

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**



**Estudio serológico para detección
de anticuerpos contra rinotraqueitis
infecciosa bovina en el ex-distrito
de Tuxtepec, Oax.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

José Rogelio Vargas Vera
Asesor: M. V. Z. Juan Gay Guliérrez



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO:

- 1.- Resumen**
- 2.- Introducción**
- 3.- Material y metodos**
- 4.- Resultados**
- 5.- Discusión**
- 6.- Conclusión**
- 7.- Bibliografía**

RESUMEN.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de serología del departamento de virología e inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Se obtuvieron muestras de sueros sanguíneos de bovinos - destinados a la producción de carne de 11 municipios del ex-Distrito de Tuxtepec, Oax., para realizar un estudio serológico que permitiera detectar la presencia de anticuerpos contra rinotraqueitis infecciosa bovina (IB) por medio de la prueba de fijación de complemento.

De un total de 143 animales muestreados, 88 mostraron títulos de anticuerpos contra el virus de IB, lo que da un porcentaje de 61.53% de reactores positivos entre los animales muestreados.

INTRODUCCION.

La rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB), rinotraqueitis viral bovina o exantema coital bovino, es una enfermedad viral que ataca principalmente al ganado bovino, existiendo reportes sobre casos de infección natural en ganado caprino (25) y experimentalmente en cerdos (26) y equinos. (20)

En México esta enfermedad fue diagnosticada clínicamente y reportada por Esparza en 1970 y Ramos en 1971 (19). En este mismo año Ruiz y Cuevas diagnostican RIB utilizando pruebas de inmunofluorescencia e histopatología (19) (28) y Kartell y colaboradores aislan el agente causal, logrando reproducir la enfermedad, con lo que quedó establecida la presencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en México.

La rinotraqueitis infecciosa bovina se presenta en cinco formas clínicas diferentes:

1.- Forma respiratoria: En condiciones experimentales tiene un periodo de incubación de 3 a 7 días, pero en potreros o corrales de engorda infectados, la enfermedad aparece de 10 a 60 días después del ingreso de bovinos susceptibles (11). El comienzo es brusco, con signos que incluyen anorexia, hiperemia intensa de la mucosa nasal, secreción ocular y nasal, rinorrea, fiebre de 40 a 42 grados centígrados, hiperexcitabilidad, disnea y a veces tos. Puede presentarse muerte súbita como consecuencia de bronquiolitis obstructiva extensa. En el ganado bovino productor de leche la enfermedad adopta su forma más leve, con descenso de la producción láctea hasta en un 10 (20). La temperatura se normaliza en uno o dos días y el animal cura por completo en 10 a 14 días.

En el ganado bovino destinado a la producción de carne - la enfermedad suele ser más prolongada, pudiendo ocurrir algunas muertes en el periodo febril. Sin embargo estas muertes son, en su mayoría el resultado de infecciones respiratorias secundarias que producen bronconeumonía y se observan más comúnmente después de una enfermedad prolongada. Los animales que curan quedan con respiración ruidosa persistente y engrosamiento de la mucosa nasal que se acompaña de secreción mucopurulenta abundante. En condiciones controladas se ha registrado eliminación intermitente del virus por la mucosa nasal hasta por 17 meses post-infección.(3) Los cambios histopatológicos más frecuentes se localizan en el tracto respiratorio: pérdida del epitelio ciliado, infiltración de la mucosa con neutrófilos y algunos eosinófilos, así como acúmulos nodulares y difusos de células mononucleares tanto en submucosa como en el epitelio (15,31).

2.- Forma genital.- Se le conoce también como vulvovaginitis pustular infecciosa (VFI), enfermedad vesicular venérea o exantema coital bovino. En este tipo de presentación, los primeros signos aparecen 24 o 48 horas después de inseminación artificial o coito con un animal o semen infectados (17,3,15) o bien por contacto con pastos contaminados (20), los signos incluyen congestión de la mucosa de la vulva y pequeños nódulos pustulares, lesiones que son muy significativas si se presentan en becarras vírgenes (20). Los toros afectados pueden presentar; balanopostitis, orquitis y nódulos pustulares en pene y prepucio. Si no se presentan complicaciones secundarias, los animales se recuperan en un periodo de 2 a 3 semanas.

