaces incluso temperaturas de 70 a 80° C durante 6 minutos. La nata que logra este efecto en 2 minutos por la temperatura de 85° C. es el calentamiento del suero de Emmenthal.

Los bacilos del tipo humano suelen ser más largos y finos y ofrecen una coloración desigual más bella que los del tipo bovino; en cambio, los bacilos de la tuberculosis gallinacea, ofrecen un polimorfismo, pueden ser bastoncitos cortos o pueden ser bastoncitos largos. ( 1 ). ( Ver figura # 1 ).

Fotos tomadas del libro Patología y Terapéutica Especiales de los animales domésticos.

La figura # 2 corresponde al bacillus tuberculosis ( tipo - gallinaceo ).

La tercera ilustración pertenece a una muestra del bacillus tuberculosis ( tipo bovino ) con coloración de Much. ( Ver figura # 3 ).

Figura # 1



Bacillus tuberculosis ( tipo bovino )  
Forma àcidorresistente,  
Tinciòn Tb- Color.

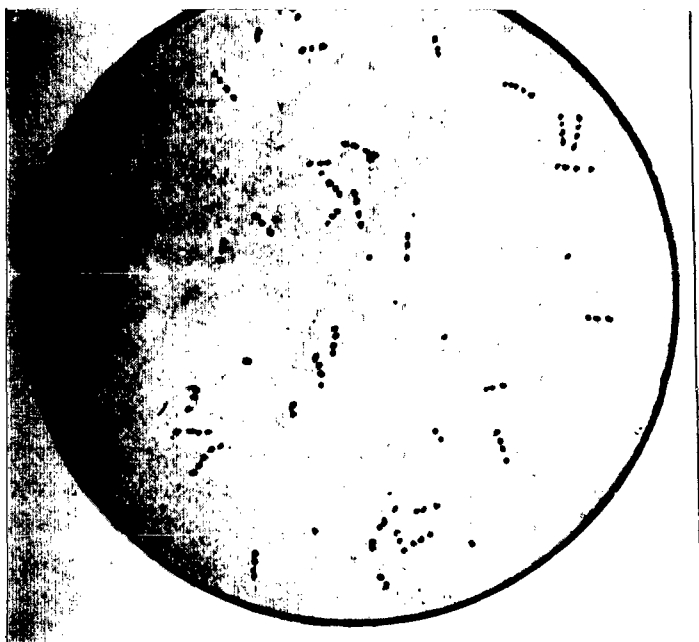


Figura # 2



Bacillus tuberculosis gallinaceo  
Forma àcidorresistente,  
coloraciòn Ziel - Neelsen.

Figura # 3



Bacillus tuberculosis ( tipo bovino )

Forma granular .

Coloraciòn de Munch.

## ELIMINACION INFECCIOSA Y PRODUCTOS BRUTOS.

Los bacilos de la tuberculosis, además de residir en órganos enfermos y en ocasiones en la sangre, se hallan en el contenido de cavidades y conductos de paredes ulceradas, o llegan a él con productos morbosos de órganos enfermos, cuando tales conductos desembocan en la superficie del cuerpo y su contenido, es expulsado al exterior.

El esputo pulmonar, por la frecuencia de la tuberculosis de los órganos respiratorios, figuran en el primer término como eliminación infecciosa. ( 2 )

Las heces de animales enfermos también contribuyen mucho a la difusión de la tuberculosis, los bacilos pueden pasar al contenido entérico desde úlceras intestinales y además, con las bilis desde la sangre o desde el hígado enfermo y en la tuberculosis del páncreas, con el jugo pancreático, pero sobre todo, con expectoración deglutida en la tuberculosis pulmonar.

La leche contiene siempre bacilos de la tuberculosis, cuando la mama es tuberculosa.

Si la leche conserva el aspecto normal, suele contener pocos bacilos y estos distribuidos uniformemente, pero cuando es acuosa se halla en gran número, sobre todo en los copos y grumos ( según Klimmer hasta 1 millón en 1 cc. ). Naturalmente los bacilos de la tuberculosis pasan también a los productos lácteos. Con el reposo de la leche se acumulan en la crema y por centrifugación, en la -

nata y más copiosamente aún en el pozo producido al centrifugar, pero parte quedan en el suero descremado, en la preparación del queso y del requesón, los bacilos pasan principalmente al coàgulo de caseína y quedan relativamente pocos en el suero.

Las vacas también pueden contener bacilos de tuberculosis cuando la ubre todavía parece sana.

En casos excepcionales, la leche, incluso en vacas aparentemente sanas, puede contener el material infeccioso.

La leche de una sola vaca con tuberculosis mamaria puede infectar grandes cantidades de leche, cuando se mezclan con leches de -- otras vacas, de aquí que la leche cruda de granjas lecheras y de -- grandes lecherías y generalmente la de los mercados, se encuentra infectada. ( 4 ) .

En la infección enterógena ( alimenticia) son vehículos bacilíferos: por una parte, los alimentos y el agua de bebida impurificadas por evacuaciones y eliminaciones que llevan bacilos de tuberculosis y por otra, la alimentación con órganos tuberculosos y especialmente, con leche de vacas con tuberculosis mamaria.

En los establos, la enfermedad se puede propagar mediante alimentos y agua de bebidas contaminadas con eliminaciones y evacuaciones bacilíferas, tanto más rápidamente cuanto mayor es el hacinamiento de las reses y menores la ventilación y la luz, pues en tales circunstancias, los bacilos de la tuberculosis pueden vivir largo tiempo. Son otras ocasiones de infección alimenticia para los bòvidos: la permanencia en establos con montones de estièrcol, el apacen---

tamiento con animales enfermos, ( abrevaderos comunes); para los cerdos, el hozar en estièrcol y basura, la alimentaciòn con òrganos enfermos y lavazas y la permanencia en corrales con gallinaceas; para los perros, gatos y aves enjauladas en habitaciones, la permanencia cerca de personas tuberculosas en locales pùblicos, etc.

En este sentido son de singular importancia, no solamente la leche mamada o administrada cruda de animales enfermos de tuberculosis mamaria, sino tambièn la descremada procedente de lecherías colectivas, la ùltima especialmente cuando se ha mezclado con los pasos de centrifugaciòn, a menudo muy ricos en bacilos. ( 5 )

El problema de sì, en un caso dado, la infecciòn tuberculosa se produjo por las vías aèreas ( tuberculosis por inhalaciòn ) o por las digestivas ( tuberculosis enterògena o por ingestión de alimentos), lo puede resolver la investigaciòn anatómica del asiento de las alteraciones tuberculosas. Segùn las experiencias de NIEBERLE y sus discìpulos, en el ternero, junto a la infecciòn aerògena, tendria importancia no despreciable la enterògena ( de 117 terneros tuberculosos, padecieron tuberculosis enterògena 13 % aerògena 39 % y de origen intrauterino, 48 %). En cambio, en los novillos y bovinos adultos la infecciòn se debe casi siempre a la inspiraciòn de aire bacilífero ( en màs de 90 % de los casos), en caballo y en cerdo y lo mismo en los animales de peletería, la tuberculosis, pràcticamente, se debe sòlo a la infecciòn por medio de alimentos. Por el con-

trario, la tuberculosis del perro y del gato es en gran parte tuberculosis por inhalaciòn.

