

# Boletín de Zootecnia

CONSEJO DE REDACCIÓN

Ilmo. Sr. D. Rafael Castejón y Martínez de Arizala, Ilmo. Sr. D. Gumersindo Aparicio Sánchez, Sres. Vocales Regionales de la 2.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> Zona y Sr. Director de la Biblioteca de la Facultad de Veterinaria de Córdoba.— Secretario-Director, D. Manuel Medina Blanco. Facultad de Veterinaria de Córdoba.

PUBLICACIÓN MENSUAL



## SUMARIO

Editorial: R. C.: 483-484.—*Antonio Rodero Franganillo*: Métodos de medida de la heredabilidad (continuará), 485-494.—Memoria de los trabajos realizados sobre brucelosis en el Instituto Provincial de Sanidad de Córdoba, bajo la dirección del profesor Sanford S. Elberg, por los becarios del Colegio Oficial de Veterinarios Antonio Garrido Contreras y José M.<sup>a</sup> Gutiérrez-Ravé, (conclusión) 495-519.—Noticias, 520.—Fichas Bibliográficas.

BOL. ZOOTEC. (CÓRDOBA) 16 (165), 1960

AÑO XVI

Julio 1960

NÚM. 165



Vacuna preventiva  
contra la  
**PESTE PORCINA**

[ **via intramuscular**

**PORCIFIL**

**PRODUCTOS NEOSAN, S. A.**

**FRANCISCO TARREGA, 16 - 20**

**BARCELONA (16)**

**PRODUCTOS NEOSAN, S. A.**  
**Francisco Tárrega, 16-20.—BARCELONA**  
Representante en Córdoba: **Pedro Janer. A. Ximénez de Quesada, 4, 3.º**

mejor lactancia a menor precio



### BACILACTOL-1 para terneros

El empleo de BACILACTOL supone entre otras ventajas económicas y sanitarias:

- Suprimir los diarreas de sus terneros.
- Criarlos a mitad de precio, vendiendo a 4 pesetas, aproximadamente, cada litro de leche, que puede sustituir con mejores resultados por 2 pesetas de BACILACTOL.
- Vender 300 a 400 litros más de leche en cada parto.
- Mayores beneficios por ternero: Alrededor de 500 a 1.000 pesetas, si se destinan a recría, y de 700 a 1.400 pesetas en los dedicados a cebo.

### BACILACTOL-2 para lechones

El BACILACTOL representa ventajas en relación con los lechones y la cerda:

- Permite "sacar adelante" toda la camada.
- Elimina las pérdidas por aplastamiento.
- Reduce la mortalidad y el riesgo de enfermedades transmitidas por la cerda.
- Desarrollo uniforme y anticipado de los lechones.
- Economiza la ración suplementaria de producción de leche.
- Anticipa la venta de la cerda en el mercado, ya que puede secarse a los tres días del parto.
- Hace posibles tres camadas en trece meses.

# BACILACTOL

LECHE ARTIFICIAL PARA LA CRIANZA DE TERNEROS Y LECHONES

*Sustitutivo completo de la leche materna*

**Bioter**

EMILIO VARGAS, 7 - MADRID-17

Representante: JUAN RUIZ GOMEZ  
Plaza de Colón, 23. — Teléfono 22419. — Apartado 225

CÓRDOBA

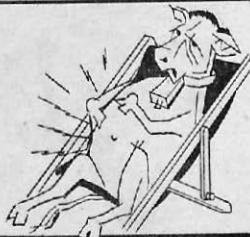


## Antiasmín Lafi

Contra el asma o huélfago de los équidos. Administrado en las primeras crisis evita el asma crónico; palia eficazmente los huélfagos antiguos con atelectasia pulmonar.

## Espasmol Lafi

Tratamiento racional de los cólicos de los équidos, eliminando el dolor sin detener el peristaltismo. Eficaz igualmente contra el reumatismo de espalda, lumbago y síndrome general de dolor interno.



## Protan Lafi

Reconstituyente después de las enfermedades que han producido grave depauperación orgánica, anemia, retraso en el crecimiento, raquitismo, etc. A base de vitamina T, vitaminas, microelementos.

## Ioxitran Caseína Fuerte

Provoca la reabsorción de los tejidos inflamados y regenera los órganos lesionados. Focos inflamatorios, microbianos o asépticos. Artritis, abscesos, sinovitis, disenterías, cojeras, etc., ceden rápidamente.



Productos de

**LABORATORIO FITOQUIMICO, S.L.**

Travesera de Dalí, 98. Barcelona.



# Boletín de Zootecnia

CONSEJO DE ADMINISTRACIÓN

Ilmo. Sr. Decano de la Facultad de Veterinaria de Córdoba, Ilmo. Sr. Presidente de la Sección Sur de la Sociedad Veterinaria de Zootecnia y los Sres. Presidentes de los Colegios Veterinarios de las Zonas 2.ª y 3.ª

PUBLICACIÓN MENSUAL

DEPÓSITO LEGAL.-CQ.16.-1958

AÑO XVI	Julio 1960	NÚM. 165
---------	------------	----------

## EDITORIAL

### El fin de la caballería

*El Conde de Yebes, gran cazador y autor de libros de montería, ya famosos en España, ha glosado en el popular diario ABC (edición sevillana 21 mayo 1960) la aparición de un libro sobre nuestra guerra de liberación escrito por un inglés que combatió en las filas franquistas denodadamente durante toda la contienda.*

*Peter Kemp es el autor de «Mine were of trouble», título en español «Legionario en España», porque fué en las filas legionarias donde el buen amigo de España se batió como los buenos y fué herido varias veces.*

*Hemos de comentar aquí solamente, entre los comentarios de toda índole que el libro del inglés sugiere al Conde de Yebes, la sorpresa que causa a ambos el comprobar que la guerra española «fué el telón final de la intervención, de la actuación, tal y como hasta entonces se entendía, de esa bella y gloriosa Arma de Caballería, actor principalísimo de todas las guerras y en la historia de la guerra desde que la guerra existe», son sus palabras.*

*Y continúa: «Qué duda cabe que los hechos de armas de aquella incomparable Caballería nuestra, que se cubrió de gloria en el Puerto del Pico, en Singra, en el Jarama y que culminó en aquel arrollador e incontenible despliegue de veinte escuadrones en el Alfambra, como tal Caballería «a caballo» fué el colofón de la historia de la Caballería en la historia de la guerra en el mundo».*

«Esta guerra nuestra... dió lugar a considerar ya inútil este arma». «No creemos incurrir en error en esta afirmación. Consideremos a lo que en los cuadros de nuestro Ejército y en los del mundo entero ha quedado reducida la Caballería. Su utilización práctica nunca lo será más que en pequenísima escala, en terrenos de especial configuración montañosa, para pequeñas operaciones de tipo policial y de limpieza o en acción de persecución o explotación de los éxitos conseguidos previamente por las restantes armas, contra un ejército en plena derrota o fuga; ejemplo, la actuación de la Caballería rusa contra el ejército alemán en absoluta desbandada y huida en la última guerra mundial».

Esta opinión del Conde de Yeves es hoy la general en el mundo entero, muy tratada por lo demás en revistas militares especializadas y tenida muy en cuenta en las reorganizaciones militares que hacen los Estados Mayores de los mejores ejércitos del mundo.

A ello responde la disolución efectiva del Arma de Caballería en algunos países. Recordamos recientemente que en Suiza, país tan amante del caballo, se disolvió oficialmente la Caballería como tal Arma fundamental, y los estandartes de sus regimientos se depositaron en los Museos oficiales.

Esta disminución, y casi anulación de la Caballería castrense, tiene su simillar en las aplicaciones civiles, especialmente agrícolas del caballo y otros équidos. En nuestro país, el ganado mular sigue pareja decadencia.

Y, sin embargo, nos preguntamos: ¿no será una de tantas páginas pesimistas y llorosas como se vienen escribiendo desde hace siglos sobre los caballos, estas que leemos también ahora?

No es que neguemos los hechos de la decadencia, que en nuestro país adquiere tonos más elegiacos por la importancia cada vez mayor de la hipofagia, pero acaso se exageran.

Porque enfrente del hecho general, existen hoy en toda Europa signos evidentes de un resurgimiento de la cría caballar, especialmente en las regiones de tradición hípica, acreditadas durante siglos por sus buenas condiciones caballares.

A nuestro parecer, el hecho general que comentamos se puede concretar en esta conclusión: el caballo y sus congéneres han sido sustituidos en el mundo entero por el motor mecánico en todas sus aplicaciones militares y civiles, y en consecuencia se ha restringido la masa hípica del mundo, pero ello no quiere significar ni su desaparición, ni su desaprovechamiento total, que continuarán siendo útiles en tonos y medidas que el tiempo irá delineando, aunque sólo fuere en el campo puramente agrícola y deportivo.

# Métodos de medida de la heredabilidad

por el

DR. ANTONIO RODERO FRANGANILLO (\*)

(Continuación)

mientras que entre el genotipo de un individuo y el fenotipo de otro

miembro familiar es  $r_{G_p} = \frac{(G, G+E)}{\sigma_G \sigma_p} = \frac{r \sigma_G^2}{\sigma_G \sigma_p} = rh$ .

La correlación entre genotipo y fenotipo dentro y entre individuos se evidencia en la Fig. 1,  $r_{p_1 p_2} = h_w^2 r_{u_1 u_2} + u^2 r_{u_1 u_2} = h_w^2 g^2 r_{G_1 G_2} + h_w^2 d^2 r_{D_1 D_2} + h^2 i^2 r_{I_1 I_2} + u^2 r_{u_1 u_2}$ . Aunque los efectos epistáticos y de dominancia tengan un valor real, pueden ser igual a cero  $r_{D_1 D_2}$  y  $r_{I_1 I_2}$ , en cuyo caso  $r_{p_1 p_2} = h_w^2 g^2 r_{G_1 G_2} + u^2 r_{u_1 u_2} = h_w^2 g^2 r_{G_1 G_2} + u^2 r_{u_1 u_2}$ . Cuando  $r_{u_1 u_2} = 0$ , el valor de  $u^2 r_{u_1 u_2}$  se tiene que deducir del estudio de la correlación fenotípica.

