



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE
LA RINOTRAQUEITIS VIRAL BOVINA EN MEXICO
MEDIANTE LA TECNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA.

TESIS

Que para obtener el título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Jorge Carlos Castilla Patrón

México, D. F.

1976.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A MIS PADRES.

A MIS HERMANOS.

A MI NOVIA.

A MIS MAESTROS.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

Con agradecimiento infinito.

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN
EL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLO
GIA DE LA FACULTAD DE MEDICI
NA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE
LA U.N.A.M., BAJO LA ASESORIA
DEL M.V.Z. JOSE A. BARAJAS R.

==*==*==*==*==*==*==*==*==*==*

5

S U M A R I O

	Página.
INTRODUCCION - - - - -	1
MATERIAL Y METODOS - - - - -	6
RESULTADOS - - - - -	10
DISCUSION - - - - -	12
CONCLUSION - - - - -	15
SUGERENCIAS - - - - -	17
FOTOGRAFIAS Y GRAFICAS - - - - -	18
BIBLIOGRAFIA - - - - -	24

INTRODUCCION:

Es preocupación constante de la ganadería actual, los problemas que afectan en alguna forma el máximo aprovechamiento - de la misma, elevando los costos de producción con la consiguiente reducción de las utilidades.

La rinotraqueitis viral bovina no es por lo general - una enfermedad espectacular en ninguna de sus formas pero si el - tipo de afección que reduce las ganancias de la explotación, por las alteraciones que causa tales como un bajo promedio en el aumento de peso o una disminución en la producción láctea en el ganado bovino, así como el aborto en las vacas.

La enfermedad no es de reciente descubrimiento, era - ya conocida en Europa desde 1910 y se le nombraba vulvovaginitis pustular infecciosa, y por mucho tiempo se le consideró como una entidad patológica distinta a la rinotraqueitis viral bovina, hasta que se aisló e identificó el mismo agente etiológico en las - dos afecciones. (1)

En América fué reconocida esta infección viral en ganado bovino de engorda en el Estado de Colorado, E.U.A. La presentación del brote en el año de 1950 fué esporádico, pero en - 1951 la rinotraqueitis ya era de carácter epizootiológico, siendo el Dr. J. K. Hester (2), el primero en investigar la enfermedad - en la Universidad de ese Estado. En la misma época se empezó - también a investigar la rinotraqueitis viral bovina en la Universidad de Davis en el Estado de California, E. U. A. destacando - los estudios elaborados por el Dr. Mc. Kercher (3) sobre el - particular. La primera información publicada contenía la observación de graves pérdidas económicas por disminución en la producción de leche en el ganado bovino de California.

Posteriormente se han venido aislando casos en distintas regiones de los Estados Unidos y Canadá.

En México esta infección tiene un diagnóstico reciente. Los primeros reportes de los que se tuvo conocimiento fueron los realizados por Esparza en 1970 y Ramos en 1971 (4), sin que en ninguno de los casos se pudiera comprobar si realmente se trataba de rinotraqueitis viral bovina.

Los doctores Ruiz y Cuevas (5), reportaron en el año de 1971, un brote de abortos en el país que mediante los análisis por histopatología y por inmunofluorescencia diagnosticaron como rinotraqueitis viral bovina.

El primer aislamiento y cultivo del virus causal en México, fué realizado por el Dr. Mario Martell y colaboradores (6), en casos ocurridos en Atzacapotzalco en Noviembre de 1971 y en Puebla en Mayo de 1972, quedando plenamente demostrada la presencia de la rinotraqueitis viral bovina en el país.

En la actualidad se han venido registrando brotes en diferentes Estados de la República por lo que se infiere un aumento en la incidencia del problema.

La rinotraqueitis viral bovina tiene como factor etiológico a un virus perteneciente al grupo Herpes (7), de tamaño relativamente grande, siendo su envoltura de un diámetro de 120 a 180 nanómetros, de simetría cúbica y formado por DNA.

Este virus es sensible al éter, alcohol etílico y acetona. Se inactiva en medio minuto en la solución al 0.5 % de soda caústica, en solución de formol al 5 % en un minuto y en solución al 1 % de fenol, o de 1 % de amonio cuaternario en cinco minutos. Si se calienta a 50° C pierde su actividad en veintidós minutos.