Otras posibilidades de infecciòn. Esta puede acontecer mediante la còpula, cuando existe tuberculosis genital. Tras aquèlla, se han observado repetidas veces tuberculosis de la vejiga o de la vulva, contagiadas por toros con tuberculosis del pene o de los apidìdimos y en toros, tambièn puede sobrevenir tuberculosis de apidìdimos despuès de cubrir vacas con tuberculosis de la matriz y de las trompas.

La tuberculosis galactògena de la ubre, muy rara, puede producirse cuando penetran en la glàndula, por el conducto del pezòn, bacilos tuberculosos de la cama o capuchòn de ordeño infectados.

Las infecciones, tambièn muy raras, por heridas cutàneas, generalmente sòlo producen tuberculosis local en la puerta de entrada y a lo sumo, en los ganglios linfáticos regionales. Es màs peligroso la infecciòn por heridas de castraciòn que se observa en ocasiones, en bòvidos y màs a menudo en cerdos, por mojarse con leche o contaminarse con la cama o las heces intestinales y a veces por humedecerse las heridas con la saliva de castradores enfermos del pulmòn. ( 3 ) .

Tipos bacilares en la tuberculosis de las distintas especies.

La tuberculosis es causada en los bovinos, por los bacilos en eliminaciones y excreciones de bovinos enfermos e inspirados --

con el aire, o ingeridos con el agua y el pienso y en terneros -  
lacteos muy a menudo; la leche de vacas con tuberculosis mama-  
ria, en casos raros, se observan infecciones por bacilos de la -  
tuberculosis humana y de las aves de corral.

Los carneros y las cabras no solamente pueden contagiarse  
entre sí la tuberculosis, sino, adquirir esta infección por con-  
tagio de bovinos tuberculosos; pero, alguna vez, la infección -  
también la pueden producir los bacilos tuberculósicos oviarios.

Esta forma de contaminación hasta parece ser la más frecuen-  
te, desde que disminuyó considerablemente la infección tubercu-  
losa de los efectivos bovinos.

En los bovinos, muy rara vez también se darían infecciones  
por bacilos humanos. ( 1 )

La receptividad, para la tuberculosis varía según la espe-  
cie animal, la más receptivas serían la bovina y la porcina, en  
cambio los demás mamíferos ofrecerían mayor resistencia.

La influencia de la raza no puede juzgarse con certeza, en  
gran parte guarda relación etiológica con el modo de vivir y ex-  
plotar los animales. Así por ejemplo, los bòvidos de la raza --  
gris, casi enferman en igual proporción que los de raza de co-  
lor, cuando se les estabula ( bueyes de tiro), por ejemplo es -  
mucho más rara en los becerros que viven en montañas.

El que las razas oriundas de sitios bajos enfermen más que las de los sitios altos, también hay explicación, en las circunstancias de que, por dar mayor cantidad de leche, se las tiene con predilección estabuladas y se las prefiere y explota más en las grandes vaquerías y granjas lecheras.

La receptividad individual tampoco es igual en los animales de la misma raza, en las grandes explotaciones bovinas, incluso en las muy infectadas, hay siempre reses que, a pesar de su explotación constante y con el mismo peligro de infección que sus compañeras, alcanzan avanzada edad, en perfecta salud.

Los experimentos de infección artificial demuestran diferencias análogas, esta resistencia individual puede ser congénita, pero de ordinario, es adquirida, pues tales reses, una vez infectadas, padecen sólo de modo leve y pasajero un complejo -- primario y así adquiere cierta inmunidad.

Para explicar la difusión de la tuberculosis, también suele admitirse predisposición familiar, la cual en el hombre, tiene su expresión, entre otros, en caracteres anatómicos (hábito físico); en los animales, no hay elementos de juicio suficientes para pensar en semejante predisposición, pero tampoco se puede pensar en una posibilidad. La tuberculosis, realmente se presenta con especial frecuencia en animales de una misma procedencia, pero esto también puede ser debido al modo de tenerlos y cuidarlos y así mismo, a que se hallan en condiciones uniformemente -- favorables para la infección. ( 4 ).



### LA HERENCIA.

Tiene insignificante importancia en la difusión de la tuberculosis, la posibilidad de una herencia concepcional o germinativa de la fimatosis no se da en los mamíferos; cuando los descendientes de vacas tuberculosas nacen con alteraciones tuberculosas, ello se debe, a transmisiones diaplacentarias, éstas son posibles cuando las madres tienen tuberculosis uterina o placentaria y estas formas de tuberculosis congénita sólo se observa en terneros. Salvo estos casos la tuberculosis heredada, no se presenta en los descendientes de padres tuberculosos, a lo sumo puede hablarse de la herencia de una receptividad especial, lo demuestra del modo más convincente -- la experiencia de que, incluso los descendientes de padres grave--mente tuberculosos, excepto los que nacen ya enfermos, permanecen sanos cuando se logra preservarles de ulteriores contagios criando los adecuadamente. ( 1 )

Con la edad, la frecuencia de las enfermedades tuberculosas -- aumentan poco a poco, pero continuamente, en los bòvidos, más de -- la mitad de los casos de tuberculosis descubiertos, mediante la -- prueba de la tuberculìnica o en el matadero pasan de los 6 años de edad, este hecho, a pesar de la gran receptividad del organismo juvenil, se debe a que los animales estàn expuestos a contagios más frecuentes y persistentes cuando van teniendo más edad.

La frecuencia de la tuberculosis únicamente guarda relación con sexo en cuanto este va unido al modo de tener y emplear al animal, se le observa con la mayor frecuencia en las vacas ( de las -- cuales no rara vez reaccionan a la tuberculina de 70 a 80 % y más

en las granjas lecheras); en cambio en los bueyes y sobre todo en los toros que suelen alcanzar menos edad, el número de casos es menor.

#### SINTOMAS.

Los síntomas de la tuberculosis varían con el órgano involucrado y como se ha mencionado anteriormente, cualquier órgano puede ser afectado; la tuberculosis precoz generalmente es asintomática; debilidad progresiva, acompañada de emaciación, caracterizan los últimos estadios de la enfermedad; tos irregular y débil, sugiere tuberculosis pulmonar y puede ir acompañada de hinchazones indoloras de los ganglios linfáticos externos. ( 9 )

#### DIAGNOSTICO.

El diagnóstico positivo se logra por el aislamiento del bacilo de las descargas orgánicas, esputo o leche, o por medio de las reacciones tisulares a la tuberculina.