3.- **Forma conjuntival:** En la mayoría de los casos se presenta asociada a la forma respiratoria y menos frecuentemente en forma única sin otros signos. Puede afectar la conjuntiva de uno o ambos ojos, la cual se observa roja e inflamada acompañada de una secreción serosa y profusa. Esta lesión puede conducir, en las etapas iniciales a un diagnóstico clínico equivocado con diarrea viral bovina o con queratoconjuntivitis infecciosa producida por *Moraxella bovis* (3).

4.- **Forma abortiva:** el aborto se presenta frecuentemente como secuela de RIB en su forma respiratoria, ocurre más frecuentemente de los 4 meses hasta el final de la gestación y generalmente de 2 semanas a 4 meses después de la enfermedad clínica o de la vacunación intramuscular con virus activo modificado (23). Los fetos muestran inflamación granulomatosa en todas las vísceras, con necrosis focal e hiperplasia, infiltración de células mononucleares, edema en pulmón y ascitis (16).

5.- **Forma encefalítica:** esta es la forma con incidencia más baja (6), se presenta en mayor proporción en animales menores de 6 meses de edad produciendo meningoencefalitis que se manifiesta con signos nerviosos a los que frecuentemente sigue la muerte.

Además de las cinco formas clínicas de presentación, este virus puede causar mastitis, metritis y enteritis (11).

La signología clínica nos permite elaborar un diagnóstico presuntivo, sin embargo el diagnóstico definitivo sólo puede llevarse a cabo a través de técnicas de laboratorio que detecten la presencia del virus o bien demuestren una respuesta de tipo inmune que indique la exposición del animal ante dicho agente etiológico.

Las diferentes pruebas de laboratorio que se han aplicado en el caso de RIB son:

1.- Prueba de inmunofluorescencia: en la cual se utiliza un "conjugado" (anticuerpos específicos marcados con una sustancia fluorescente) que al ponerse en contacto con antígenos virales presentes en las muestras sospechosas: exudados, fetos abortados, raspado traqueal, etc. Permiten observar la reacción antígeno-anticuerpo con el microscopio de fluorescencia (8).

2.- Virus neutralización: para llevar a cabo esta prueba, se incuban diluciones del suero problema adicionado con antibióticos en presencia de una cantidad constante de virus conocido (71B) posteriormente, a esta mezcla se agrega una suspensión celular, se incuban a 37 grados centígrados con 2 % de dióxido de carbono por 6 días. El título de anticuerpos se determina con base en el efecto citopático observado en las células adicionadas a cada dilución del suero problema (27).

3.- Prueba de intradermorreacción: Consiste en inocular - por vía intradérmica una pequeña cantidad (0.03 a 0.1 ml.) de antígeno específico, en este caso virus de IB inactivado, a animales sospechosos, el resultado se valora macroscópicamente midiendo el aumento en el espesor de la piel con un "vernier" en la región inoculada. Se considera reacción sospechosa (+-) un aumento de .5 a 1 cm. de diámetro, positiva (+) de 1 a 2 cm., positiva (++) de 2 a 3 cm. (10).

4.- Aislamiento del virus: en esta prueba se utilizan raspados de traquea, fetos abortados o hisopos impregnados con exudado nasal, prepucial o vaginal de animales sospechosos.

Estas muestras son inoculadas en cultivos de tejidos en los cuales en caso de producirse la infección por el virus de RIB aparecerá un efecto citopático consistente en desprendimiento del monoestrato, apareciendo las células redondeadas y aglomeradas (21).