Mantiene su viabilidad durante 50 días a 22° C; a 37° C se conserva por 10 días y si se mantiene a -60° C este permanece viable durante 9 meses. El pH óptimo para su estabilidad fluctúa entre 6 y 9.

El virus se puede aislar del feto; de las secreciones nasales y conjuntivales; del encéfalo, de los genitales (8) y del semen (9) de los animales infectados. El virus forma en las células de riñón bovino, porcino, ovino, caprino, de mono y en línea celular estable (10), placas y cuerpos de inclusión intranucleares. Solo se conoce una forma de antígeno viral.

Se propaga principalmente a través de aerosoles infecciosos que arrojan los animales enfermos en los accesos de tos, la respiración violenta y las descargas nasales (11).

Los signos (12) que presenta la rinotraqueitis viral bovina, empiezan con fiebre que varía de 40° a 42° C , persistiendo dentro de este rango durante varios días. Hay anorexia y se producen descargas nasales sero-mucosas, mucopurulentas y aún hemorrágicas. La dificultad respiratoria es evidente, los alveolos se encuentran dilatados, la respiración es por la boca, hay - disnea respiratoria y tos.

A medida que la enfermedad prospera, los animales manifiestan el cuello estirado, la respiración que es corta y frecuente se agudiza al forzar al animal a correr o a hacer movimientos violentos.

Se produce una descamación del morro que se torna de un color rojo; de ahí que también se le llame a esta infección como "Enfermedad de la Nariz Roja", se producen úlceras y congestión de la mucosa nasal y hay una salivación abundante.

El curso de la enfermedad en la mayoría de los casos es de siete a diez días siempre y cuando no se presenten infecciones secundarias. El animal vuelve a su temperatura normal y se recupera en un período de cuatro a ocho semanas aunque un 10 % del hato tarda más en recuperarse (1).

Los bovinos que han padecido de esta infección quedan como portadores del virus durante algún tiempo.

Además de los signos respiratorios, el ganado bovino afectado puede manifestar las siguientes condiciones patológicas: vulvovaginitis pustular, epididimitis, balanitis y balanopostitis (13), aborto (3), conjuntivitis (8), encefalitis (8), así como también casos de enteritis según investigaciones reportadas por la Universidad del Estado de Iowa (15).

Los signos respiratorios y la conjuntivitis (fig. 1) comúnmente ocurren en forma simultánea; el aborto puede ser la única manifestación de la enfermedad o puede ser la secuela de la infección clínica o subclínica del tracto respiratorio superior - de la madre.

Las manifestaciones de la rinotraqueitis viral bovina en su presentación como vulvovaginitis pustular infecciosa (1), pueden aparecer 24 a 48 horas después del coito con un toro infectado. Hay congestión de la mucosa de la vulva que adquiere una

coloración rojiza y se forman pequeñas vesículas de un diámetro - aproximado de 0.1 a 5.0 mm. que contienen un líquido claro o amarillo rojizo, en su interior (Fig. 2). Los toros afectados - presentan lesiones similares en el pene y prepucio. Salvo de su frir complicaciones secundarias los animales se recuperan en un - período de 2 semanas.

Los abortos pueden ocurrir en cualquier estadio de la gestación (16), siendo crítico por pasar muchas veces desapercibido y es debido a la muerte del feto en el útero 24 a 72 horas - antes de ser expelido.

Las lesiones halladas a la necropsia están limitadas generalmente a los pasajes nasales, senos, tráquea y bronquios.

La mucosa nasal se halla congestionada, edematosa y - con exudado mucopurulento espeso, la pared de los senos paranasales está congestionada y cubierta con exudado. (Fig. 3) La mucosa traqueal se encuentra también congestionada. Un edema severo se extiende desde la pared de la tráquea hasta la pared del bronquio mayor, provocando estenosis del sistema respiratorio superior. Se forman columnas de células estratificadas y escamosas, hay migración de neutrofilos, necrosis focal de la tráquea y células mononucleares en su mucosa. Los bronquios y bronquiolos están ocluidos por exudado mucopurulento (1, 8)

En los fetos hay una inflamación granulomatosa en todas las vísceras, con necrosis focales e hiperplasia, infiltración de mononucleares, edema en pulmón y ascitis (17), (Fig. 4).

No hay terapéutica específica para su tratamiento. - La administración de antibióticos tiene como fin controlar las infecciones bacterianas secundarias.