La Tuberculina, producto del metabolismo del bacilo tuberculoso se elabora, cultivando el microorganismo en un medio apropiado, hasta que el crecimiento se detiene, después de lo cual, el medio se filtra, concentra y esteriliza; cuando la tuberculina se introduce en un animal infectado, se logra una reacción alérgica, porque el animal está sensibilizado por el bacilo que ha crecido dentro de él.

Existen tres pruebas de uso común: la prueba oftálmica, subcutánea e intradérmica.

La más usual de las pruebas de la Tuberculina es la intradèrmica, en la prueba intradèrmica, se inyecta no menos de 0.1 cc.,-- para probar rebanõs conocidos como infectados en el pliegue coudal, palpàndose setenta y dos horas màs tarde.

Se requiere que se haga una inyecciòn de confrontaciòn en el labio vulvar, en la uniòn de la piel y la membrana mucosa, estas inyecciones son conocidas como las inyecciones intradèrmicas superior e inferior.

La reacciòn en los animales infectados, consiste en una hinchazòn dura, esfèrica, de un cuarto de centìmetro o màs de diàmetro que aparece en el lugar de la inyecciòn, o una hinchazòn extensa y difusa en casi todo el pliegue caudal.

Los animales que no muestran reacciones en el sitio de la inyecciòn, se consideran negativos, mientras que, los sujetos con reacciones pequeñas, como hinchazòn leve y difusa, son considerados sospechosos. ( 8 ) .

Un mètodo alternativo para la detecciòn de tuberculosis, es la Tinciòn Tb- Color, tècnica de la Casa Merck.

A fin de separar las bacterias de la tuberculosis del esputo, al realizar el examen, es necesario liberarlas primero de las masas celulares y mucosas envolventes; para ello, nuestro equipo cuenta con una soluciòn llamada Sputofluol ( R ) , la cual, disuel-

ve por vía oxidativa el material orgánico, preservando las bacterias de la tuberculosis resistentes al álcali y al ácido; de esta manera se desvitalizan también los otros organismos presentes no deseados.

Entre las particularidades de esta tinción- modificada, según Ziehl Neelsen, cabe destacar que siendo los resultados igualmente buenos, no se requiere calentar la fucsina fenicada ( vapores fenólicos) durante el proceso de tinción.

Para teñir las bacterias se emplean varios colorantes, que, para ser calificados como tales, deben ser coloreados y existir químicamente como sales; los colorantes son compuestos orgánicos que contienen radicales cromóforos, esto es, que producen color y grupos auxocromos, que forman sales.

Los colorantes, siendo sales, se disocian en iones positivos y negativos y por lo tanto, son clasificados como " ácidos o básicos", dependiendo de que la porción colorante ( radical cromóforo) actúe como ácido o base, según se encuentre en el anión o en el catión, respectivamente.

Las bacterias tienen carga negativa y por lo tanto, cualquier colorante que se use para teñirlas, debe tener su porción colorante actuando como base, en el ión positivo; dichos colorantes son llamados " colorantes básicos".

Los colorantes ácidos no tiñen la célula bacteriana y por tanto, pueden ser usados para impartir al fondo un color de contraste.

Los colorantes no resultarían de impregnar las bacterias con la materia colorante, sino que representa una reacción microquímica; el mecanismo es un intercambio iónico entre el colorante básico y las porciones ácidas del protoplasma - ácidos nucleicos- y - sus compuestos, con formación de compuestos nucleótidos - colorantes insolubles que no difunden saliendo de la célula.

El método de tinción Tb- Color es útil en un diagnóstico por que establece la distinción entre los bacilos llamados ácidorresistentes y los no ácidorresistentes, ya que los ácidorresistentes, son como su nombre lo indica, más resistentes a la decoloración y al alcohol y al ácido que los otros bacilos.

Los bacilos ácidorresistentes teñirán de rojo; otros materiales de verde; cuando se emplean el contra colorante verde, de malaquita.

El costo de esta técnica Tb- Color y el material utilizado - nos da un costo aproximadamente de 2' 044,100.00 Pesos y el costo de la prueba de la tuberculina nos da un costo por animal de 4,500.00 Pesos, que nos daría un total tomando en cuenta las 500 muestras que contiene la técnica de Tb- Color de 2' 250,000.00 Pesos.

#### REGISTROS DE CASOS DE TUBERCULOSIS EN JALISCO EN 1990.

Datos proporcionados por la Secretaría de Salubridad y Bienestar Social ( S.S.B.S. ), quien ha registrado diferentes tipos de tuberculosis.

Para el caso de tuberculosis pulmonar, ha detectado un total de 398 casos, los cuales se distribuyen principalmente entre 25 y 44 años. ( Ver Figura # 4 )

Se ha detectado para tuberculosis de otras formas un total de 300 casos en el cual se distribuye también entre 25 y 44 años. ( Ver Figura # 5 )

En el caso de tuberculosis por vías respiratorias, sólo existieron 25 casos durante trece semanas de 1991 de Enero a Marzo.

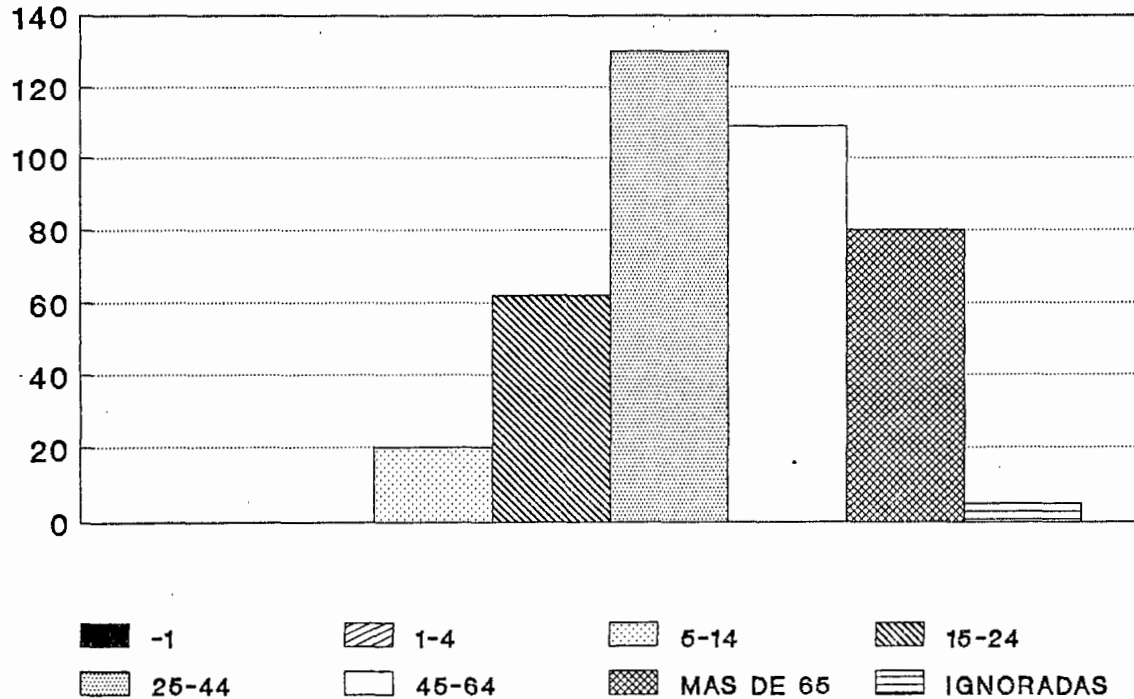
(Ver Figura # 6 )

Para tuberculosis de otras formas ( semana trece de 1991) hubo un total de 26 casos. ( Ver Figura # 7 )

MORTALIDAD POR TUBERCULOSIS - 217 CASOS.