La correlación que se utiliza en algunos métodos de medida de  $h^2$  es la llamada correlación intraclase. La varianza de una muestra puede separarse en dos partes: una que manifiesta la variación propia del azar entre individuos tratados igualmente ( $\sigma^2$ ), y otra que se origina por causas genéticas y ambientales propias de las submuestras ( $\sigma_m^2$ ). La suma  $\sigma^2 + \sigma_m^2$  es la varianza total de un conjunto de individuos, tomados al azar, de la población de la que se extraen las muestras.

La razón  $\frac{\sigma_m^2}{\sigma^2 + \sigma_m^2}$  es lo que recibe el nombre de correlación intra-

clase. Se llama correlación porque el numerador indica la varianza que es común a los individuos (covarianza) y el denominador es el promedio de la variación que afectaría a los mismos, si no estuviesen clasificados en submuestras. Otra forma de expresar la correlación

intraclase es  $r = \frac{S_x^2 - S^2}{S_x^2 + (K-1)S^2}$ , donde  $S^2 =$  suma de los cua-

(\*) Laboratorio de Biología y Departamento de Zootecnia. Facultad de Veterinaria. Córdoba (España)

drados medios individuales,  $S_x^2 =$  suma de los cuadrados medios entre los grupos, y  $K =$  número de individuos en cada grupo. Este procedimiento se utiliza frecuentemente en los métodos de correlación entre medios hermanos, de gemelos univitelinos y de repetibilidad de caracteres.

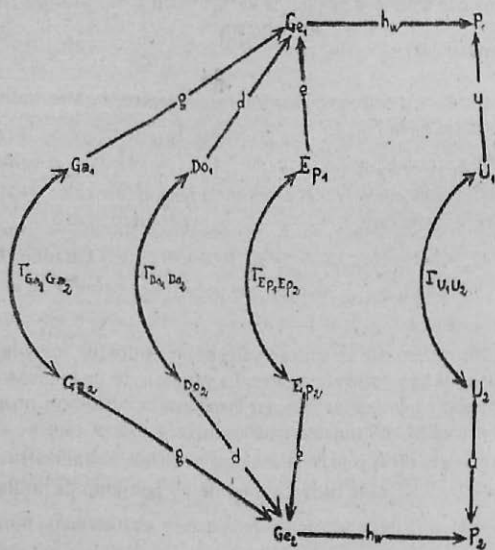


Fig. n.º 1.—Relaciones biométricas entre los individuos  $P_1$  y  $P_2$ .  $G_a$ ,  $D_o$  y  $E_p$  indican los efectos génicos aditivos, de dominancia y epistáticos.  $U$  representan el efecto ambiental (Le Roy).

En Biometría, el término de regresión, utilizado por primera vez por Galton, para designar el fenómeno de que la media de la expresión de caracteres en los hijos tiende a la media de los padres, viene a sustituir el matemático de función. La regresión expresa en forma de ecuación la inferencia de dos o más variables determinadas en cada miembro de la muestra. Se habla de regresión lineal cuando la función toma la expresión  $y=ax+b$ , en donde  $a$  es el coeficiente de



regresión; y de regresión múltiple, cuando son más de dos las variables, que en su forma más sencilla se expresarían como  $y = b + a_{y1x} x_1 + a_{y2x} x_2$ , siendo  $a_{y1x}$  y  $a_{y2x}$  los coeficientes de regresión parcial. El primero de ellos se lee, «la regresión de Y sobre X, independientemente  $X_2$ ».

Intimamente ligado con el concepto de regresión se encuentra el de coeficiente vial (path coefficient). Este se define, para la dirección de X a Y, como la porción de desviación típica de Y que es debido a variación en X. Es un coeficiente de regresión tipificado. Si B=coeficiente de regresión,  $Y - \bar{Y} = B(X - \bar{X}) + C(Z - \bar{Z})$ , y  $\frac{Y - \bar{Y}}{\sigma_Y} =$

$$\frac{B \sigma_X}{\sigma_Y} \frac{(X - \bar{X})}{\sigma_X} + \frac{C \sigma_Z}{\sigma_Y} \frac{(Z - \bar{Z})}{\sigma_Z}, \text{ entonces } b = \frac{B \sigma_X}{\sigma_Y} = \text{coeficiente}$$

vial, que indica la vía de influencia  $X \rightarrow Y$ .

Si se considera una variable  $V_0$  determinada por otras,  $V_1, V_2, V_K, V_R$ , correlacionadas entre sí tenemos:

$$\begin{aligned} r_{01} &= \rho_{01} + \rho_{02} r_{12} \dots \dots \dots + \rho_{0K} r_{1K} \\ r_{02} &= \rho_{02} + \rho_{01} r_{12} \dots \dots \dots + \rho_{0K} r_{2K} \\ &\dots \dots \dots \\ &\dots \dots \dots \\ r_{0K} &= \rho_{0K} + \rho_{02} r_{2K} \dots \dots \dots + \rho_{01} r_{1K} \\ r_{00} &= \rho_{01} r_{01} + \rho_{02} r_{02} \dots \dots \dots + \rho_{0K} r_{0K} + \rho_{00}^2 = 1. \end{aligned}$$

La solución de las K ecuaciones normales, por la regla de Cramer da,  $\rho_{01} = (-1)^{i+1} \frac{\Delta_{01}}{\Delta_{00}}$ ; lo que demuestra que éste método es idéntico al de regresión múltiple.

La aplicación más interesante para el objeto de éste trabajo es la deducción de la correlación entre dos variables (X e Y, por ejemplo) que son funciones lineales de algunas variables comunes. Sean

$$X = B_0 + B_1 Z_1 + B_2 Z_2 + B_3 Z_3 + E_1$$

$$Y = C_0 + C_1 Z_1 + C_2 Z_2 + C_3 Z_3 + E_2$$

que por tipificación dan las expresiones  $x = b_1 z_1 + b_2 z_2 + b_3 z_3 + p_1 + e_1$ ;  $y = c_1 z_1 + c_2 z_2 + c_3 z_3 + p_2 + e_2$ . La correla-

ción entre  $x$  e  $y$ , siempre que  $E_1$  y  $E_2$  no estén correlacionados, es:  
 $r_{xy} = \text{cov}(x, y) = (b_1 z_1 + b_2 z_2 + b_3 z_3) (c_1 z_1 + c_2 z_2 + c_3 z_3)$   
 $= b_1 c_1 + b_1 r_{12} c_2 + b_1 r_{13} c_3 + b_2 c_2 + b_2 r_{21} c_1 + b_2 r_{23} c_3$   
 $+ b_3 c_3 + b_3 r_{31} c_1 + b_3 r_{32} c_2 = \sum_i p_{xi} p_{yi} + \sum_{i \neq j} p_{xi} r_{ij} p_{yj} =$

$$\sum_i p_{xi} p_{yi} + \begin{vmatrix} b_1 c_1 r_{12} \\ b_2 c_2 r_{13} \\ b_3 c_3 r_{23} \end{vmatrix}, \text{ si } p_{xi} = b_i$$

Mediante el análisis de varianza se puede descomponer la varian-za total de una muestra en las distintas parte que se originan por cau-sas diferentes asociadas a la estructura del fenómeno. Su aplicación a los métodos de medida de la heredabilidad surge fácilmente al re-cordar que el paso previo es descomponer la  $\sigma_p^2$  en sus elementos.

El análisis de varianza se realizará según el método elegido. Los casos más frecuentes son los que describimos a continuación.

Si  $s$  machos se han cruzado con  $d$  hembras y cada cruce ha pro-ducido  $n$  descendientes, es conveniente realizar el siguiente cuadro de varianza.

• Cuadro n.º 1.—Análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad (G. L.)	El cuadrado medio es una estimación de
Entre padres	$s-1$	$Q + nD + ndS$
» madres (dentro de padres)	$s(d-1)$	$Q + nD$
Entre hijos	$ds(n-1)$	$Q$

La tercera columna analiza los distintos cuadrados medios en sus elementos más sencillos, siendo  $Q$ ,  $D$ , y  $S$  los componentes de la va-rianza asociados con los descendientes, con la media de las madres, dentro de su grupo paterno, y con los grupos de los padres, respecti-vamente. Los valores de estos componentes son:  $Q = \frac{1}{2} \sigma_G^2 + \sigma_E^2$ ;  $D = S = \frac{1}{4} \sigma_g^2$ . De aquí que la heredabilidad sería  $h^2 = \frac{4S}{Q+D+S} = \frac{4D}{Q+D+S} = \frac{2(D+S)}{Q+D+S}$ .

Otras veces el análisis de varianza se presenta bajo distinto aspecto. Si  $Y_{ij k}$  indica el descendiente n.º  $K$  del padre n.º  $j$  en el año n.º  $i$ , se puede escribir la siguiente ecuación lineal:  $Y_{ij k} = u + y_i + S_{ij} + e_{ijk}$ ; ( $i=1, 2, \dots, a$ ), ( $j=1, 2, \dots, m_j$ ), ( $k=1, 2, \dots, \dots, n_{ij}$ ).

En la ecuación,  $u$  designa la media de la población,  $y_i$  el efecto debido al año  $i$ ,  $s_{ij}$  el efecto debido al padre  $j$ , dentro del año  $i$ , y  $e_{ijk}$  el error propio del azar asociado con las medidas individuales.