5.- Fijación de complemento: Para la cual se utilizan diluciones de sueros sanguíneos inactivados a 56 grados centígrados por 30 minutos, éstos se incuban a 37 grados centígrados - por 30 minutos en presencia de cantidades constantes de un antígeno conocido (virus de RIB) y complemento, durante esta — primera fase se forma un complejo antígeno-anticuerpo que "fija" el complemento, pero sin evidencia visual de esta reacción, por lo que es necesario agregar un sistema indicador compuesto por glóbulos rojos de carnero al 2 % y suero antiglóbulos de ovino (hemolisina). Una vez agregado este reactivo se hace una segunda incubación a 37 grados centígrados por 30 minutos. La hemólisis completa indica ausencia de anticuerpos contra RIB pues no se ha formado el complejo antígeno-anticuerpo que fije al complemento durante la primera incubación y por lo tanto éste lisa a los glóbulos rojos de carnero. La prueba en tal caso se considera negativa. La ausencia de hemólisis es indicativa de que durante la primera incubación el complemento fue fijado por el complejo antígeno-anticuerpo. En este caso la prueba se considera positiva. Una variante de esta prueba consiste en realizar la primera incubación a 4 grados centígrados por 18 horas (12).

Haciendo uso de varias de la pruebas anteriormente descritas se han hecho reportes sobre la presencia de esta enfermedad en la República Mexicana desde el año de 1971 hasta el año de 1977 en los siguientes estados: México, Puebla, Veracruz, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, Nayarit, Jalisco, San Luis Potosí, Durango, Baja California, Sonora, Sinaloa, Coahuila y Chihuahua (4).

Sin embargo quedan muchas áreas del país en las cuales no existen datos o éstos son insuficientes como para determinar la presencia de la enfermedad y menos aún su distribución e incidencia.

Al realizar inspecciones clínicas en ganado de carne en distintos ranchos de los municipios del ex-Distrito de Tuxtepec, Oax., es frecuente observar animales que muestran signos como los descritos por algunos autores como secuela de RIB (3, 19, 29) estos signos incluyen: secreción nasal purulenta, problemas neuróticos y mal estado de carnes. Lo anterior resulta aún más significativo cuando, a la anamnesis, los propietarios de los rebaños señalan la presencia de conjuntivitis, anorexia, hiperexcitabilidad nerviosa y secreción ocular serosa en algunos de los animales afectados días o semanas antes.

Estas observaciones señalan la presencia de RIB en el ex-Distrito de Tuxtepec, Oax., y es el objetivo de esta tesis, el detectar por medio de la prueba de fijación de complemento, niveles de anticuerpos que comprueben esta hipótesis.

MATERIAL Y METODOS.

Para la realización de este trabajo se utilizaron 143 -- muestras de suero sanguíneo de bovinos de 11 municipios del -- ex-Distrito de Tuxtepec, Oax.; Tuxtepec, Uxila, Jacatepec, Jocoatepec, Temascal, Ojitlán, Loma Bonita, Valle Nacional, Chiltepec, Jalapa de las y Coatepec. Los sueros fueron obtenidos mediante la punción de la vena yugular, la sangre se dejó a temperatura ambiente hasta que se constituyó el coágulo, éste fue separado y el suero se congeló hasta su utilización.

Como antígeno se utilizó una vacuna contra rinotraqueitis infecciosa bovina¹.

El complemento se obtuvo de cuyes sanos adultos que fueron sangrados por punción cardíaca. La sangre recolectada se colocó en cajas de Petri al medio ambiente hasta que se formó el coágulo, éste fue separado. El suero se centrifugó a 2 500 RPM por cinco minutos, se decantó y se congeló hasta su utilización.

Se utilizó una hemolisina comercial².

Se obtuvo sangre de ovinos adultos sanos mediante la punción de la vena yugular, recolectada en un frasco estéril que contenía solución de Alseaver para un volumen igual de sangre y se agitó hasta homogeneizarse.

¹ Rhinogel, Bovine rhinotracheitis vaccine, modified live virus, bovine tissue culture origin. SYNTEX, Iowa, U.S.A.

² Reag 1: na glicerínada. Lab. SISCO.