# ENFERMOS POR TUBERCULOSIS REPRESENTACION GRAFICA

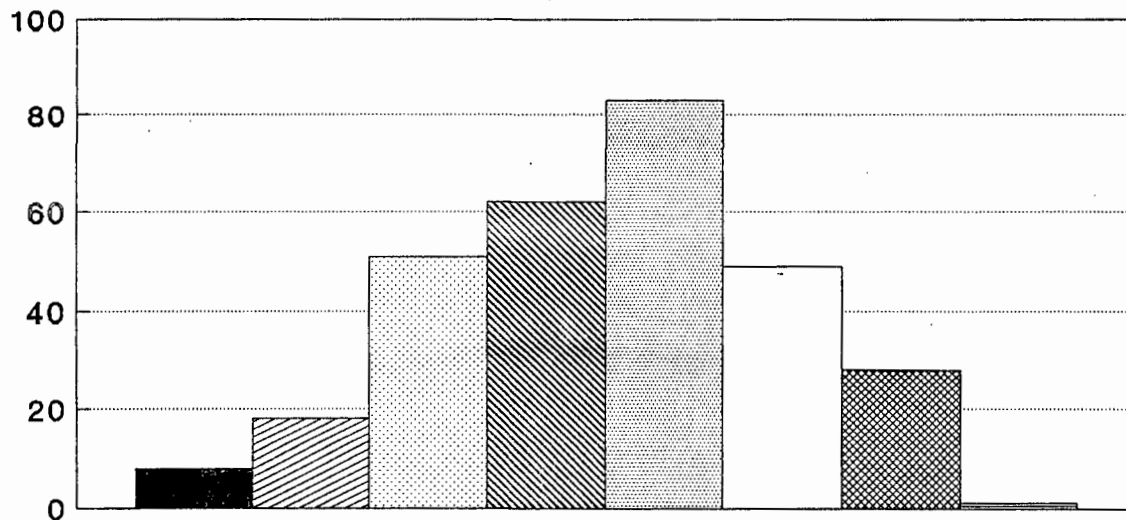
FIGURA #4



S.S.B.S. 1990

# ENFERMOS POR TUBERCULOSIS OTRAS CAUSAS

FIGURA #5



CASOS



25-44

EDAD



1-4



45-64



5-14



MAS DE 65



15-24



IGNORADAS

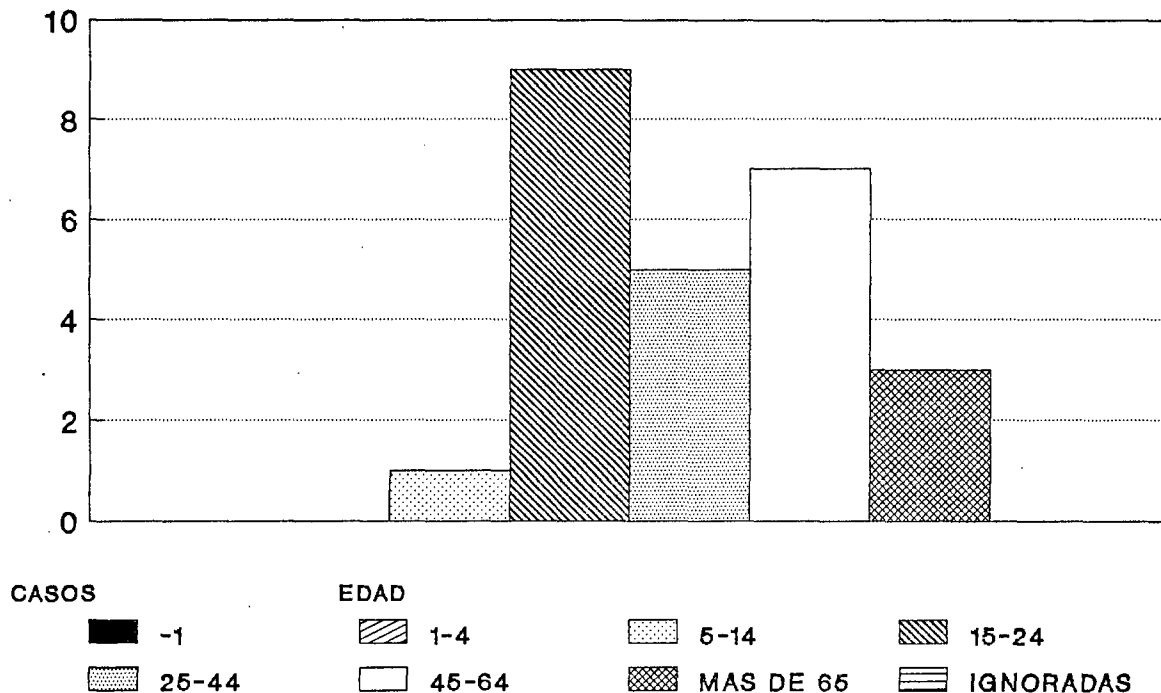
S.S.B.S. 1990



# ENFERMOS POR TUBERCULOSIS

## SEMANA 13

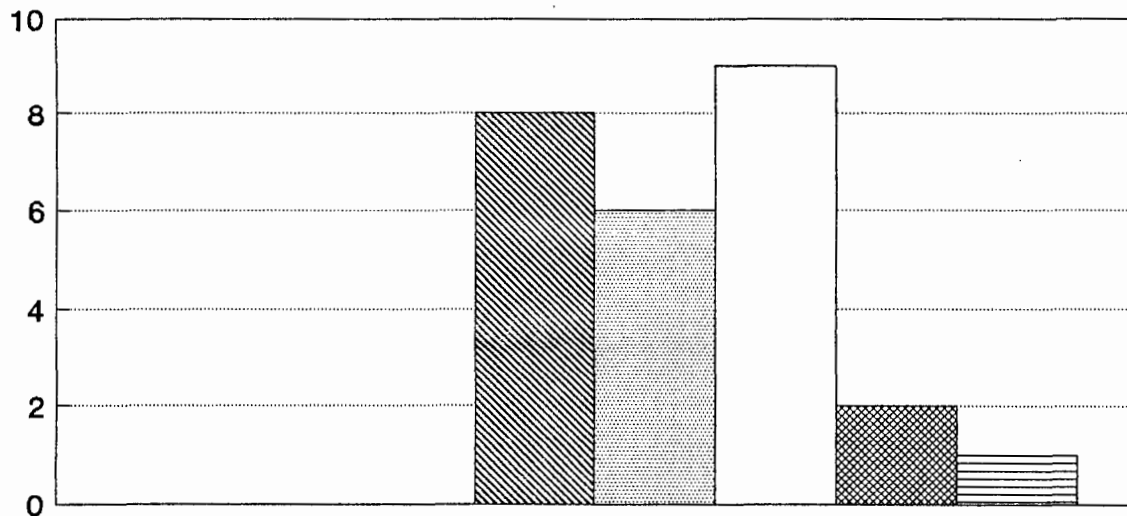
FIGURA #6



S.S.B.S 1991

# ENFERMOS POR TUBERCULOSIS OTRAS CAUSAS

FIGURA #7.