El cuadro de varianza sería:

Cuadro n.º 2

Fuente de variación	G. L.	Suma de cuadros S. C.	El cuadrado medio es una estimación de	Interpretación de los componentes de la varianza.
Total	$N-1$	$\sum_i \sum_j \sum_k Y_{ijk}^2 - Y_{...}^2/N$	$\sigma_e^2(L-1) - \sigma_s^2(K_1 - K_3)$	
Años	$L-1$	$\sum_i Y_i \dots^2/n_i - Y_{...}^2/N$	$+ \sigma_y^2(N-K_2)$	
Padres dentro de años	$m-L$	$\sum_i \{ \sum_j Y_{ij}^2/n_{ij} - Y_{...}^2/n_i \}$	$\sigma_e^2(m-L) + \sigma_s^2(N-K_1)$	$\sigma_s^2 = \frac{\sigma_G^2}{4}$
Error	$N-m$	$\sum_i \sum_j \sum_k Y_{ijk}^2 - \sum_i \sum_j Y_{ij}^2/n_{ij}$	$\sigma_e^2(N-m)$	$\sigma_e^2 = \frac{3}{4} \sigma_G^2 + \frac{2}{e}$

$N$ =n.º total de medidas realizadas;  $L$ =n.º de años,  $m$ =n.º de padres por cada subclase de años.

$$k_1 = \frac{\sum_i \sum_j n_{ij}^2}{n_i} \quad k_2 = \frac{\sum_i n_i^2}{N} \quad k_3 = \frac{\sum_i \sum_j n_{ij}^2}{N} \quad \text{y } h^2 = \frac{4 \sigma_s^2}{\sigma_s^2 + \sigma_e^2}$$

Todos los métodos de medida de la heredabilidad se apoyan en la comparación de las varianzas de los animales fuertemente emparentados, y por tanto con gran similitud en el genotipo, con las varianzas de los animales menos emparentados y por consiguiente con menos semejanza genotípica.

En la elección del método deberá tenerse en cuenta el material que se maneja y la serie de causas que pueden determinar un fuerte

error en el valor de la heredabilidad, para que el cálculo sea lo más exacto posible.

Los métodos de la heredabilidad son los siguientes, según Lush (1949):

- 1) Líneas isogénicas.
- 2) Semejanza entre los padres y la descendencia (correlación y regresión).
- 3) Semejanza entre hermanos (correlación entre hermanastros y entre medios hermanos).
- 4) Semejanza entre parientes lejanos.
- 5) La repetibilidad de caracteres.
- 6) La igualdad o irregularidad de caracteres que aparecen bilateralmente en el mismo individuo.

1) *Líneas isogénicas.*

Las líneas isogénicas están constituidas por individuos con idéntico genotipo. En el reino vegetal es frecuente esta condición, porque existe la posibilidad de autofecundación. En el reino animal sólo se encuentra en forma de gemelos univitelinos, si bien las líneas consanguíneas durante largo tiempo se aproximan asintóticamente a esta condición (para Lush  $F > 90\%$ ). En las líneas isogénicas se tiene en cuenta la varianza de dominancia y de epistasia que, resultan idénticas en los gemelos, del mismo modo que la varianza génica  $r_{G_1 G_2} = r_{D_1 D_2} = r_{I_1 I_2} = 1$ . Se obtiene por tanto un valor de  $h_w^2$  y no de  $h_e^2$ .

La varianza dentro de gemelos univitelinos es totalmente ambiental. Si se compara con la variación en poblaciones panmícticas puede dar una estimación de  $h^2$ . Si B es la varianza entre gemelos y V la varianza entre los individuos de la población,  $h^2 = \frac{V-B}{V}$ . Las relaciones biométricas entre mellizos se expresan en la fig. 2. En ella  $h$ ,  $u$  y  $w$  son coeficientes viales.

Se pueden considerar dos casos:

A) Los individuos de una pareja de gemelos se encuentran en el mismo ambiente. ( $U_{w_1} = U_{w_2} = U_w$  y  $U_l$  igual o semejante a  $U_l$  por tanto  $r_{U_1 U_2} \neq 0$ ).

En la citada fig. 2 se observa que  $r_{P_1 P_2} = h^2 r_{H_1 H_2} + u^2 r_{U_1 U_2}$  [2] que en el caso de gemelos univitelinos, en que  $r_{H_1 H_2} = 1$ , se convierte en  $r_{P_1 P_2} = h^2 + u^2 r_{U_1 U_2}$  [3].

El tamaño de  $U_w$  no interviene, en el caso de genotipos iguales, en la correlación  $r_{P_1 P_2}$ . No sucede lo mismo cuando la correlación

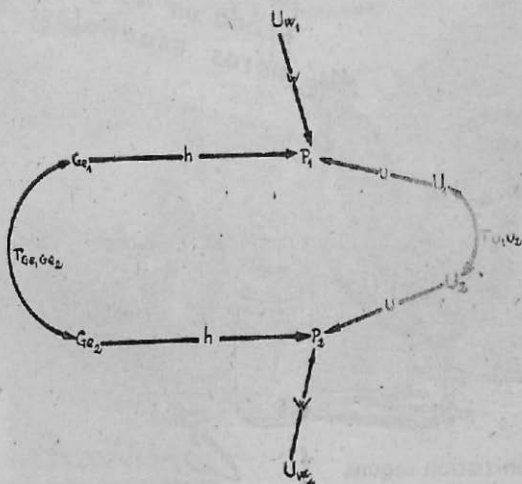


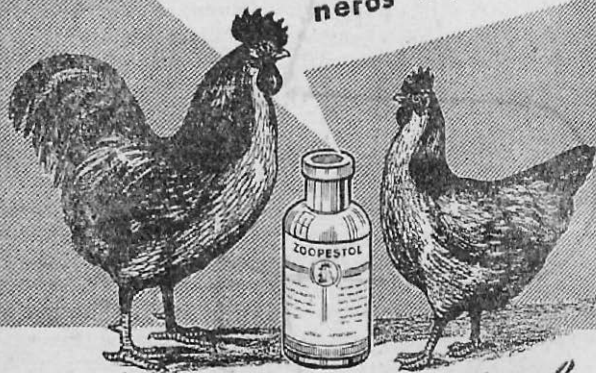
Fig. n.º 2. — Relaciones biométricas entre mellizos (Le Roy).

tiene lugar entre dos individuos cualesquiera. Entonces  $r'_{P_1 P_2} = h^2 r_{H_1 H_2} + u^2 r_{U_1 U_2} + w_{1,2}^2 r_{U_w1 U_w2}$  en la que  $-1 \leq r'_{U_w1 U_w2} \leq 1$ . Si  $r_{H_1 H_2}$  y  $w_{1,2}$  son iguales a cero, lo anterior se convertirá en  $r'_{P_1 P_2} = u^2 r_{U_1 U_2}$  [4]

B) Los dos individuos de una pareja de gemelos univitelinos están en ambientes diferentes ( $U_1 + U_2$  y  $r_{U_1 U_2} + 1$ ). La correlación para los gemelos será  $r_{P_1 P_2} = h^2 + u^2 r_{U_1 U_2} + w_{1,2}^2 r_{U_w1 U_w2}$  siendo

# ZOOPESTOL

¡La vacuna más utilizada en los gallineros españoles!



- Inmunización segura.
- Simplificación de manipulaciones.
- Menos molestias para las aves.
- Economía.
- Triple inmunidad con una sola dosis.

*Contra la*

**PESTE**

**COLERA**

*y*  
**TIFOSIS**

*aviar*



**LABORATORIOS**

**"Zeltia" S.A. - PORRIÑO (Pontevedra)**



# SELAN

(«HELMOX» I. C. I.)

Unico producto específico  
para el tratamiento de la  
BRONQUITIS VERMINOSA



Es un producto de

**IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.**

Pharmaceuticals Division

Wilmington

Cheshire

Inglaterra



Representación exclusiva en España

**LABORATORIOS ZELTIA, S. A.**

PORRIÑO (Pontevedra)

—  $1 < r_{u_1 u_2} < 1$ , que para  $r_{u_1 u_2} = 0$  resulta  $r_{P_1 P_2} = h^2 + w_{1,2}^2$ .

La correlación entre dos individuos que no pertenecen a la misma pareja de gemelos es  $r'_{P_1 P_2} = h^2 r_{H_1 H_2} + u^2 r_{u_1 u_2} + cW^2$ ; en la que  $W^2$  es en parte una función de  $W_{1,2}^2$  y  $W_{1,2}'^2$  y  $-1 < c < 1$ . Cuando  $r_{H_1 H_2}$  y las relaciones entre genotipo y ambiente son nulos, las igualdades anteriores se convierten en otras semejantes a [3] y [4].

Tanto en el caso A como en el B se puede llegar, si se realizan las experiencias bajo ciertas condiciones, a las fórmulas siguientes:  $r_{P_1 P_2} = h_w^2 + u^2 r_{u_1 u_2}$  y  $r'_{P_1 P_2} = u^2 r_{u_1 u_2}$  de las que se obtiene  $h_w^2 = r_{P_1 P_2} - r'_{P_1 P_2}$ , suponiendo que se han eliminado todos los individuos con la misma influencia ambiental y que la relación entre genotipo y ambiente es cero.