Su prevención se lleva a cabo con la aplicación de vacunas que confieren una buena inmunidad, éstas pueden ser de virus vivo modificado o de virus inactivado producidas en cultivos de tejidos. La vía de inoculación dependiendo de su presentación puede ser intramuscular o intranasal.

La presentación intramuscular del virus vivo no deberá aplicarse a vacas gestantes por existir el peligro de provocar aborto. En la intranasal no hay el peligro de provocar esa reacción.

En México existe una vacuna de virus vivo en el mercado, de aplicación intramuscular.

En la actualidad se conoce aproximadamente la prevalencia de la rinotraqueitis viral bovina en diversos Estados de la República, pero es también necesario que se conozca su incidencia a fin de poder establecer su variación estacional por meses.

El presente trabajo tiene por objeto el estudio de una técnica rápida y segura como es la inmunofluorescencia, a fin de proporcionar un pronto diagnóstico para poder conocer dicha incidencia y para elaborar un programa preventivo con el cuál es posible contribuir a disminuir la rinotraqueitis viral bovina en nuestro país.

MATERIAL Y METODOS:

Se tomaron muestras de un total de 220 bovinos de ambos sexos e indistintas edades pertenecientes a establos y corrales de engorda de la periferia del Distrito Federal, Estado de México, Querétaro, Chihuahua, Campeche y Yucatán (Fig. 5), en los que se sospechaba la presencia del virus productor de la rinotraqueitis viral bovina por haberse suscitado en dichas explotaciones, problemas de abortos y afecciones de tipo respiratorios.

Las muestras empleadas se obtuvieron de exudados nasal o vaginal indistintamente. En algunos de los casos se realizó biopsias de tráquea y se trabajó también con fetos abortados.

Los exudados fueron colectados en hisopos estériles y conservados en solución de Hank (Difco) a la que se le agregó 5 - U.I. de penicilina, 5 mg. de estreptomicina y 1 mg. de nistatina por ml. de solución y se ajustó a un pH 7.2 a 7.4. Las muestras se mantuvieron en congelación a -40° C.

Una vez realizado el muestreo se procedió a su análisis mediante la técnica de inmunofluorescencia en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia U.N.A.M.

El conjugado utilizado (anticuerpos específicos marcados con isotiocianato de fluoresceína), fué proporcionado por los Laboratorios Norden de México. Este conjugado liofilizado se reconstituyó con un ml. de agua destilada y se diluyó 1:8 en solución salina fosfatada buferada, manteniéndose en congelación a -20° C.

La solución salina fosfatada buferada se preparó de acuerdo a la siguiente fórmula:

Ca Cl ₂ - - - - -	100 mg. / L.
K Cl - - - - -	200 mg. / L.
KH ₂ PO ₄ - - - - -	200 mg. / L.
Mg Cl ₂ . 6 H ₂ O - - - - -	100 mg. / L.

Na Cl - - - - - 8,000 mg. / L.

Na₂ HPO₄ - - - - - 1,150 mg. / L.

El procedimiento que se siguió para la integración -
del diagnóstico fué el siguiente:

- a) De las muestras problema se hicieron frotis en porta-objetos y se lavaron una vez en solución salina fosfatada buferada.
- b) Se fijaron los frotis en acetona a temperatura ambiente por 10 minutos y se dejaron secar durante veinte minutos.
- c) Se cubrieron con el conjugado diluido 1:8 - incubándose en la cámara de humedad por 20 minutos.
- d) Pasado el tiempo de incubación los portaobjetos se lavaron en solución salina fosfatada buferada por 5 minutos.
- e) Nuevamente se lavaron los frotis, esta vez con agua destilada por cinco minutos dejándose luego secar perfectamente.
- f) Utilizando una solución compuesta por nueve partes de glicerina y una de solución salina fosfatada buferada los frotis se montaron - bajo cubre-objetos.

Realizado el procedimiento anterior se siguió a la observación en el microscopio de fluorescencia, utilizando para ello un microscopio de la marca Carl Zeiss, una fuente de luz mercurial, condensador de campo oscuro con apertura de 0.8, filtro - excitante BG 12 y filtro protector K 530.

Como control positivo se utilizó el virus vacunal - (Rhinovac - Norden), al que se le hizo frotis y se le siguió el mismo procedimiento que las muestras

De siete animales positivos a inmunofluorescencia se procedió a recuperar el virus causal en cultivo de tejidos mediante el procedimiento siguiente: (6) se removió el sobrenadante -

del cultivo celular (células de riñón bovino) inoculándose 0.10 ml. a cada cultivo con el exudado nasal que se mantuvo para su - conservación en medio de Hark (Difco) con antibióticos y en congelación.