CASOS

■ -1  
 ▨ 25-44

EDAD

▧ 1-4  
 □ 45-64

▩ 5-14  
 ▤ MAS DE 65

▨ 15-24  
 ▬ IGNORADAS

S.S.B.S 1991

VI. MATERIALES Y METODOS.

Este trabajo se desarrollò en establos ubicados en Toluquilla Municipio de Tlaquepaque y Cocula, Jalisco.

La Uniòn Ganadera Regional de Jalisco, nos proporcionò un listado con la ubicaciòn de 9 establos.

Los establos muestreados tienen un total de 515 vacas Criollas.

Establo	No. 1	No. de animales				58
" "	No. 2	"	"	"	"	84
" "	No. 3	"	"	"	"	66
" "	No. 4	"	"	"	"	35
" "	No. 5	"	"	"	"	48
" "	No. 6	"	"	"	"	66
" "	No. 7	"	"	"	"	35
" "	No. 8	"	"	"	"	48
" "	No. 9	"	"	"	"	75
		TOTAL				515

La ubicaciòn de los establos es el siguiente ( Ver croquis # 1).

VICENTE GUERRERO -30-  
GPE. VICTORIA

HIDALGO

HERRERA Y CAIRO

LOPEZ COTILLA

COLON

INDEPENDENCIA

MATAMOROS

6MO. PRIETO

CROQUIS # 1

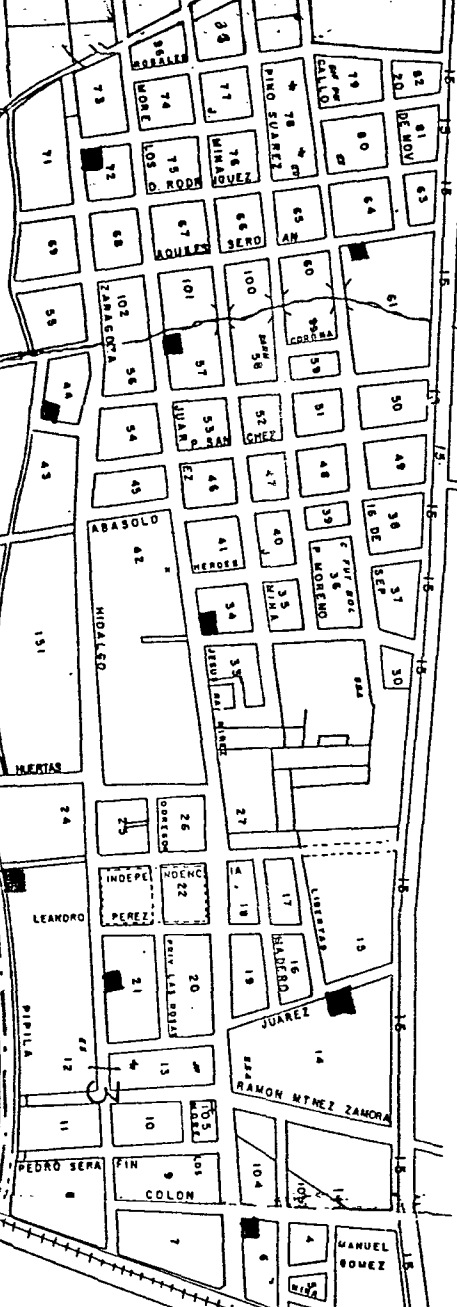
UBICACION DE LOS ESTABLOS.

COLINDA ZONA 30

TOLUQUILLA

VALOR DE ZONA  
\$ 128

M. LOPEZ COTILLA



ZONA 49

LA PAZ

INCAEPA

AMAHUAC

GUANTEMOC

PERIFERIC



MATERIAL UTILIZADO PARA LA TOMA DE MUESTRAS.

- 1.- Frasco con tapadera de rosca.
- 2.- Cinta Maskin Tape.
- 3.- Papel Imprenta.
- 4.- Marcador.
- 5.- Hielera.
- 6.- Hielo.
- 7.- Leche.

MATERIAL UTILIZADO EN EL LABORATORIO.

- 1.- Autoclave.
- 2.- Equipo Tb- Color.
- 3.- Goteros.
- 4.- Pipeta de 10 ml.
- 5.- Tubos de ensayo 13 X 100.
- 6.- Tapones del cero.
- 7.- Centrífuga.
- 8.- Asa de Nicromo.
- 9.- Porta Objeto.
- 10.- Gradilla.
- 11.- Microscopio.
- 12.- Estufa.

METODO EMPLEADO PARA LA TOMA DE MUESTRAS.

Se hicieron dos repeticiones, en la cual se tomaron las muestras, en condiciones normales de manejo de los establos.

El muestreo se realizò directamente de la ubre de la vaca y destapando los frascos esterilizados, lo màs cerca de la ubre, - para evitar alguna contaminaciòn.

Posteriormente se etiquetaron las muestras, marcando claramente la fecha, la hora, el lugar y nùmero de muestra; enfriàndo las inmediatamente despuès, dentro de la hielera.

El tiempo que se tardò en llevar las muestras al laboratorio fue de 60 minutos aproximadamente.

Para analizar se utilizò la tècnica de tinciòn Tb- Color 16, 450 Diagnostica Merck.

#### METODO DE MUESTREO.

Las muestras para el anàlisis de tinciòn se deben tomar en - frascos, que se hayan lavado con extremo cuidado, enjuagado con - agua limpia y esterilizado.

#### PROCEDIMIENTO DEL MUESTREO.

El frasco de muestra, no debe destaparse sino hasta el momento en que se necesita para el muestreo; el tapòn se debe quitar - con todo cuidado para evitar que se ensucie y durante el muestreo, no debe tocar el tapòn, ni la boca del frasco y se han de proteger de la contaminaciòn, el frasco se debe de tomar cerca de su base y se ha de llevar sin enjuagar, volviendo a taparla inmediatamente.

#### VOLUMEN DE LA MUESTRA.

El volumen de la muestra debe ser el suficiente para verificar todos los ensayos que se requieran, de preferencia, no menos de 100 ml.