El análisis de varianza se puede realizar de dos formas diferentes. Una, según la descripción de Thoele y Hervey, (1952) más simple y de más fácil comprensión; y otra, de acuerdo con G. Bonnier y A. Hansson, (1948) algo menos sencilla, pero de exposición más elegante. La primera sería:

Cuadro n.º 3

Fuente de variación	G. L.	C. M. (cuadrado medio)	Componentes de la varianza.
Entre pares	$n-1$	$M_B$	$= 2\sigma_H^2 + \sigma_E^2 + \sigma_{HE}^2$
Dentro de pares	$n$	$M_W$	$= \sigma_E^2 + \sigma_{HE}^2$
Total	$2n-1$	$M_B + M_W$	$= 2(\sigma_H^2 + \sigma_E^2 + \sigma_{HE}^2)$

En donde  $n = n.$ º de pares mellizos monocigotos,  $M_B =$  cuadrado medio entre pares;  $M_W =$  cuadrado medio dentro de pares,  $\sigma_H^2 =$  varianza debida a la herencia;  $\sigma_E^2 =$  varianza debida al ambiente; y  $\sigma_{HE}^2 =$  varianza debida a la interacción entre herencia y ambiente.

$$\sigma_H^2 = \frac{M_B - M_W}{2}; \quad h^2 = \frac{\sigma_H^2}{\sigma_H^2 + \sigma_E^2 + \sigma_{HE}^2} = \frac{2\sigma_H^2}{2(\sigma_H^2 + \sigma_E^2 + \sigma_{HE}^2)} = \frac{M_B - M_W}{M_B + M_W}$$

(Continuad)



Memoria de los trabajos realizados sobre brucelosis en el Instituto Provincial de Sanidad de Córdoba, bajo la dirección del profesor Santord S. Elberg, por los becarios del Colegio Oficial de Veterinarios

Antonio Garrido Contreras y José M.<sup>a</sup> Gutiérrez-Ravé

(Continuación)

Los mismos sueros a los catorce días de ser sometidas las cabras a una reacción intradérmica.

Solución salina 0'85 %				
N.º	12	13	20	24
1/25	+	+	+	+
1/50	+	+	+	+
1/100	+	+	+	+
1/200	+	+	+	+
1/400	+	-	+	-
1 800	-	-	+	-

Con algunas cabras negativas a la serología, se hicieron autopsias con la idea de aislar a ser posible algunas brucelas de sus tejidos, ganglios principalmente, pues sabido es que cabras negativas a las técnicas serológicas, pueden tener brucelas acantonadas en sus

órganos sin que se movilicen las defensas orgánicas. No nos consta que se aislara ninguna.

Los ganglios en los que principalmente ha recaído el estudio han sido: Submaxilares, parotídeos, preescapulares, mediastínicos, hepáticos, mesentéricos, mamarios y precraurales. También se buscaron en hígado, bazo y ovarios.

Eliminadas como resultado de los anteriores estudios y deduciendo también las muertas por diversas causas, la experiencia se efectuó con 56 cabras. (Hagamos la salvedad, que anteriormente a la vacunación de los lotes, se vacunaron con fechas espaciadas tres o cuatro cabras con objeto de recuperar la cepa de vacuna de sus tejidos).

Estas cabras se separaron en dos grupos de tres lotes cada uno. El primer grupo lo formaron las cabras vacunadas (26); el segundo los lotes testigos (30 cabras).

*Grupo de cabras vacunadas:*

La vacuna de Elberg, se trata de una cepa de *Br. melitensis*, dependiente de la estreptomina, avirulenta para la cabra y que parece ser, crea en estos animales un fuerte estado de inmunidad, superior al de las otras vacunas conocidas. Desde el punto de vista bacteriológico esta cepa, se comporta del mismo modo que una cepa de *Br. melitensis* virulenta, por tanto sus caracteres morfológicos, tintoriales, inmovilidad, requerimientos culturales, etc. son idénticos.

Sembrada la cepa en albimi-agar o agartri-ptoza, es recogido el cultivo, a las 72 horas de incubación, con solución de Zobell's previa prueba a la tripaflavina para estudiar su estado de disociación; de este modo se consigue una emulsión madre a partir de la cual se prepara una suspensión con millonaje adecuado, cuya valoración no nos es posible señalar, por no habérsenos indicado.

Las vacunaciones de los tres lotes se realizaron en el mes de Enero de 1958 y durante las tres semanas siguientes a la vacuna, se hicieron periódicamente hemocultivos con el fin de recuperar la cepa. También y durante varios meses se fué valorando el estado de inmunidad que iban adquiriendo, mediante aglutinaciones.

Para dar una idea del aumento considerable de la tasa de aglutininas en sangre después de la vacunación, veáse el siguiente cuadro:

**Aglutinaciones efectuadas antes de la vacunación:**

Solución salina 0'85 %.

n.º	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
43	50	—	—	—	—	—
45	25	25	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—
53	—	—	—	—	—	—
56	25	—	—	—	—	—
58	25	—	—	—	—	—
60	—	—	—	—	—	—
62	50	—	—	—	—	—
68	50	25	—	—	—	—

Aglutinaciones a los dos meses de vacunadas:

Solución salina 0'85 %.

n.º	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
43	100	100	100	100	100	100
45	100	100	100	100	100	50
50	100	100	100	100	100	100
53	100	100	100	100	50	50
56	100	100	100	100	100	100
58	100	100	100	100	100	50
60	100	100	100	100	100	50
62	100	100	100	100	100	100
68	100	100	100	100	100	100

La interpretación de estos resultados ha sido hecha siguiendo la pauta que más adelante detallamos.

A primeros de abril, es decir cuatro meses más tarde, se infectaron dichas cabras con la cepa virulenta de *Br. melitensis* 6015, para determinar el grado de protección de la vacuna. La dosis infectante fué inoculada en región preescapular, en la cantidad de 1 mililitro, de esta forma:

Primer lote: Inoculación de 1.000.000 de brucelas/ml. (10<sup>6</sup>)

Segundo lote: Inoculación de 10.000.000 " " (10<sup>7</sup>)

Tercer lote: Inoculación de 100.000.000 " " (10<sup>8</sup>)

A las nueve semanas se comenzaron las autopsias para comprobar la ausencia de brucelas virulentas.

*Grupo de cabras testigo:*

Los lotes de cabras controles no vacunadas, fueron infectados el mismo día que los vacunados, de la forma siguiente:

Primer lote: Inoculación de 10.000 brucelas/ml. (10<sup>4</sup>)

Segundo lote: Inoculación de 100.000 " " (10<sup>5</sup>)

Tercer lote: Inoculación de 1.000.000 " " (10<sup>6</sup>)

Al igual que en las vacunadas las autopsias comenzaron a las nueve semanas, para comprobar mediante aislamiento la persistencia de la cepa infectante.

Aunque no somos los indicados, para sentar conclusiones sobre la experiencia, si queremos dar nuestra opinión sobre algunos puntos que creemos serán dignos de tener en cuenta a la hora de valorar resultados, sobre la eficacia de esta vacuna:

1.º Tengamos en cuenta que la vacuna no se ha podido ensayar en el medio natural, debido a que el Dr. Jimeno de Sande, con buen criterio, y basándose en los acuerdos adoptados por el Comité Mixto de la FAO/OMS, reunido en Lima (Perú), en Octubre de 1957, indicó que ninguna vacuna viva contra la brucelosis, puede utilizarse en el medio natural sin haber sido demostrada su inocuidad con anterioridad.

2.º No se ha comprobado un hecho que a nuestro modo de ver y pese a que el Sr. Jimeno de Sande lo ha señalado y advertido en varias ocasiones, tiene fundamental importancia. Este es, que no se han realizado pruebas encaminadas a comprobar la no eliminación de brucelas de la cepa de vacuna, en la fase negativa de la inmunidad, por los emuntorios naturales (heces, orina, flujo vaginal etc.) Estas pruebas debieron tenerse en cuenta, máxime, si pensamos que la acción patógena de la brucela vacunante, no está determinada en el hombre.

3.º Si consideramos que en brucelosis caprina los dos signos clínicos de infección más concluyentes son las artritis y los abortos, lógico es pensar, en la necesidad de completar la experiencia con cabras inmunizadas, preñadas y posteriormente infectadas, con el fin de poder valorar las incidencias de abortos, que naturalmente, deben ser nulas. En otra ocasión dejamos dicho que las pruebas realizadas en Malta y América, sobre éste punto, se consideraron suficientes. Nosotros opinamos, que hubiera sido interesante ensayarlas en este Centro.

4.º En el curso de la experiencia, se apreció, concretamente en dos cabritas vacunadas, una claudicación debida a inflamaciones articulares, que dadas las circunstancias, creemos posible achacarlas a la cepa de vacuna. Este hecho, pese a su gran importancia, no se comprobó porque dichas cabras fueron sacrificadas sin posterior autopsia e intento de aislamiento de la brucela.

5.º En los primeros días que siguen a la vacunación, es decir en plena fase negativa de la inmunidad, la cepa de vacuna persiste en el organismo de la cabra, y posteriormente, una vez creadas las defensas, debe desaparecer de los distintos tejidos, incluso de la sangre. Esta regla inmunológica no se cumplió en dos cabritas del lote de las vacunadas ya que continuamente y durante largo tiempo, sus hemocultivos fueron positivos.

6.º Creemos, que los estudios finales de la experiencia, no fueron lo suficiente categóricos y serios que el caso requería, ya que las detecciones de la cepa de brucelas infectantes en las cabras testigo, así como la comprobación de la ausencia de dichas brucelas en los lotes vacunados, no se hizo siguiendo las reglas bacteriológicas necesarias para el aislamiento e identificación de brucelas, puesto que estas comprobaciones fueron hechas no solo en muy poco tiempo, sino también utilizando únicamente como medio de identificación los caracteres morfológicos de las colonias y despreciando pruebas de tanto valor como la aglutinación con sueros monoespecíficos, acción bacteriostática de algunos colorantes y tinciones simples o selectivas.

7.º Finalmente, aclararemos que aunque en principio, como hemos dichos varias veces, se acordó experimentar la vacuna con animales completamente negativos a las distintas pruebas diagnósticas, prácticamente no fué así, puesto que se utilizaron algunas cabras cuyos sueros poseían un bajo poder aglutinante reflejado por títulos de 1/10 a 1/20. Esta conducta no se siguió caprichosamente, sino un poco forzada, dada la imposibilidad de reunir el número de cabras deseado con negatividad completa.

#### *Experimentación con las muestras de cabras de las distintas localidades provinciales*

Se ha complementado el experimento con la confección de un índice de infección del ganado cabrío de los principales pueblos de la provincia, mediante el estudio de muestra (sangre y leche) de aproximadamente un 10% del censo caprino de cada pueblo.