Los glóbulos rojos se lavaron dos veces con solución salina fisiológica utilizando la centrífuga a 2 500 RPM por 5 minutos decantando cada vez, se lavaron una tercera vez utilizando la centrífuga a 3 000 RPM por 5 minutos y decantando. Se preparó la suspensión de glóbulos rojos al 2 % utilizando 98 partes de solución salina fisiológica y dos partes de glóbulos rojos lavados. Se ajustó la suspensión al 2 % usando el espectrofotómetro "Coleman" (previamente ajustado a una longitud de onda de 545) hasta obtener una lectura de .66 de densidad óptica, que nos indica que los glóbulos rojos están en dilución al 2 % .

La titulación de la hemolisina, del complemento y la determinación de la dosis del antígeno, se realizó siguiendo las técnicas descritas por Herbert (12) Carpenter (7) y Barret (2).

De cada uno de los sueros se tomó una muestra de la que se hicieron tres diluciones: 1 a 20, 1 a 40, y 1 a 80 que fueron colocadas en cuatro tubos de ensaye, dos de los cuales contenían la dilución 1 a 20 y los otros dos las diluciones 1 a 40 y 1 a 80 respectivamente. Cada tubo de ensaye contenía una cantidad de .2 ml. de la dilución respectiva.

Estas diluciones se incubaron a 56 grados centígrados en baño María durante 30 minutos, para inactivar el complemento de estos sueros. Después de este tiempo se agregó a cada uno de los tubos .2 ml. de antígeno previamente titulado excepto al primer tubo (dilución 1 a 20) que nos sirvió como control de suero y en lugar de antígeno, se le agregó solución salina fisiológica. (.2 ml.)

A todos los tubos se les agregó .2 ml. de complemento - (tres unidades) también previamente titulado.

Los tubos se incubaron a 4 grados centígrados durante 16 horas. Se hizo una segunda incubación a 37 grados centígrados durante 30 minutos en baño María. Se agregó .4 ml. de sistema hemolítico a cada tubo (preparado con glóbulos rojos de ovino al 2 %, hemolisina y solución salina fisiológica). Se incubaron nuevamente, esta vez a 37 grados centígrados y la lectura se hizo cuando los glóbulos rojos del tubo control del complemento presentaron una lisis completa.

Para poder interpretar los resultados que no estuvieran de acuerdo con los resultados esperados se utilizaron los siguientes controles:

Control de complemento.- En este tubo de ensaye se depositaron, .2 ml. de complemento, .4 ml. de solución salina fisiológica y .4 ml. de sistema hemolítico. Este control nos indicó que existía suficiente complemento para lizar las células.

Control de sistema hemolítico. En este tubo se depositaron .6 ml. de solución salina fisiológica y .4 ml. de sistema hemolítico. Este control nos indicó que los glóbulos rojos no se lisan espontáneamente.

Control de complemento mas antígeno.- En este tubo se depositaron .2 ml. de antígeno, .2 ml. de complemento, .4 ml. de solución salina fisiológica y .4 ml. de sistema hemolítico, para determinar que la lisis no se inhibe por la existencia de factores anticomplementarios en el antígeno.

Control de antígeno.- En este tubo se depositaron .2 ml. de antígeno, .4 ml. de solución salina fisiológica y .4 ml. de sistema hemolítico. Este control nos permite precisar que el antígeno solo, no lisa las células.

Control de sueros.- En los que se depositaron: .2 ml. de diluciones de los sueros problemas, .2 ml. de complemento, .2 ml. de solución salina fisiológica y .4 ml. de sistema hemolítico. Este control nos comprueba que la lisis, no se inhibe por factores anticomplementarios del suero.

Se trabajó además con un suero reactor positivo y un suero reactor negativo conocidos.

RESULTADOS.

Se estudiaron animales de 18 meses en adelante encontrando anticuerpos contra FIB.

El porcentaje promedio de reactores positivos en los animales muestreados fue de 61.53 %.

Los sueros de los 143 bovinos fueron trabajados mediante la prueba lente de fijación y complemento, los resultados son representados en el cuadro No. 1 y en la gráfica No. 1.