#### TECNICA Tb- COLOR 16450 DIAGNOSTICA MERCK.

##### Composiciòn del equipo de tinciòn:

Sol'n 1: Soluciòn de Sputofluol ( R ) ( Contiene Hidròxido Sòdico y Sol'n de Hipoclorito sòdico ).

Sol'n 2: Soluciòn de fucsina fenificada ( Contiene fenol y etanol ).

Sol'n 3: Soluciòn decolorante ( Contiene etanol con 0.75 % de -- àcido clorhídrico ).

Sol'n 4: Soluciòn de verde de malaquita ( Contiene 0.2 % de verde de malaquita oxalato ).

#### METODO DE LABORATORIO.

##### 1.- Preparaciòn de la muestra.

En un tubo para centrifuga se añaade a una parte de la muestra, ( mìnimo 2 ml. ). tres partes de soluciòn de sputofluol (R) al 15 % preparada con agua destilada, agitando el tubo con fuerza, se le deja actuar por espacio de 10 minutos.

Seguidamente, se centrifuga durante 20 minutos a 3000 - 4800

RPM; la porciòn sobrenadante se decanta y se realiza el frotis.

## 2.- Fijaciòn.

La fijaciòn tiene lugar por medio de la llama del mechero - bunsen ( 2 ò 3 veces evitando el sobrecalentamiento), tambièn se pueden fijar los frotis colocàndolos en una estufa a una temperatura de 45- 60 grados centìgrados, por espacio de 60 minutos.

En caso de verse sometidos a un tratamiento tèrmico màs intenso, pueden resultar menoscabadas las posibilidades de tinciòn.

## 3.- Procedimiento en el banco de tinciòn.

Cubrir completamente los preparados secados al aire y fijados por calor con la soluciòn de fucsina fenicada (2), dejando de actuar la tinciòn por espacio de 5 minutos.

Enjuagar con agua corriente hasta que no se desprenden nubes de color.

Cubrir completamente los preparados con la soluciòn decolorante (3) y enjuagar de inmediato con agua corriente ( periodo de decoloraciòn màximo 30 segundos).

Enjuagar con agua corriente durante 10 segundos aproximamente y secar al aire.

El preparado teñido, se estudia durante 5 minutos como mìnimo durante el examen microscòpico de campo claro, para ello, se emplea aceite de inmersiòn y un objetivo entre 90 y 100 aumentos.

En caso de una buena tinciòn las micobacterias àcidorresisten



tes se diferencian claramente por su color rojo, del fondo verde azulado; más o menos amorfo.

Para probar que nuestra técnica sea 100 % efectiva, buscamos un hato sospechoso, el cual, lo encontramos en Cocula, Jalisco; a este hato, se le aplicò primeramente la prueba de la Tuberculina y dio resultado positivo, dando también positivo a la técnica de tinción Tb- Color.

El muestreo experimental se hizo en base al muestreo estratificado aleatorio ( M.E.A.). Con 515 vacas por cuestiones económicas se utilizò este muestreo estratificado aleatorio con asignación Neyman.

En Cocula, Jalisco; no se hizo muestreo porque en este estable se le aplicaron a 40 vacas la prueba de la Tuberculina y una vaca saliò sospechosa.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSION.

El presente trabajo fue realizado en Toluquilla, Jalisco; el cual se encuentra localizado al sur de la ciudad de Guadalajara, Jalisco.

Toluquilla se caracteriza por dedicarse a la siembra de cultivos básicos y a la producción de leche, para lo cual cuenta con 9 establos localizados en diferentes puntos dentro de él. éstos se encargan de abastecer a las colonias del sur de Guadalajara, Jalisco.

Dichos establos fueron elegidos para la toma de muestras, las cuales se utilizaron para la realización del presente trabajo. Se tomaron 164 muestras diferentes con su respectiva repetición, para poder lograr resultados óptimos y confiables, siendo estos los siguientes:

De las 328 muestras tomadas, 314 resultaron negativas, por la ausencia de cualquier bacteria patógena y 13 resultaron positivas con la presencia de bacterias de especie Colli.

Al obtener estos resultados se vio la necesidad de encontrar una muestra positiva, para lo cual fue necesario localizar primero una vaca sospechosa de presentar tuberculosis, ésta fue localizada en Coçula, Jalisco; por medio de personas que realizaron pruebas de la Tuberculina, en 40 vacas existentes en el establo ubicado en el sitio ya mencionado; después de 48 horas de realizada la prueba, ésta presentó una hinchazón en el sitio de la aplicación de la inyección, dando esto una certeza de que la vaca estaba infectada --

por el bacilo de la tuberculosis; se procedió hasta entonces a tomar la muestra necesaria de la leche y llevarla inmediatamente al laboratorio para realizarle el análisis correspondiente ( Técnica Tb- Color) para la detección de mycobacterias tuberculosas en leche bronca de reciente ordeña.

El resultado reportado por el laboratorio fue positivo, corroborando con la eficacia de la técnica para la detección de dichas bacterias en leche bronca, inmediatamente se solicitó un examen general a una muestra negativa, para realizar una comparación de los resultados obtenidos entre ambas. Los resultados fueron los siguientes:

MUESTRA NEGATIVA

( leche normal )

Color: Blanca

Olor: Seigeneris

Aspecto: Claro, limpio

Densidad: 1.20 gr/cc

PH: 7

MUESTRA POSITIVA

( Leche infectada)

Color: Amarillenta

Olor: Penetrante y desagradable

Aspecto: cremoso

Densidad: 1.16 gr/cc

PH: 8

En base a las investigaciones realizadas sobre el costo del material que se necesita para poder realizar esta técnica de laboratorio, se determina un valor aproximado de \$ 2'044,100.00; comparándola con la prueba de la Tuberculina, que tiene un costo de -- \$ 4,500.00 pesos por vaca . Nos daría un total en las 500 muestras, de la cual consta el equipo de tinción Tb-Color, de \$ 2'250,000.00 pesos más costoso que el de Tb- Color.

los resultados que se presentan en la figura # 8, de la primera re-  
petición, se observan de 164 muestras, los siguientes resultados:

164 muestras nos dieron resultado negativo en bacterias de Mycobacterium tuberculosis.

7 muestras nos dieron positivas de bacterias de Escherichia coli.

En la figura # 9, teniendo la segunda repetición, con los si-  
guientes resultados de las 164 muestras:

164 muestras dieron resultado negativo en Mycobacterium tuber-  
culosis.

6 muestras dieron resultado positivo en bacterias de Escherichia  
coli.