Han sido analizadas unas 1.500 muestras de sangre 1.161 de leche que corresponden a las siguientes localidades visitadas: Bujalance, Montilla, Puente Genil, La Rambla, Lucena, Luque, Castro del Río, Villafranca, El Carpio, Pedro-Abad, Montoro, Villa del Río, Adamuz, Villaviciosa, Villaharta, Espiel, Villanueva de Córdoba, Posadas y Almodóvar.

Pese a que esta experiencia, fué labor exclusiva del compañero Ruiz Prieto y de nosotros, sentimos muy de veras no poder comentarla ya que los libros donde están registrados todos los datos no se encuentran en nuestro poder. No obstante esperamos que, por quien corresponda salgan algún día a la luz las conclusiones, no solo de esto sino también de la totalidad de experiencias realizadas.

### *Experimentación con las muestras procedentes de cabras sacrificadas en el Matadero de Córdoba.*

Han pasado del centenar los análisis realizados con cabras sacrificadas para el apasto público en el Matadero de esta capital.

Las muestras (sangre, ganglios, hígado, bazo y ovarios) eran recogidas en botes estériles con todas las precauciones posibles de asepsia, muy limitada por cierto, como es fácil de comprender.

En el laboratorio, se intentaba el aislamiento de brucelas a partir de estos productos y se estudiaban los títulos aglutinantes de los sueros.

Lamentamos no poder dar más datos sobre estas cabras.

### *Experimentación con muestras humanas*

Hemos hecho algunos estudios serológicos con sangres procedentes de personas que más o menos tuviesen alguna relación con cabras (familias de pastores, matarifes etc.); observándose en algunos, cierto paralelismo entre el poder aglutinante de sus sueros y su mayor convivencia con este ganado.

---

### *Técnicas serológicas empleadas*

Las dividimos en:

Realizadas con suero sanguíneo.

Realizadas con leche.

#### *Realizadas con suero sanguíneo*

a) Técnicas cuantitativas lentas (Seroaglutinaciones en tubo).

Antígenos utilizados: Hemos empleado dos antígenos de distinta procedencia; uno, considerado como standard, procedente de Berkeley, el otro producido por los laboratorios Llorente.

El primero, salvo raras excepciones, ha sido usado exclusivamente para las distintas aglutinaciones efectuadas en las cabras de la experiencia, diluyéndolo, en el momento de utilizarlo, al 1/100. El procedente del Instituto Llorente, para el resto de las experimentaciones, diluyéndolo al 18% que corresponde a una opacidad igual a la del standard al 1/100. Como líquido diluidor para los dos antígenos, se utilizó la solución salina al 0'85% y al 5%.

Algunas veces, y en plan de ensayo, se utilizó con algunos sueros, un antígeno fabricado por nosotros a partir de la cepa melitensis 16-M, titulándolo frente a un suero patrón internacional de título 1/1000.

1.<sup>a</sup> *Técnica de las diluciones dobles.*

En una gradilla, colocar seis tubos de aglutinación perfectamente limpios y secos. Poner en todos los tubos, menos en el primero, 0,5 ml. de solución salina al 0'85 % ó al 5%; en el primer tubo, se ponen 0'2 ml. de suero no hemolizado a investigar, y 0'8 ml. de solución salina. Con un reómetro graduado a 0'5 ml. o mejor con pipetas graduadas de 1 ml. de cabida, mezclar perfectamente el contenido del primer tubo y llevar 0'5 ml. al segundo, mezclar y llevar 0'5 ml. al tercero y así sucesivamente hasta que en el último tubo se toman 0'5 ml. y se tiran. Se habrán obtenido las diluciones de suero siguientes: 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 y 1/160.

Añadir ahora a cada tubo, 0'5 ml. de la emulsión de antígeno diluido al 1/100, si se trata del de Berkeley, o al 18% si es Llorente. Agitar perfectamente, obteniendo así diluciones finales: 1/10, 1/20...1/320.

Si existe alguna duda, frente a una posible aglutinación espontánea del antígeno, es recomendable utilizar un tubo testigo que contenga 0'5 ml. de solución salina y 0'5 ml. de emulsión antigénica.

Anotemos también, la conveniencia de añadir a los sueros un antiséptico para evitar contaminaciones que pueden dar lugar a error a la hora de la lectura; se ha utilizado para tal fin la adición a los sueros de unas gotas de solución de Mertiolato al 1/100.

Finalmente, llevar la serie de tubos a la estufa a 37° C. durante veinticuatro horas, Leer a las doce y veinticuatro.

2.<sup>a</sup> *Técnica de Spink.*

Serie de seis tubos limpios y secos. En todos, menos en el primero, poner 2 ml. de emulsión antigénica; en el primer tubo echar 4 ml. de antígeno y 0'16 ml. de suero problema. Mezclar bien con pipeta o reómetro graduado a 2 ml.; llevar 2 ml. al segundo tubo, mezclar y llevarlos al tercero, así sucesivamente hasta el último tubo del que se toman 2 ml. y se tiran. Quedará el suero diluido como sigue: 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/400 y 1/800, Hacer las lecturas a las doce y veinticuatro horas de incubados los tubos a 37° C.

### Interpretación de resultados.

La Oficina Internacional de Epizootias y el Comité Mixto de la FAO/OMS de expertos en Brucelosis, han recomendado que todos los documentos en que se consignen resultados de pruebas de aglutinación, indiquen la significación exacta de los resultados en relación con el suero standard internacional, de tal modo, que la aglutinación al 50% tenga lugar a la dilución de 1/480 del tipo internacional de suero antibrucela abortus.

Partiendo de estas recomendaciones, las lecturas de todas las aglutinaciones realizadas en este trabajo experimental, han sido de la forma siguiente:

- ++++ = Aglutinación y sedimentación completa, es decir 100% de clarificación.
- +++ = Aglutinación y sedimentación casi completa, 75% de clarificación.
- ++ = Sedimentación marcada, 50% de clarificación.
- +

### 3.<sup>a</sup> Prueba de Coomb's.

No cabe duda, que este test ha eliminado de la técnica corriente de aglutinación, una gran causa de error bastante frecuente, por lo menos cuando se manejan sueros de cabra. El error, consiste en que algunos sueros francamente positivos no se comportan como tales frente a su antígeno específico. El fenómeno se explica por la existencia en estos sueros, de los llamados «anticuerpos blocales o incompletos» que impiden que las brucelas se unan a las aglutininas específicas. Pues bien, usando un «suero CO<sub>2</sub> antiglobulinas» se logra la absorción de estos anticuerpos.

Nosotros hemos sometido muchos sueros completamente negativos a esta prueba y dados los resultados satisfactorios que algunas veces hemos conseguido, francamente creemos que merece la pena tenerla en cuenta como medio complementario de las técnicas cuantitativas de aglutinación.

La técnica es muy sencilla de realizar, siempre y cuando, se posea un «stok» de suero CO<sub>2</sub> antiglobulinas, pues la preparación de este es más engorrosa.

A lo largo de la experiencia hemos utilizado un suero antiglobulinas sin diluir procedente de Berkeley. En estas fechas nosotros es-



tamos preparando dicho suero ajustándonos a la técnica que después detallaremos.

Técnica de la reacción:

Seis tubos de la serie de un suero negativo a la seroaglutinación (en los que está el suero diluido al 1/10, 1/20.....1/320) se centrifugan a unas 2.000 revoluciones durante quince minutos. Pasado este tiempo, se tira el líquido que sobrenada y se apoya luego la boca del tubo sobre un papel de filtro con objeto de eliminar por absorción, el líquido de las paredes. Se adiciona a cada tubo 0'5 ml. de solución salina, se agitan y se vuelven a centrifugar, así, hasta tres veces, se les vuelve a añadir 0'5 ml. de solución salina y finalmente se echa en cada tubo una gota de «suero CO<sub>2</sub> antiglobulinas». Agitar y llevar a la estufa a 37° C. durante doce a veinticuatro horas.

Hacer la lectura sobre fondo negro, apreciando la presencia o ausencia de aglutinación.

Preparación del suero CO<sub>2</sub> antiglobulinas (cabra):

En un tubo de centrifuga, de unos 20 ml. de cabida, se pone 1 ml. de suero de cabra, 1 ml. de agua bidestilada fría (este agua no debe contener CO<sub>2</sub>, para lo cual bastará hervirla antes del uso) y 10 ml. de acetona pura y fría. Agitar y centrifugar a 2.500 revoluciones, durante 30 segundos. Decantar y eliminar el líquido sobrenadante. Se formará un gran precipitado que se disuelve con 2 ml. de agua bidestilada fría auxiliándose de una varilla de vidrio.

Se añaden ahora dos o tres gotas de solución salina al 1% y 14 ml. de acetona fría. Agitar y centrifugar como anteriormente.

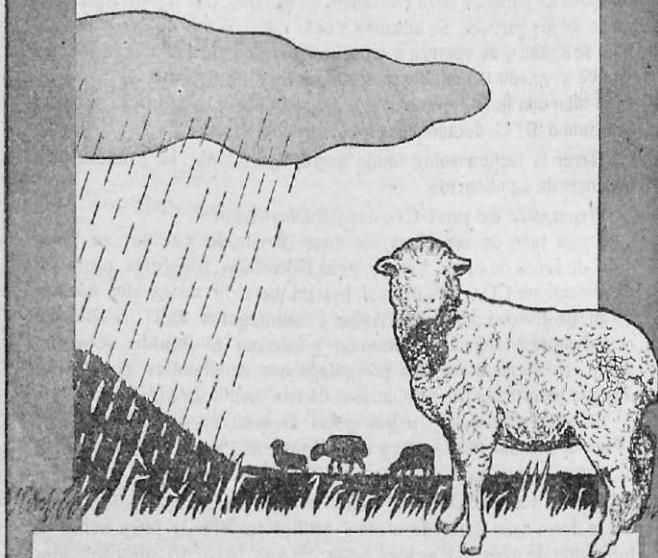
Volver a decantar y disolver el precipitado con 10 ml. de agua bidestilada fría sin CO<sub>2</sub> con el auxilio de la varilla. En esta solución se echan dos o tres gotas de alcohol oclílico (caprílico) para evitar la formación de espuma y se hace pasar durante 10 a 15 minutos una corriente de CO<sub>2</sub>, teniendo, durante todas estas manipulaciones, el frasco en un ambiente frío.