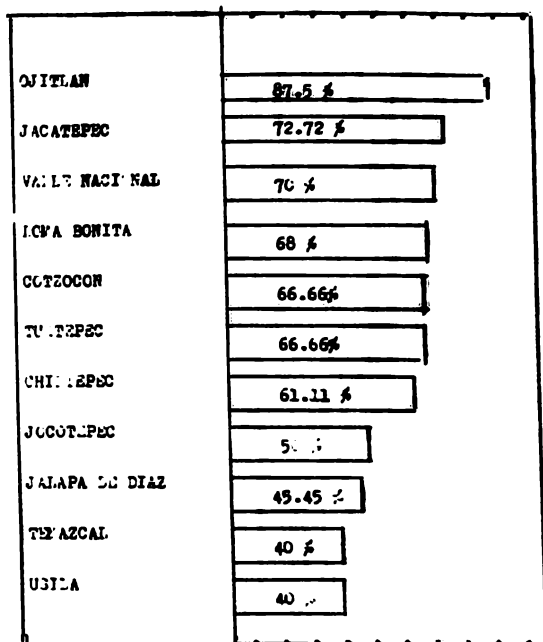
En el cuadro No. 1 se expone el número y el porcentaje de reactores positivos con respecto al número de animales muestreados en cada municipio.

CUADRO No. 1

MUNICIPIO	No. de MUESTRAS	No. de POSITIVOS	%	No. de NEGATIVOS	%
GUAYAN	8	7	87.5	1	12.5
JACATEPEC	11	8	72.72	3	27.27
VALLE NACIONAL	10	7	70	3	30
LOCA BONITA	25	17	68	8	32
COTZOCOK	12	8	66.66	4	33.33
TUATEPEC	18	12	66.66	6	33.33
CHILTEPEC	18	11	61.11	7	38.88
JOCOTEPEC	10	5	50	5	50
JALAPA DE DIAZ	11	5	45.45	6	54.54
TEXMICAL	10	4	40	6	60
USILA	10	4	40	6	60
TOTALES	143	88	61.53	55	38.47

Porcentaje y número de reactores positivos con respecto al número de animales muestreados de cada municipio.

GRAFICA No. 1



Porcentaje de reactores positivos a TB por la prueba lenta de fijación y complemento en lotes de bovinos muestreados procedentes de los diferentes municipios del ex-Distrito de Tuxtotec, Oax.

DISCUSION.

En este trabajo se realizó un muestreo serológico para conocer que proporción de los animales muestreados poseen anticuerpos contra rinotraqueítis infecciosa bovina y de esta manera poder inferir la presencia del virus en la zona. Los animales reactivos positivos a RIB podrían ser portadores del virus y posibles diseminadores del mismo, ya que éste puede ser eliminado hasta por 17 meses post-infección.(3)

Para detectar la presencia del agente etiológico o demostrar una respuesta de tipo inmune que indique la exposición del animal ante dicho agente etiológico, existen diferentes pruebas, en este trabajo se utilizó la prueba lenta de fijación de complemento descrita por Harbart (12) y Carpenter (7) dada la facilidad de su realización y la especificidad en los resultados. Para la realización de esta prueba se utilizó como antígeno un virus vacunal (previamente titulado) con buenos resultados de acuerdo con los controles utilizados.

La prueba lenta de fijación de complemento permite detectar las inmunoglobulinas G pues son las que mejor fijan el complemento a 4 grados centígrados (2).

Por lo general, los anticuerpos son demostrables al cuarto o quinto día después de la exposición antigénica, detectándose en forma inicial IgM y al sexto o séptimo día las IgG, que alcanzan títulos mucho mayores que la IgM. La concentración de IgM comienza a disminuir y desaparece antes que la IgG alcance su máximo título, esto ocurre en el décimo cuarto o décimo quinto día, después, la IgG empieza a declinar hasta niveles no detectables en el término de 30 a 40 días después de una sola exposición al antígeno.