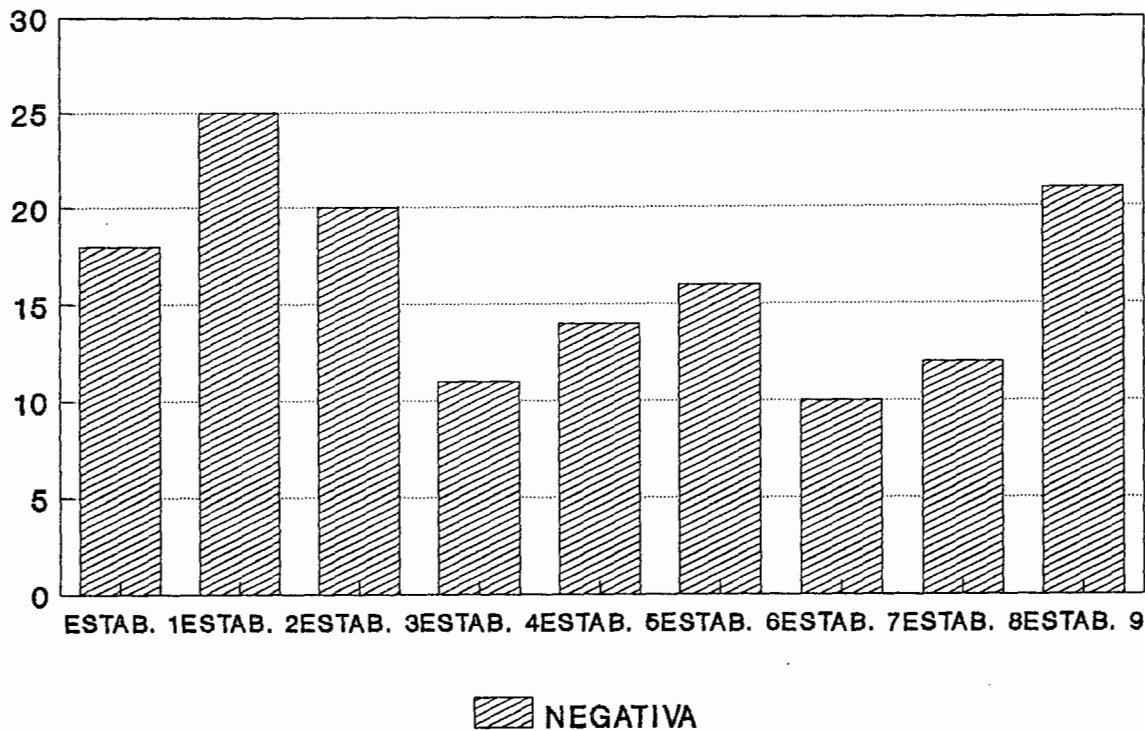
Las bacterias de Escherichia coli, se presentan por falta de -  
higiene en los establos, por eso es que hay la presencia de dicha -  
bacteria.

En la figura # 10 se reporta la muestra positiva de 40 muestras  
de un establo de Cocula, Jalisco.

39 muestras nos dieron negativa y 1 dio resultado positiva en  
Mycobacterium tuberculosis.

# DETERMINACION DE TUBERCULOSIS EN LECHE REPORTE DE MUESTREO

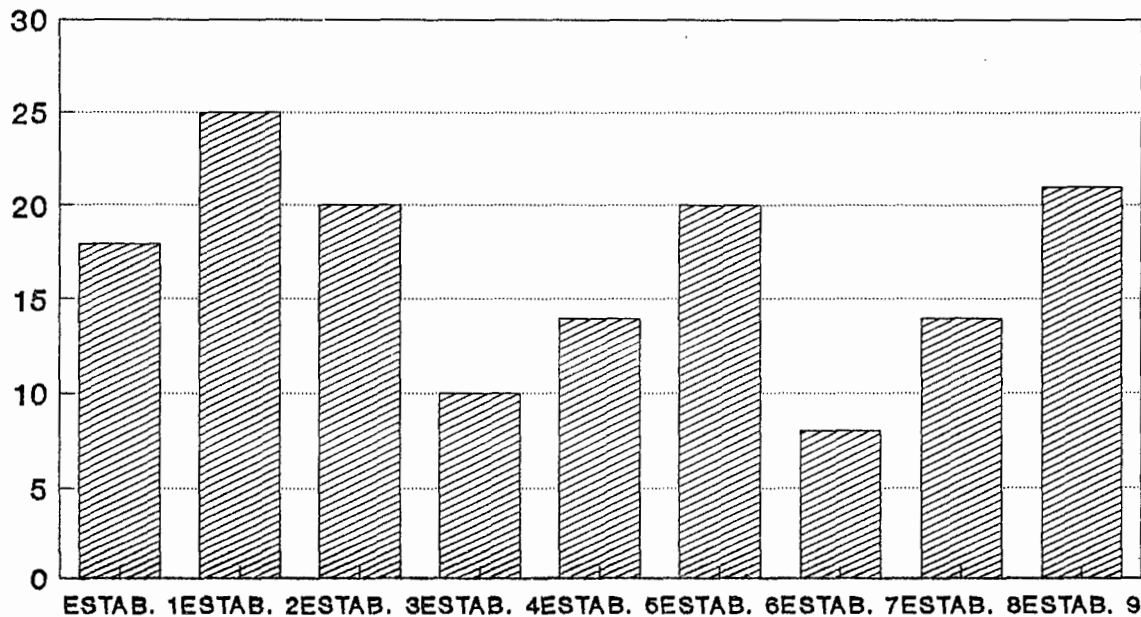
FIGURA #8



TOLUQUILLA, JAL.

# DETERMINACION DE TUBERCULOSIS EN LECHE REPORTE DE MUESTREO

FIGURA #9

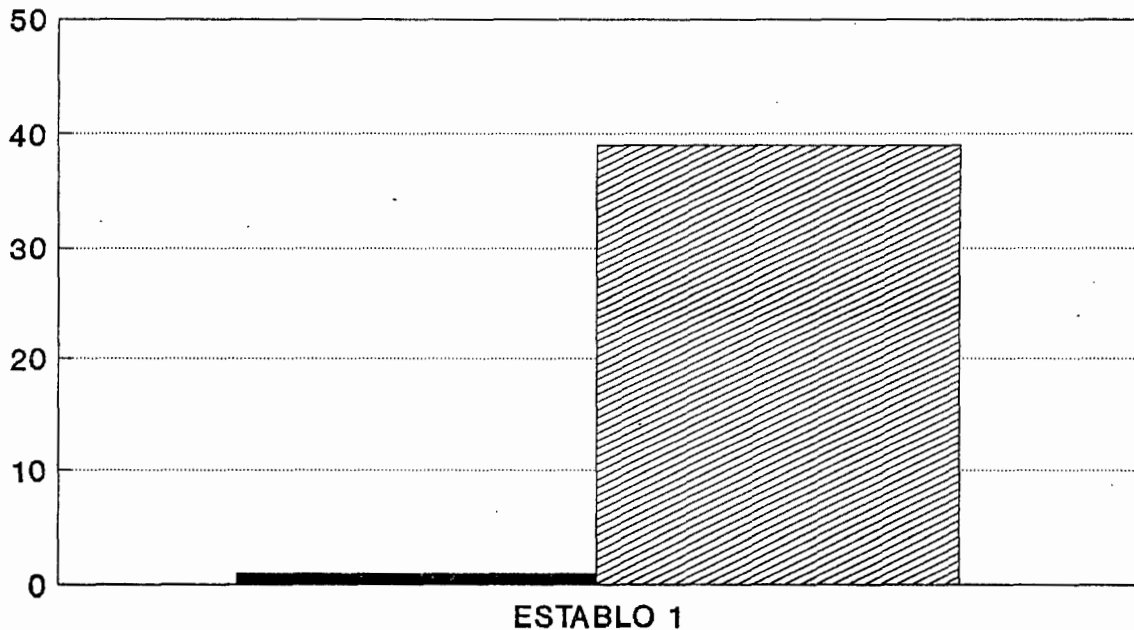


 NEGATIVA

TOLUQUILLA, JAL.