Centrifugar, decantar y obtener así un precipitado CO<sub>2</sub> globulinas.

La familia la constituimos nosotros; debemos dejarla en las mejores condiciones posibles; entre ellas la económica; suscriba hasta el grupo XIX de Vida de Previsión Sanitaria Nacional.

# LA BASQUILLA

*acecha...*



PROTEJA SUS OVEJAS CON  
**TOXOBASQUIVEN**  
Y  
SEROBASQUIVEN

*Laboratorios*  
**QUEM**

Alcántara, 71 - Madrid

Finalmente homogeneizar el precipitado con 1 ml. de solución salina al 2'5% y 2 ml. de agua bidestilada fría, mediante una agitación duradera. Inyectar al conejo:

Primer día.—Las globulinas de 1 ml. de suero = 3 ml. de líquido resultante.

Quinto día.—Las globulinas de 1 ml. de suero = 3 ml. del líquido resultante.

Décimo día.—Las globulinas de 2 ml. de suero = 6 ml. del líquido resultante.

Décimo quinto día.—Las globulinas de 5 ml. de suero = 15 ml. del líquido resultante.

Vigésimo día.—Las globulinas de 8 ml. de suero = 24 ml. del líquido resultante.

Las dos primeras inyecciones se harán por vía intravenosa; las restantes por vía intraperitoneal.

A los cinco o seis días de la última inoculación, sangrar el conejo, bien a blanco por sección de la carótida, o lo que es más frecuente, haciéndole una sangría parcial por punción cardíaca.

Obtenido el suero lo más asépticamente posible, se recurre a su titulación enfrentándolo con un suero de cabra fuertemente positivo.

b) Técnicas cuantitativas rápidas: (Seroaglutinación en placa).

#### *Prueba de Huddlenson.*

Antígeno empleado: Un antígeno abortus coloreado a la hematoxilina, procedente de Berkeley.

## Vacalbin

le proporciona los más rotundos éxitos en el tratamiento de la  
**RETENCION PLACENTARIA** y en general en todas las enfermedades de los **ORGANOS REPRODUCTORES** (las metritis, vaginitis, etc.) y la **DIARREA INFECCIOSA** de las recién nacidas.

 **Laboratorio Akiba SA**

POZUELO DE ALARCÓN (MADRID)

Teléfono N.º 83

Se necesita una caja con fondo negro e iluminación indirecta, sobre la cual se coloca un cristal dividido en cuadraditos.

Con una pipeta de 0'1 ml. dividida en centésimas, poner sobre los cuadraditos del cristal y de izquierda a derecha, las siguientes cantidades de suero: 0'08, 0'04, 0'02, 0'01. Con otra pipeta igual a la anterior echar sobre cada una de las cantidades de suero, 0'03 ml. de antígeno coloreado a la hematoxilina. Mezclar perfectamente y por separado las distintas gotas; habremos conseguido las diluciones de suero siguientes: 1/25, 1/50, 1/100, 1/200. Esperar cinco minutos hasta hacer la lectura.

### *Interpretación de resultados*

Diluciones y lecturas

1/25 (0'08)	1/50 (0'04)	1/100(0'02)	1/200(0'01)	
—	—	—	—	Negativo
I	—	—	—	»
+	—	—	—	»
+	I	—	—	Sospechoso
+	+	—	—	»
+	+	I	—	»
+	+	+	—	Positivo
+	+	+	I	»
+	+	+	+	»

I = Aglutinación incompleta

#### c). Prueba opsonocitofágica (bacteriotropinas).

Permitásenos recordar muy brevemente, unas cuantas ideas para poder explicarnos los fundamentos en los que se basa esta técnica.

De la gran cantidad de teorías lanzadas para intentar explicar el mecanismo de la inmunidad, ninguna tan clara ni admitida modernamente, como la que explica dicho mecanismo sobre la base de los llamados factor celular y factor humoral y la estrecha correlación que existe entre ellos.

El factor celular está representado por los fagocitos (polinucleares neutrófilos, principalmente) encargados de fagocitar y digerir las bacterias. El factor humoral lo representan las llamadas «opsoninas», sustancias éstas existentes en los sueros, que tienen como misión, preparar a los gérmenes para ser fagocitados. Aunque existen varias

clases de opsoninas, las más importantes desde el punto de vista inmunológico son las llamadas «opsoninas específicas, anticuerpos específicos o bacteriotropinas», que son las propias de los individuos vacunados o que han padecido la infección.

Pues bien, el mecanismo de la inmunidad se lleva a cabo por la estrecha correlación cito-humoral de tal suerte, que para que actúen los fagocitos, tienen que hallarse presentes las opsoninas.

Como las bacteriotropinas son específicas para cada germen, fácilmente nos explicamos que si ponemos en contacto una emulsión de leucocitos con una suspensión de bacterias y añadimos suero específico (bacteriotropinas específicas) observaremos bacterias fagocitadas en los polinucleares; por el contrario, si el suero añadido es negativo o no específico, no habrá en absoluto fagocitosis.

Técnica:

Preparar:

- 1) Emulsión de glóbulos blancos
- 2) Emulsión de bacterias (brucela melitensis)
- 3) Suero problema

Emulsión de leucocitos: Recoger asépticamente, de yugular, sangre de cabra y añadirle solución de citrato sódico al 10% en la proporción de 0'2 ml. para 5 ml. de sangre.

Centrifugar y lavar tres veces los glóbulos con solución salina al 0'85 % para eliminar los restos de suero.

Guardar la emulsión en nevera, nunca más de 48 horas.

Emulsión de bacterias: Recoger el crecimiento, de una cepa melitensis (16-M) en frascos de Roux de 48 horas, con 10 ó 15 ml. de solución salina estéril. Previa prueba negativa a la tripaflavina, guardar dicha suspensión en nevera.

Las cuotas de Previsión Sanitaria Nacional deben ser abonadas mensualmente; la acumulación de recibos siempre resulta desagradable, porque después hay que pagarlos todos juntos.

Elimine Vd. este inconveniente, autorizando al establecimiento en que tenga Vd. cuenta corriente o cartilla de ahorros, para que con cargo a la misma se paguen los recibos de Previsión Sanitaria Nacional.



**CONTRA LA BASQUILLA  
DEL GANADO LANAR Y CABRIO**

# **BASQUIL**

Vacuna preparada con los clostridium aislados  
de las enterotoxemias infecciosas ovinas y caprinas.

**Frasco de 50 c.c.**

con diafragma de goma perforable

**Precio venta al público, 12'60 ptas.**

(timbre incluido)



**INSTITUTO DE BIOLOGIA Y SUEROTERAPIA, S. A.-MADRID**  
Bravo Murillo, 53 Apartado, 897 Teléfono 33-26-00

**DELEGACION EN CORDOBA:**

**JOSÉ MEDINA NAVAJAS**

Romero, 4.—Teléfono 21127

Suero problema: Suero transparente de la cabra a estudiar calentado a 60° C. durante media hora en baño de maría.

En un tubo de hemolisis limpio y seco, poner:

0'1 ml. de emulsión de leucocitos

0'2 ml. de suspensión de brucelas

0'1 ml. de suero

Mezclar bien por agitación y llevar 15 minutos a la estufa a 37°C.

Pasado este tiempo, volver a agitar y poner una mezcla sobre un porta, hacer una extensión y secar rápidamente al aire.

Fijar la extensión con alcohol absoluto durante 10 minutos, lavar y colorear durante 5 ó 6 minutos con la siguiente fórmula:

Azul de toluidina..... 0'5 gr.

Ac. fénico cristalizado..... 3 gr.

Alcohol absoluto..... 10 ml.

Agua destilada..... 100 ml.

Lavar, secar y mirar a inmersión.

Si no se observan brucelas fagocitadas por los polinucleares, la prueba será negativa.

Si se observan algunas fagocitadas, sospechosa.

Si son muchas, positiva.

#### *Realizadas con leche.*

Si las muestras de leche eran tomadas en nuestra presencia, procurábamos que la recogida fuera lo más aséptica posible y desde luego en frascos estériles. Si por el contrario, nos eran remitidas de cualquier localidad provincial, las sometíamos inmediatamente a la prueba de Dornic, eliminando las que dieran una acidez total superior a los 25° Dornic.

Con el suero de leche, se han realizado seroaglutinaciones, siguiendo las mismas técnicas llevadas a cabo con el suero sanguíneo.

El suero se ha obtenido de la forma siguiente: Colocar 4 ó 5 ml. de leche en un tubo de ensayo y añadirle 1 ml. de tetracloruro de carbono; agitar y volver a añadir 4 ó 5 gotas de cuajo. Llevar a la estufa a 37° C. un mínimo de una hora. Separar el suero con una pipeta y centrifugarlo a 3.000 revoluciones durante 10 minutos. En estas condiciones queda apto para verificar con él, las técnicas de aglutinación.

Prueba del anillo.—(Ring-test).

Quizás, sea esta técnica la más empleada hoy, dada su rapidez y sencillez de ejecución, lo que permite utilizarla en muy poco espacio de tiempo y en gran número de cabras o vacas. Si a éste añadimos su gran posibilidad de detectar aglutininas específicas, incluso en la leche de mezcla, comprenderemos, que sea esta prueba la más recomendable desde el punto de vista práctico.