La segunda exposición al mismo antígeno, provoca una respuesta secundaria, en la cual las IgM alcanzan un nivel ligeramente superior pero desaparecen en un tiempo similar al observado en la respuesta primaria. En tanto que la concentración de IgG se eleva a un nivel muy superior y permanece elevada - durante mucho mas tiempo (3 o 4 meses) que durante la respuesta primaria.

Utilizando la prueba de virus neutralización aplicada en 20C sueros de animales de diferentes edades Quevedo (26) encontró que los porcentajes más elevados de reactores positivos se encontraban entre aquellos animales que por su edad habían estado en contacto con el virus por más tiempo.

Con base en lo anterior y sabiendo que los animales muestreados tenían edades de 15 meses en adelante y que siempre han permanecido en la zona, en la cual no se vacuna contra RIB, se puede asegurar, que los anticuerpos detectados en este trabajo representan la respuesta inmune de tipo humoral de los animales a la presencia del virus de RIB.

El porcentaje promedio de reactores positivos fue de 61.53% esto, coincide con los resultados obtenidos por Castilla (8) (que utilizó prueba de inmunofluorescencia) y con los resultados obtenidos por Carrillo (6) (que utilizó prueba de fijación de complemento) aunque estas pruebas fueron aplicadas a sueros sanguíneos procedentes de diferentes partes de la república.

Aunque el número de animales muestreados no es representativo de la importancia ganadera de cada municipio y mucho menos de la zona, el hecho de haber encontrado un porcentaje tan alto de reactores positivos (61.53%) y considerando lo reducido del número de muestras trabajadas nos permite suponer que el virus de RIB está ampliamente difundido en la región.

CONCLUSION.

A través de los resultados obtenidos, se establece la —
presencia del virus de H19 en el ex-distrito de Tuxtepec, Oax.

B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Anspugh V.: Infectious bovine rhinotracheitis
Vet. Med/Small An.Clinic., 65:1171-1176 (1970)
- 2.- Barret T.J.: Textbook of immunology
Primera edición en español
Nueva Editorial Panamericana. México (1972)
- 3.- Blood D.C. Y Henderson J.A.: Medicina Veterinaria
Editorial Interamericana. México D.F. (1976)
- 4.- Boletín Zoonosanitario. Subsecretaría de ganadería
Dirección general de sanidad animal S.A.R.
reportes mensuales (1971-1977)
- 5.- Brown A.L. and Bjornson.: The relation of nasal
discharge to infectious with infectious bovine
rhinotracheitis virus., Am. Jour. Vet. Res. 20:985-988 (1959)
- 6.- Carrillo D.F.: Estudio serológico para detección de anti-
cuerpos contra rinotraqueitis infecciosa bovina en Tlal-
pam D.F. y Tepetzotlan, Edo. de México.
Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.
Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. (1976)
- 7.- Carpenter L.P. Inmunología y serología.
La prensa Médica Mexicana, México D.F. (1972)

- 8.- **Castilla P.F.:** Contribución al estudio de la incidencia de la rinotraqueitis infecciosa bovina en México mediante la técnica de inmunofluorescencia.
Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.
Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. (1976)
- 9.- **Correa G.P., Brown L.M. y Bryner J.H.:** Presencia de anticuerpos contra rinotraqueitis infecciosa bovina, diarrea viral bovina, parainfluenza 3, brucelosis, leptospirosis, vibriosis y haemophilus somnus en sueros de bovinos con problemas patológicos reproductores y respiratorios.
Tec. Pec. en Mex., 29:26-33 (1975)
- 10.- **Correa G.P., Carmichael L.E. y Schultz R.D.:** Observaciones sobre la respuesta de los bovinos a una prueba de intradermorreacción utilizando un antígeno preparado con el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina.
Tec. Pec. en Mex., 29:91-92 (1975)
- 11.- **Curtis R.A., Drenth L.E. and Dichtfield J.:** Infectious bovine rhinotracheitis, clinical pathological and virological aspects., Can. Vet. Jour. 7:161-168 (1966)
- 12.- **Herbert W.J. :** Veterinary immunology.,
Blackwell Scientific Ltd. London (1970)
- 13.- **Huck R.A., Millar P.G., Evans D.H. Stables J.S. and Rose A.:** Penopostitis associated with infectious bovine rhinotracheitis/Infectious pustular vulvovaginitis (IPV/IPV) virus in a study of bulls., The Vet. Rec., 18:292-296 (1971)