# DETERMINACION DE TUBERCULOSIS EN LECHE REPORTE DE MUESTREO

FIGURA #10



■ POSITIVA    ▨ NEGATIVA

POSITIVA EN MYCOBACTERIUM, TUBERCULOSIS

COCULA, JAL.

### VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

De los resultados obtenidos se puede derivar las siguientes conclusiones:

- 1.- Que la tècnica Tb-Color es 100 % confiable, para determinar ba cilos Mycobacterium tuberculosis en la leche bronca.
- 2.- Al analizar las leches broncas por el mètodo de tinciòn Tb-Color, para determinar bacilos Mycobacterium tuberculosis, los resultados fueron satisfactorios, ya que al analizar leches de diferentes vacas de establos de Toluquilla, Jal., obtuvimos -- que la tècnica es confiable para la detecciòn de bacilos en ca so que existieran.
- 3.- El realizar este trabajo permite tomar una gran responsabilidad, ya que si la tècnica es confiable, los ganaderos obtendrì an resultados màs ràpidamente en caso de que la vaca estuviera infectada.
- 4.- Por eso se recomienda el uso de esta tècnica, por confiable y dar un ràpido resultado, comparàndolo con la prueba de la Tuberculina, ya que dicha prueba necesita ser dirigida por mèdicos de la Uniòn Ganadera, ya que no es fàcil de conseguir la vacuna, ademàs el ganadero necesita conocer al 100 % la reacciòn de la prueba.
- 5.- La prueba Tb- Color tiene ventajas sobre èsta, ya que con un costo màs bajo se puede comprobar la infecciòn en una muestra de leche, por la capacidad de exàmenes a realizar con un sòlo



equipo, se podría hacer periódicamente a todo el ganado lechero, sin necesidad de ocasionar algún trauma al animal.

- 6.- La realización de este trabajo ha sido de gran experiencia, por que con su estudio se demuestra que existen otras alternativas, para el ganadero respecto a esta problemática, ya que la información es escasa y el ganadero se inclina por realizar la prueba de la Tuberculina.
- 7.- Se recomienda en caso de dar positiva la muestra por la técnica Tb- Color, se realice un examen subsecuente del animal y se proceda a la prueba de la Tuberculina.
- 8.- Este trabajo ofrece satisfacción e impulsa a seguir investigando sobre nuevas alternativas accesibles, económicas y rápidas, para la detección de infecciones en el ganado lechero.

IX. RESUMEN.

La tècnica de tinciòn Tb- Color que se utilizò en todas las determinaciones fue la indicada ya que se comprobò que en tèrminos generales, la leche que se obtiene en dichos lugares està libre de bacillus Mycobacterium tuberculosis; presentò este muestreo, una sola muestra positiva, coincidiendo con la prueba de la Tuberculina aplicada en el mismo especimen estudiado.

Con el fin de facilitar a los ganaderos la detecciòn de bacillus de tuberculosis en el ganado bovino, se realizaron anàlisis de la muestra de leche en base a la tècnica de tinciòn de Tb-Color. El nùmero de muestras utilizadas en dicho anàlisis fue de 368 de las cuales 328 se obtuvieron en Toluquilla, perteneciente al Municipio de Tlaquepaque, Jalisco, las 40 restantes se adquirieron de Cocula, Jalisco.

Los beneficios de esta tècnica Tb- Color son ademàs muy importantes en el aspecto econòmico, ya que su costo es màs bajo en comparaciòn al de la prueba de la Tuberculina, siendo ambas tècnicas igual de confiables; la tècnica Tb- Color es màs ràpida de realizar y de presentar resultados, los cuales se obtienen el mismo día de la toma, permitiéndole al ganadero una ràpida detecciòn del ganado infectado, con lo que le permite tomar las medidas necesarias para el tratamiento del animal infectado. En cambio la prueba de la Tuberculina da resultados positivos o negativos despuès de 72 horas de aplicada la inyecciòn, con lo que se corre el riesgo del contagio entre los demàs bovinos.

Por todo lo anterior se concluye: que este trabajo, presenta una solución sobre la detección de infección de tuberculosis en - bovinos en forma económica, segura y rápida.

X. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Hutyra Marek I. 1960.  
PATOLOGIA Y TERAPEUTICA ESPECIALES DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.  
Editorial LABON. Primera Ediciòn. Mèxico, D.F.
- 2.- De Sa Vieira. 1965.  
LECHERIA TROPICAL.  
Editorial UTEHA. Primera Ediciòn. Mèxico, D.F.
- 3.- Domarus A.V., Farreras P. 1979.  
COMPENDIO PRACTICO DE LA PATOLOGIA MEDICA.  
Editorial MARIN. Quinta Ediciòn. España.
- 4.- Bryan A.H., Bryan Ch. A., Bryan Ch. G. 1981.  
BACTERIOLOGIA.  
Editorial CECSA. Primera Ediciòn. Mèxico, D.F.
- 5.- Mendenhall. Wadsworth Internacional. 1985.  
INTRODUCCION A LA PROBABILIDAD Y LA ESTADISTICA.  
Editorial IBEROAMERICANA. Segunda Ediciòn. Mèxico, D.F.
- 6.- N. C. Adriàn., Delaat. 1980.  
MICROBIOLOGIA.  
Editorial INTERAMERICANA. Primera Ediciòn. Mèxico, D.F.
- 7.- Tb- Color. Cold Staining. 1990.  
Editorial MERK. Primera Ediciòn. Mèxico, D.F.

8.- Minger M.E. 1969.

ZOOTECNIA GENERAL.

Editorial INMOBILIARIA, Sexta Edición. U.S.A.

9.- Fincher M.G., Gibbons W.J. 1960.

ENFERMEDADES DEL GANADO BOVINO.

Imprenta Benjamín F. Segunda Edición. México, D.F.

10.- S.S.B.S. 1991. Entrevista Personal. Guadalajara, Jal.

11.- SARH. 1991. Entrevista Personal. Guadalajara, Jal.

12.- UGRJ. 1991. Entrevista Personal. Guadalajara, Jal.

13.- FODECO. 1991. Entrevista Personal. Cocula, Jal.

\* S.S.B.S.- Secretaría de Salubridad y Bienestar Social.

\* SARH.- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

\* UGRJ.- Unión Ganadera Regional de Jalisco.

\* FODECO.- Fomento y Desarrollo de Cocula.