Después de haber realizado la inoculación, las células se incubaron a 37° C por una hora, luego se lavaron con solución de Hark y se les agregó el medio de crecimiento Halls (Difco). Un monoestrato de células no inoculado se incluyó como - testigo. Una vez hecho lo anterior los cultivos se reincubaron a 37° C y se les observó diariamente.

Cuando los efectos citopatogénicos fueron evidentes - se extrajo el fluido extracelular al que se le hizo análisis bacteriológico. El fluido se mantuvo en congelación hasta que se - le utilizó para inocular tubos de Leighton que contenían dentro - cubre-objetos con los monoestratos celulares. De nuevo un cultivo no inoculado se dejó como testigo. Los tubos se incubaron a 37° C durante dos días.

Transcurrido el tiempo los cubre-objetos que contenían los monoestratos celulares fueron removidos y se les sometió a la técnica de inmunofluorescencia. Todos los casos trabajados a excepción de los controles no inoculados mostraron fluorescencia citoplásmica de color verde. (Fig. 6)

Una tercera prueba, la de virus neutralización en cultivo de tejidos fue incluida en este estudio a fin de hacerlo más completo. Los sueros utilizados provenían de bovinos positivos a inmunofluorescencia y se siguió la técnica descrita por E. A. - Carbery (18) quien utiliza el método Beta el cual el virus inoculado se mantiene constante siendo el suero el que se diluye.

Se trabajó un total de 8 muestras de suero de igual número de bovinos. Los sueros fueron inactivados a 56° C por - 30 minutos.

Como antígeno se usó una cepa vacunal del virus de la rinotraqueitis viral bovina, estando a una concentración de 100 a 1000 DL₅₀ por 0.1 ml.

El suero se diluyó de la siguiente manera: se tomó - una serie de tubos estériles y se puso un ml. de solución de - Halls en el primero y 1.5 ml. en los siguientes. Con una pipeta se le adicionó 1.0 ml. del suero al primer tubo, descartándose es ta pipeta. Con otra pipeta estéril se transfirió 0.5 ml. del - primero al segundo, repitiéndose esta operación con los siguien tes de la serie, tomando cada vez una pipeta estéril nueva. Al final se deshecharon 0.5 ml. del último tubo para mantener la mis ma cantidad de 1.5 ml. en cada uno.

Las diluciones utilizadas fueron las siguientes: 1:4, 1:16, 1:64, 1:256, a las que se le agregó 1.5 ml. de la concentra ción del virus incubándose a 37° C por 30 minutos.

Después de haberse incubado, se tomó 0.2 ml. de cada uno de los cultivos para inocularse los tubos de Leighton que con tenían los monoestratos de tejido celular de riñón bovino prepara dos previamente para la prueba.

Una serie de tubos fueron trabajados con suero de bo- vino no infectado con rinotraqueitis viral bovina e igual concentra ción del antígeno que los sueros problema, para establecer el testigo negativo y otra serie que contenían suero de animal no in fectado, no se les inoculó el virus a fin de no producir el efec to citopatogénico.

Ya realizada la inoculación, los cultivos se guarda- ron a 37° C , observándose diariamente el efecto citopatogénico - del virus en las células, apareciendo los primeros efectos entre el segundo y tercer día. La prueba se leyó al cuarto día de su inoculación.

El cultivo celular y los reactivos empleados en estas dos últimas pruebas fué proporcionado por los Laboratorios Norden de México.

RESULTADOS:

Los resultados obtenidos en las pruebas de inmunofluorescencia fueron los siguientes:

PROCEDENCIA	CANTIDAD DE MUESTRAS	No. DE POSITIVAS	PORCENTAJE
Edo. de México	80	29	36.25
Distrito Federal	60	22	30.6
Querétaro	40	12	30.0
Chihuahua	4	4	100.0
Campeche	16	0	0
Yucatán	20	0	0
T O T A L	220	67	30.45

Gráficas 1 y 2

Las muestras positivas presentaron fluorescencia citoplásmica de color verde.