- 14.- Kahre R.P.: Staphylococcus mastitis, pasteurellosis, leptospirosis, infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus diarrhea, winter dysentery and myxovirus parainfluenza 3. Immunisation programs for dairy cattle. Cornell Vet. 56:288-292 (1966)
- 15.- Kahre R.P., Sheffey B.E. and Schultz I.D.: Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in bovine semen. Current concepts., The Bov. Pract., 12: 82-84 (1977)
- 16.- Kaminjolo J.S., Nyaga P.N., Omaso L.P. And Butiga E.N.: Infectious Bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis ., Am. Jour. Vet. Res., 36:123-125 (1975)
- 17.- Kendrick J.W.: Placental reaction to the infectious bovine rhinotracheitis -infectious pustular vulvovaginitis virus., Am.Jour.Vet.res., 32:1045-1052 (1971)
- 18.- Kruiningen H.J. and Bartholomew J.C.: Infectious bovine rhinotracheitis diagnosed by lesion in a calf., Jour.Am.Vet.Med. Ass., 144:1000-1012 (1964)
- 19.- Landeros G.F.: Diagnóstico de rinotraqueitis viral bovina en el estado de Chihuahua., Memorias de la segunda reunión regional de laboratorios de diagnóstico del norte de la República Mexicana., 2:65-75 (1973)
- 20.- Partell M., Soto L., Castellanos L., McCanley E.H. and Johnson W.D.: IBR virus isolated from two epizootics in Mexican dairy cattle., Vet.Med./Small An.Clinic., 69:1045-1049 (1974)

- 21.- Martell M.D.: La rinotraqueitis viral bovina o vulvovaginitis infecciosa en la República Mexicana.
Bovirama., 9:22-25 (1975)
- 22.- Miller R.B. and Lawson F.B.: Some lesions observed in calves born to cows exposed to the virus of infectious bovine rhinotracheitis in the last trimester of gestation .,
Can. Jour.Comp. Med., 42:438-445 (1978)
- 23.- McPeely A. ., Merritt L.A. and Stearly M.E.: Abortion in a dairy herd vaccinated for infectious bovine rhinotracheitis., Jour.Am.Vet.Med. Ass., 153:657-661 (1968)
- 24.- McKercher and Mada E.K.: The virus of infectious bovine rhinotracheitis as a cause of abortion in cattle .,
Jour.Am.Vet.Med.Ass., 144:136-142 (1964).
- 25.- Mohanty S.B., Lillie M.G., Corselius K.P. and Beck L.D.: Natural infectious bovine rhinotracheitis virus in goats., Jour.Am.Vet.Med.Ass., 160:879-880 (1972)
- 26.- Nelson R.D., Laré J.C. and Block D.M.: Infectious bovine rhinotracheitis (Herpesvirus bovis) infection in swine., Am.Jour.Vet. Res., 33:1209-1215 (1972)
- 27.- Quevedo J.M.: Investigación serológica de la rinotraqueitis infecciosa bovina. Tesis de licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- 28.- Ruiz D.F. y Cuevas R.F.: rinotraqueitis infecciosa bovina como causa de aborto en México.

- 29.- Runnels A.A., Konlux B.W. y Konlux W.A.: Principios de patología veterinaria. Compañía Editorial Continental. México D.F. (1975)
- 30.- Schroeder J.M. and Koyz B.D., An Acute upper respiratory infection in dairy cattle., Jour. Am. Vet. Med. Ass. 125:471-472 (1954)
- 31.- Shroyer E.L. and Easterday B.C.: Studies on the pathogenesis of infectious bovine rhinotracheitis following aerosol exposure., The Cornell Vet., 58:442-461 (1968)
- 32.- Spradbrow F.B.: the isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from bovine semen. Am. Vet. Jour., 44:410-412. (1968)