Pero no creamos que un ring-test positivo traerá necesariamente una seroaglutinación con suero sanguíneo de título alto, en la misma cabra; por el contrario, ocurre muchas veces, que pese a la positividad de la prueba del anillo, el suero sanguíneo está exento de aglutininas. Este fenómeno queda explicado con la posibilidad de que las brucelas se encuentren sólo acantonadas en las mamas.

Existen varias modificaciones de la prueba del anillo clásica; nosotros solo describiremos las que hemos ensayado.

Creemos fundamental para llegar a felices resultados, la utilización de buenos antígenos coloreados, porque en caso contrario las lecturas serán dificultosas.

El utilizado por nosotros, ha sido un antígeno abortus a la hematoxilina enviado desde Berkeley. No hemos empleado el moderadamente famoso 2, 3, 5 Trifenil-tetrazolium, aunque sinceramente creemos, no tiene nada que envidiarle un buen antígeno coloreado a la hematoxilina.

## Glosobin-Akiba

Medicamento de reconocida eficacia en el tratamiento de las lesiones y ulceraciones

en la boca, lesiones podales infecciosas o enzoóticas, dermatitis podales, etc., producidas especialmente por NECROBACILOSIS (BOQUERA), NECROBACILOSIS PODAL (PEDERO), ESTOMATITIS ULCEROSAS, FIEBRE AFTOSA (GLOSOPEDA), FIEBRE CATARRAL (LENGUA AZUL) y enfermedades de las MAMAS (MAMITIS CATARRAL O INFECCIOSA), etc.

  
**Laboratorio Akiba SA**

POZUELO DE ALARCON (MADRID)

Teléfono N.º 83



Anotemos de pasada (en otro capítulo lo detallamos), que precisamente en estas fechas y después de varios ensayos negativos, hemos conseguido un buen antígeno coloreado a la hematoxilina siguiendo la pauta de Huddlenson-Carrillo. Parece ser que según los citados investigadores dicho antígeno se comporta como más sensible que el trifenil-tetrazolium. Sentimos no poder confirmarlo con el nuestro por carecer del citado producto.

*Técnica clásica.*—En un tubo corriente de aglutinación bien seco, poner 2 ml. de leche problema agitada previamente. Añadir dos gotas del antígeno coloreado, agitando bien para que se mezcle perfectamente, pero evitando la formación de espuma. Llevar a la estufa a 37° C.

Hay un poco de discrepancia en cuanto al tiempo de permanencia de los tubos en la estufa; pues mientras unos realizan la lectura a las 12 horas, otros la hacen a las 2 horas. En el laboratorio tras varios ensayos, se adoptó un tiempo máximo de 5 horas, ya que la mayor permanencia solía traer consigo, un aumento de la acidez de la leche que dificultaba la lectura.

Lectura: Se basa en tres observaciones:

- 1.<sup>a</sup> = Coloración del anillo formado por la crema.
- 2.<sup>a</sup> = Clarificación de la columna.
- 3.<sup>a</sup> = Sedimento aglutinado en el fondo del tubo.

Interpretación de resultados:

Resultados	Anillo	Aspecto columna	Aglutin. fondo tubo
+++	Francamente azul	Blanco	Completa
++	Francamente azul	Ligeramente azulado	Casi completa
+	Francamente azul	Francamente azul	Incompleta
-	Ligeramente azul o blanco	Azul	No existe

*Técnica modificada.*—El doctor Elberg, sugirió unos ensayos a base de mezclar a la leche soluciones salinas de distinta concentración (10% y 20%) por si era factible acelerar el proceso de aglutinación y por tanto reducir el tiempo de incubación. Los resultados no fueron mejores que los de la técnica anterior y por consiguiente no se

# Laboratorios COCA, S.A.

SALAMANCA



LABORATORIOS  
COCA, S. A.  
Salamanca



Boots Pure Drug Co. Ltd.  
Nottingham (Inglaterra)

Ofrecen a los Sres. Veterinarios su  
extensa gama de productos  
Biológicos, Farmacológicos y Piensos  
Correctores para Ganadería

DELEGACION PROVINCIAL:

**Rafael Gómez García**

Almagra, 6

Teléfono 23347

CÓRDOBA

adoptaron. El «modus operandi» fué: Añadir a 1 ml. de leche, 1 ml. de solución salina al 10 % o al 20 %, agitar y adicionar 0'1 ml. de antígeno coloreado. Agitar bien e incubar a 37° C. durante dos horas.

La interpretación de resultados es idéntica que la dicha anteriormente.

### *Técnicas bacteriológicas empleadas*

Las desglosamos en los siguientes conceptos:

- a) Medios de cultivo utilizados.
- b) Técnicas para aislamiento e identificación de brucelas.
- c) Técnicas para detectar la variación S-R.
- d) Técnicas de preparación de antígenos.

#### a) *Medios de cultivo utilizados*

Todos los trabajos se han realizado con medios de cultivo especiales para brucelas.

Albimi-brucela-agar: Agar-agar, Peptona, Dextrosa, Cloruro sódico y Bisulfito sódico. pH = 7

Albimi-brucela-broth (caldo): Peptona, Dextrosa, Cloruro sódico y Bisulfito sódico. pH = 7

Bacto-triptosa-agar: Bacto triptosa, Bacto dextrosa, Cloruro sódico y Bacto agar pH = 7'2

Medio Inhibitorio: Albimi-agar, Actyditiona, Bacitracina y Cristal Violeta.

#### b) *Técnicas para aislamiento e identificación de brucelas*

Se ha intentado el aislamiento de brucelas a partir de:

Organos (hígado, bazo, ovarios y ganglios)

Orina y bilis (en algunas cabras)

Exudados vaginales

Sangre (hemocultivos)

Leche (crema y sedimento)

*Organos.*—Muerta o sacrificada una cabra se le hacía la autopsia, en condiciones buenas de asepsia si se trataba de animales de la experiencia, y con todas las precauciones de limpieza posibles si eran cabras de matadero.

Las distintas muestras eran flameadas ligeramente y depositadas

en placas de Petri estériles. Seguidamente se trituraban, por separado en morteros estériles, auxiliándose de arena y solución salina también estériles. Se consigue así una papilla semilíquida a partir de la cual se siembran dos placas por muestra, una conteniendo Albimi-agar o Triptosa-agar y otra, conteniendo un medio selectivo para las brucelas.

La identificación de colonias de brucela en medios con albimi-agar o triptosa-agar, ha sido muy engorrosa, pues junto a una morfología pobre de caracteres típicos diferenciables hay que añadir la gran dificultad que supone para su estudio, el crecimiento de los gérmenes de contaminación, difíciles de evitar.

Este fué el motivo de empleo simultáneo de un medio inhibitorio, que impidiendo el crecimiento de un gran número de gérmenes, principalmente Gram positivos, ayuda extraordinariamente a la identificación de colonias de brucela. Por su importancia anotamos su fórmula:

Albimi brucela agar.....	500 ml.
Actydiona.....	10 mg/ml.
Aerosporina.....	6 U./ml.
Bacitracina.....	25 U./ml.
Cristal violeta (Sol. 1/80.000).....	0'5 ml.

Las placas una vez sembradas se incuban a 37° C. haciendo la primera observación a las 24 horas y desechándose por completo las contaminadas. Si por el contrario en alguna placa se observaban colonias dudosas se continuaba el tiempo de estufa hasta una semana como máximo, efectuando una vez crecidas, algunos pases a tubos con agar inclinado y a partir de ellos, se realizaban tinciones, comportamiento con sueros específicos antibrucela, etc. etc.

Citemos el hecho curioso, de que algunas colonias con caracteres morfológicos sospechosos, tales como pequeñez, ligera elevación, semejantes a partículas de vidrio (Elberg), etc. y que incluso aglutinaban con sueros específicos antibrucela, observadas al microscopio una vez teñidas, se comportaban como Gram positivos; eran estafilococos.

*Orina y bilis.*—Con muy pocas muestras se efectuaron siembras en los medios citados, poniendo en cada placa 0'1 ml. aproximadamente de orina o bilis y extendiendo por el procedimiento de Drigalski.

Tiempo de incubación y observaciones, por el mismo sistema anterior.

*Exudados vaginales.*—En algunas cabras preñadas, se recogió para siembras exudado vaginal, por medio de pequeños hisopos estériles, encerrados hasta el momento de utilizarlos en tubos también estériles. Después de emulsionado el material en una pequeña cantidad de agua destilada estéril, se efectuaban siembras, etc. con los mismos procedimientos.

*Sangre.*—A casi la totalidad de animales sometidos a experimentación se les hicieron periódicamente hemocultivos con la técnica siguiente: Sangría en yugular en condiciones asépticas. La sangre recogida en frascos con caldo estéril, es llevada a la estufa 37° C. y a la semana sembrar en medio sólido (placas con albimi o triptosa agar) la cantidad de 0'1 ml, por placa. Finalmente estudiar morfología de colonias, tinciones etc.

No se han utilizado los frascos tipo Castañeda.

*Leche.*—En otro sitio dijimos las normas seguidas en la recogida de este producto.

Advertimos, que toda muestra recibida, era sometida en principio a la prueba del anillo y aglutinación, y si estos test resultaban positivos, se seguía estudiando dicha leche con la esperanza de poder aislar de ella alguna brucela. Los pasos seguidos fueron: Centrifugación a 5.000 revoluciones por minuto durante 15 minutos, para lograr crema y sedimento por separado y posteriormente sembrar, de cada una de estas partes, en medios sólidos.

#### *Identificación de brucelas*

- 1.º Por pruebas de aglutinación con sueros monoespecíficos.
- 2.º Por la acción bacteriostática de algunos colorantes y la producción de hidrógeno sulfurado.