En la prueba de recuperación del agente etiológico se logró el aislamiento del virus en los siete casos trabajados. - Estos fueron sometidos nuevamente a inmunofluorescencia después de un segundo pasaje en cultivo celular obteniéndose todos positivos (figs. 6 y 7). Respecto al análisis bacteriológico del fluido extracelular, este resultó negativo a crecimiento de colonias

MUESTRAS	E C P		INMUNOFLUORESCENCIA
	1er. Pase	2º Pase	(2º Pase)
1.-	Positivo	Positivo	Positivo
2.-	Positivo	Positivo	Positivo
3.-	Positivo	Positivo	Positivo
4.-	Positivo	Positivo	Positivo
5.-	Positivo	Positivo	Positivo
6.-	Positivo	Positivo	Positivo
7.-	Positivo	Positivo	Positivo

Testigo no inoculado con el virus: negativo.

Para la prueba de virus neutralización en cultivo de tejidos se obtuvieron los siguientes resultados:

MUESTRAS No.	<u>DILUCIONES DE LOS SUEROS:</u>			
	<u>1:4</u>	<u>1:16</u>	<u>1:64</u>	<u>1:256</u>
1.-	<u>Positivo</u>	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo
2.-	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo	Negativo
3.-	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo	Negativo
4.-	<u>Positivo</u>	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo
5.-	<u>Positivo</u>	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo
6.-	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo	Negativo
7.-	<u>Positivo</u>	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo
8.-	<u>Positivo</u>	<u>Positivo</u>	Negativo	Negativo

Testigo A'	ECP	ECP	ECP	ECP
Testigo B'	IECP	IECP	IECP	IECP

ECP: Efecto Citopatogénico (fig. B).

IECP: Inhibición del Efecto Citopatogénico.

Testigo A: Suero de bovino no infectado con rinotraqueitis más el antígeno viral.

Testigo B: Suero de bovino no infectado con rinotraqueitis viral bovina sin inocularse el antígeno.

DISCUSION:

La técnica de inmunofluorescencia para el diagnóstico de la rinitis viral bovina fué ampliamente probada y complementada con otras pruebas como son la de virus recuperación y virus neutralización en cultivo de tejidos, obteniéndose resultados satisfactorios.

En la prueba de virus recuperación se logró el aislamiento del virus causal de esta enfermedad en cultivo de células de riñón bovino a partir de hisopos que contenían exudado nasal de bovinos que se presumían infectados con la rinitis viral bovina y que, mediante la técnica de inmunofluorescencia habían resultado ser reactores positivos. En todos los casos trabajados en esta prueba se logró la recuperación del agente viral y después de haberse sometido este virus a un segundo pasaje en el cultivo celular éste fué nuevamente analizado por inmunofluorescencia tras producirse el efecto citopatogénico en las células resultando el 100 % positivos a ésta.

Respecto a la prueba de virus neutralización en cultivo de tejidos los resultados obtenidos fueron 100 % positivos al lograrse en todas las muestras analizadas la inhibición del efecto citopatogénico del virus por la presencia de anticuerpos específicos en el suero de los animales trabajados. Estos bovinos también fueron sometidos previamente a la inmunofluorescencia habiendo salido positivos. Esta prueba se interpreta de la siguiente manera: un título positivo 1:4 o más alto se considera que el animal ha tenido contacto con el antígeno, ya sea por padecimiento de la enfermedad; mediante la vacuna, o por la ingestión del calostro de una vaca infestada (18).

Estas pruebas de virus neutralización así como la de recuperación del agente viral en cultivo de tejidos, son las pruebas que han establecido los principales Institutos que realizan investigaciones de esta enfermedad como son la Universidad de Davis en California, E. U. (3) y la del Estado de Colorado, E.U. (2). En México estas técnicas fueron aplicadas por Martell y colaboradores (6) cuando aisló e identificó este virus.

Cabe señalar que en México, Correa (33) ha estado elaborando otra técnica más para el diagnóstico de la rinitis viral bovina a base de una intradermo reacción al antígeno viral pero aún no se tienen los resultados finales de esta investigación.

Los métodos para la realización de las pruebas de virus neutralización y de recuperación del virus, utilizados en este estudio fueron llevados a cabo siguiendo exactamente los pasos que describe Cartrey (18, 20) y que son los mismos que ha adoptado el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos para diagnóstico de esta enfermedad en dicho país.

En el presente trabajo, la utilización de la inmunofluorescencia en el diagnóstico de la rinotraqueitis tiene como principal función desarrollar un rápido y veraz resultado que además es económicamente más barato, pero no por eso se quiere decir que sea la prueba de laboratorio más completa pues lo ideal es siempre recuperar el virus del animal infectado, reproducir su efecto citopatogénico en varios pasajes en cultivo de tejidos y por último someterlo a inmunofluorescencia para tener la certeza que se trata del agente etiológico sospechado. Procedimiento que dura varios días realizarlo, requiriéndose para ello de material y equipo especializados que son de costos elevados así como de personal capacitado para ello.

Resulta pues, comparativamente igual al procedimiento realizado en el diagnóstico de la rabia en el cuál la inmunofluorescencia es la técnica que ha demostrado ser la más eficaz debido a que por ser esta afección un problema de salud pública se precisa de un diagnóstico rápido pero al mismo tiempo cien por ciento confiable. La inmunofluorescencia reúne estas condiciones, pero eso no quiere decir que sea la técnica más completa, pero recuperar el virus y someterlo a otras pruebas como las biológicas (inoculación de animales de laboratorio) que sería lo ideal haría más tardado el proceso retrasando así los resultados finales.

Las respuestas obtenidas a través de las pruebas de virus neutralización y de recuperación del antígeno nos indican que la técnica de inmunofluorescencia que se expone en la presente tesis es un valioso auxiliar con que el Médico Veterinario puede contar para el diagnóstico de la rinotraqueitis viral bovina, pues si bien se obtuvo un 30.45 % de casos positivos con respecto al total de las muestras trabajadas, debe tomarse en cuenta que se hizo este estudio en base a animales sospechosos, pero que otras afecciones pueden dar cuadros semejantes como son la fiebre de embarque, brucelosis, vibriosis, etc.. Pero muy importantes

son los resultados obtenidos en las dos pruebas complementarias - que le confieren a la técnica de inmunofluorescencia el cien por ciento de confiabilidad.

Lo que no se pudo establecer en esta investigación es que si las respuestas positivas en los resultados obtenidos eran debidas a que los animales eran portadores del virus causal de la enfermedad o que se trataba del virus vacunal quedando este aspecto delimitado por el historial clínico del animal o de la explotación en sí.

Por lo que respecta a este trabajo no en todos los - animales se sabía si habían sido vacunados, pero en la mayoría de las explotaciones visitadas los propietarios manifestaron no haber aplicado la vacuna nunca.

Se integró el diagnóstico final comprobándose que los casos de abortos, la baja de la ganancia de peso, así como la disminución en la producción de leche, en las explotaciones visitadas eran debidas a la rinotraqueitis viral bovina, confirmándose el diagnóstico presuntivo, solo en los casos trabajados en los - ranchos de Campeche y Yucatán en los que se habían suscitado un - elevado porcentaje de abortos, resultaron ser negativos a rinotraqueitis, diagnosticándose posteriormente brucelosis como factor - etiológico de tales abortos, según los reportes elaborados por la Campaña contra la Brucelosis de la Secretaría de Agricultura y Ganadería.

Por último se recomendó a las explotaciones en las - que se hallaron casos positivos a la rinotraqueitis viral bovina, se prosiguiera a llevar un programa de prevención, mediante el empleo de la vacunación, haciendo la aclaración que la vacuna intramuscular como la que existe en nuestro país no deberá usarse en - vacas que estén gestantes por el peligro de aborto como reacción secundaria.

A los animales enfermos clínicamente se les instituyó un tratamiento paliativo a base, principalmente de antibióticos - con el fin de evitar las complicaciones infecciosas secundarias.

CONCLUSION:

De la discusión de los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- 1) Se demostró la presencia del virus de la rino-traqueitis viral bovina en las muestras trabajadas, suponiéndose por consiguiente que esta afección viral se encuentra ampliamente difundida en el País.
- 2) No fué posible establecer en ese estudio si las respuestas positivas en las muestras trabajadas eran debidas al virus de campo o si se trataba del virus vacunal.
- 3) Se comprobó que la rinotraqueitis viral bovina afecta a bovinos de cualquier edad y de ambos sexos.
- 4) El porcentaje de animales positivos respecto al número total de muestras analizadas fué del 30.45 %.
- 5) Los resultados de las pruebas de virus recuperación y virus neutralización en cultivo de tejidos fueron de un 100 % de los casos trabajados.
- 6) La técnica de inmunofluorescencia es una técnica de fácil realización según se demostró en esta investigación.
- 7) El tiempo requerido para la elaboración de la prueba e integración del diagnóstico es bastante corto.
- 8) La inmunofluorescencia demostró ser una técnica de mucha confiabilidad, como se puso de manifiesto al ser comprobada mediante las pruebas de virus recuperación y virus neutralización en cultivo de tejidos, pruebas que son de bastante precisión en el campo de la virología.