Ninguna de las dos pruebas debe faltar a la hora de identificar

El régimen mutual permite obtener pensiones y subsidios a coste reducido. Previsión Sanitaria Nacional funciona con régimen mutual, no obtiene beneficios, y contribuye a aumentar el nivel de vida.

brucelas; la primera por que es de certeza casi segura una aglutinación positiva, la segunda, porque su valor es definitivo.

De forma esquemática anotamos a continuación los caracteres serológicos y comportamiento ante los colorantes de las brucelas, siguiendo el ya clásico método de Huddlenson, también realizado por nosotros.

	Suero monoespecif. Br. abortus				Suero monoespecif. Br. melitensis			
	1/20	1/40	1/80	1/160	1/20	1/40	1/80	1/160
Abortus	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-
Meliten.	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++
Sospech.	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-
	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++

La comparación de los caracteres tenidos en cuenta para la identificación de los diversos tipos de brucelas han sido:

Especie	Crecimiento en CO <sub>2</sub>	Producción de SH <sub>2</sub>					Crecimiento en presencia de	
		Días					Fuchina	Tionina
		1	2	3	4	5	1/25.000	1/50.000
Melitensis	-	-	-	-	-	+	+	
Abortus	+	+	+	-	-	+	-	
Suis	-	+	+	+	+	-	+	

c) *Técnicas para detectar la variación S-R.*

Algunas veces hemos observado este tipo de variación, la cual acarrea siempre modificaciones en la forma de la colonia y de los gérmenes, a más de pérdida de sus propiedades antigénicas.

La forma R típica presenta colonias opacas, sin brillo, sin consistencia, secas; estas alteraciones se acompañan de cambios morfológicos del germen que puede tornarse alargado y filamentosos.

Tres han sido los procedimientos seguidos para la identificación de esta variante:

1) Prueba de la tripaflavina.—Nunca debe faltar, por su sencillez y por ser suficiente en la práctica. Las brucelas en fase R son aglutinadas por la tripaflavina al 1/500.

2) Examen de las colonias con luz oblicua y estudiando sus caracteres morfológicos.

3) Procedimiento sugerido por White y Wilson, basado en la

distinta afinidad tintorial de las colonias lisas y rugosas. Por creerlo de interés describimos su técnica.

Se siembra la brucela problema en placas que contengan el siguiente medio:

Albimi agar.....	43 gr.
Bacto agar.....	10 gr.
Dextrosa.....	10 gr.
Glicerina.....	50 gr.
Agua destilada.....	1.000 ml.

A las 72 horas de crecimiento se lava la superficie de las placas durante 15 a 20 segundos con una solución de Cristal violeta, preparada como sigue:

Solución A: Cristal violeta.....	2 gr.
Alcohol.....	20 ml.
Solución B: Oxalato amónico.....	0'8 gr.
Agua destilada.....	80 ml.

Se mezclan las dos soluciones y se diluye momentos antes de usarse al 1/40.

Las colonias lisas aparecen con color verde azulado en fondo violeta.

Las colonias rugosas toman coloración roja.

d) *Técnicas de preparación de antígenos*

Varias veces hemos anotado que los antígenos utilizados, tanto coloreados como no, han sido enviados desde Berkeley, exceptuando el preparado por el Instituto Llorente que con tanta frecuencia se ha usado.

Ultimamente, y ésta ha sido labor exclusivamente nuestra, hemos preparado un antígeno melitensis coloreado a la hematoxilina con resultados satisfactorios.

Su técnica, siguiendo las directrices de Huddlenson-Carrillo y con ligeras modificaciones, es:

Se necesita preparar previamente dos soluciones:

A) Preparación de la solución coloreada de hematoxilina.

Disueltos 2 gr. de hematoxilina en 15 ml. de alcohol metílico, se mezclan con 100 ml. de solución al 10% de sulfato doble de aluminio y amonio.

La mezcla se vierte en una cápsula de porcelana y se irradia durante tres días con luz ultravioleta, a la temperatura ambiente.

Pasados éstos, se filtra dicha solución por filtro Whatman n.º 1

Al filtrado se le añaden 25 ml. de glicerina y 25 ml. de alcohol metílico. La mezcla se vierte en un frasco que se mantiene, destapado y a la temperatura ambiente, durante cuatro semanas para que madure.

Repetir la filtración y almacenar en frasco tapado. El color queda rojo burdeos.

#### B) Preparación del mordiente.

Está demostrado que las brucelas se colorean mejor y más rápidamente en presencia de una solución débil de sulfato férrico. Esta solución se prepara disolviendo 0'5 gr. de sulfato férrico en 100 ml. de agua destilada caliente; se filtra y se almacena en un frasco.

La preparación del antígeno es como sigue:

Previa prueba a la tripaflavina, se recoge con 15 ml. de solución de fenol al 1%, un cultivo, en frasco Roux de 72 horas de incubación, de brucela melitensis 6015 (ha sido la cepa empleada por nosotros).

La emulsión madre se filtra por paño fino de algodón y se calienta en baño de maría a 60°C. durante una hora agitando frecuentemente, para matar las bacterias que no hayan sido muertas con la solución fenolada.

Sembrar en medios con agar triptosa, para asegurarse de la esterilidad de la emulsión.

Seguidamente centrifugar 10 ml. de dicha emulsión a 3.000 revoluciones durante 15 minutos y eliminar el líquido que sobrenada.

Añadir al sedimento 1'5 ml. de solución de sulfato férrico y 0,5 ml. de solución de hematoxilina (preparada anteriormente). Mezclar bien agitando vigorosamente. La mezcla tomará un color azul oscuro el cual se puede intensificar, si se desea, calentando la emulsión a 40° C. (baño de maría) durante 10 a 15 minutos,

Después, centrifugar a las mismas revoluciones y durante el mismo tiempo que anteriormente. Eliminar el líquido y suspender el sedimento en una solución fisiológica al 0'85 % con 0'5 % de fenol, a razón de un gramo de bacterias coloreadas por 20 ml. de líquido.

Este antígeno, conservado en nevera, es estable durante varios meses.

En estas condiciones hemos hecho pruebas con leches positivas y negativas, así como con diluciones de suero sanguíneo positivo; en todos los casos los resultados han sido muy satisfactorios.

Nuestro deseo hubiera sido someterlo a una valoración seria, con un suero standard internacional, pero por carecer de él y ser difícil su adquisición, hemos desistido.



### *Pruebas alérgicas*

Se han realizado con muy poca frecuencia, posiblemente, porque aun los resultados no son muy concluyentes, debido principalmente a una falta de perfeccionamiento en la preparación de los antígenos a emplear.

Las reacciones han sido hechas por el método intradérmico e intrapalpebral. El primero se realizó por inyección en pliegue caudal de 0'2 ml. de Brucelina P. P. B. diluida al 1'20, con lectura a las veinticuatro y cuarenta y ocho horas y tomando como dato de valor el aumento de grosor en milímetros de dicho pliegue.

La prueba intrapalpebral consistió en la inyección de 0'1 a 0'2 ml. del mismo antígeno, en el párpado inferior. Una inflamación en el sitio de inoculación, a las 48 horas, se consideraba como reacción positiva.

El éxito del régimen mutual depende del entusiasmo de los asociados. Sea Vd. propagandista de las Secciones de Enfermedad, Invalidez, Vejez, Vida y del Automóvil de Previsión Sanitaria Nacional; se ayudará Vd. mismo ayudando y convenciendo a sus compañeros para que utilicen al máximo los servicios de la Mutual.

## **NOTICIAS**

### **Don Ramón Castell Castell y don Rafael Codina Ribó, en el Colegio Oficial de Veterinarios de la provincia de Barcelona**

En la Sección de Avicultura y dentro del Curso Académico del Colegio de Veterinarios, disertó don Ramón Castell Castell, sobre el tema: LA BRONQUITIS INFECCIOSA AVIAR, tema que despertó gran interés, tanto entre veterinarios como avicultores. El Sr. Castell, que lleva prestando una atención especial a la patología aviar desde que se inició profesionalmente y que últimamente ha estado un año en Bélgica estudiando estos problemas, hace la descripción de la enfermedad con todo detalle, tanto en cuanto a su etiología, como a su diagnóstico y tratamiento; la describe como enfermedad de importación, que él observó por primera vez en Bélgica, y que ahora ha podido diagnosticar en España. Ello es consecuencia de la importación de razas o estirpes selectas, y al uso abusivo de vacunas a base de virus vivos, por lo que hace un llamamiento de alerta, tanto a avicultores como a veterinarios, ya que su posible difusión en nuestro país es de esperar en un futuro inmediato, aunque su yugulación es posible con los modernos procedimientos terapéuticos con que contamos.

Seguidamente don Rafael Codina Ribó, desarrolló el tema: RABIA, sobre el que desde hace varios años viene consagrandó gran parte de sus estudios a investigaciones. Así resultó, una conferencia muy documentada, que inició con un preámbulo acerca de la difusión e importancia epidemiológica de esta enfermedad en el mundo y la situación actual de la misma en España. Describió minuciosamente las características del virus rábico, mecanismo de infección, lesiones macro y microscópicas, sintomatología, diagnóstico, pronóstico siempre letal y tratamiento, así como las medidas defensivas y preventivas de la infección, tanto por lo que a animales se refiere, como por lo que su prevención representa para el hombre. Hizo una cuidada descripción de los tipos de vacunas más utilizadas, como así de los sueros y tratamientos de casos de mordeduras, todo ello ilustrado con resultados de su experiencia personal, muy documentada, resaltando la importancia que la vacunación de los animales tiene como medio de erradicar la enfermedad y evitar sobre todo su propagación al hombre.

En la discusión sobre los temas, intervinieron los Sres. Martí Morera, Carol, Luera (Miguel), Amich, Sécull y Gené, cerrando el acto el Presidente del Colegio, que agradeció y felicitó a ambos conferenciantes por sus brillantes disertaciones, quienes fueron muy aplaudidos y felicitados por la selecta concurrencia asistente al acto.