- 9) Con esta prueba se pueden delimitar las regiones en que existe el problema a fin de conocer su prevalencia, incidencia y variación estacional.
- 10) Al obtenerse un diagnóstico temprano se puede llevar a cabo un pronto programa de prevención y control, mediante la vacunación o eliminación de portadores, contribuyendo así a la disminución del problema en México.

SUGERENCIAS:

Cabe mencionar como complemento a este estudio, que puesto que los Laboratorios de Diagnóstico de Patología Animal dependientes de la Dirección General de Sanidad Animal, de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, cuentan muchos de ellos con equipos de microscopía de fluorescencia que emplean para establecer sus diagnósticos de rabia, se les complemente con la técnica y los reactivos necesarios para incluir dentro de sus servicios los análisis para la detección de la rinotraqueitis viral bovina, lo que sería de vital importancia para la detección y localización temprana de brotes, así como el establecimiento de su control, lo que es necesario para disminuir su incidencia.



Fig. 1.- Conjuntivitis producida por el virus de la rinotraqueitis viral bovina.



Fig. 2.- Vulvovaginitis pustular infecciosa.

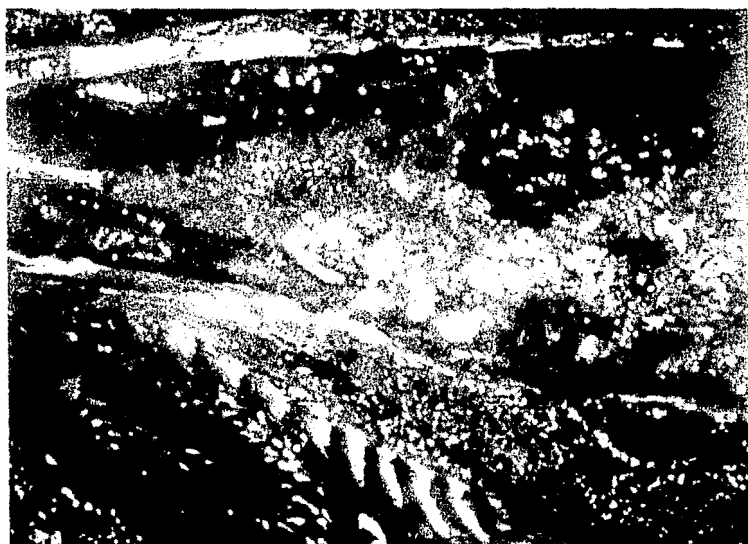


Fig. 3.- Lesiones en cornetes nasales de un bovino adulto -
afectado.

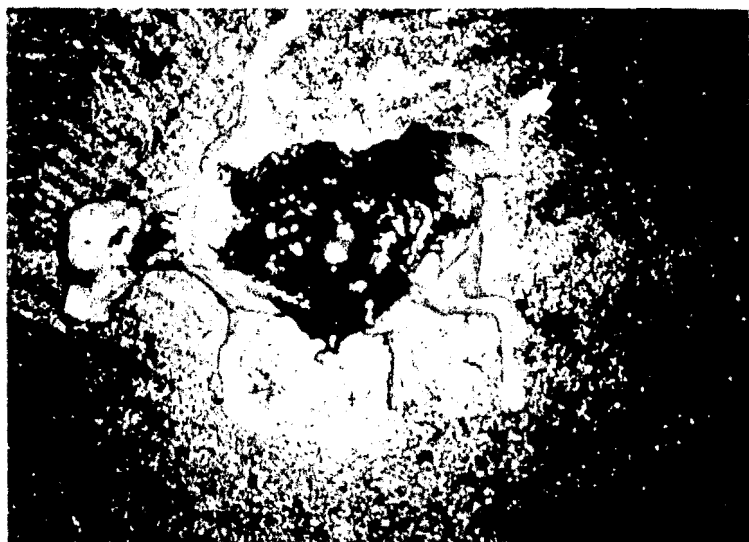
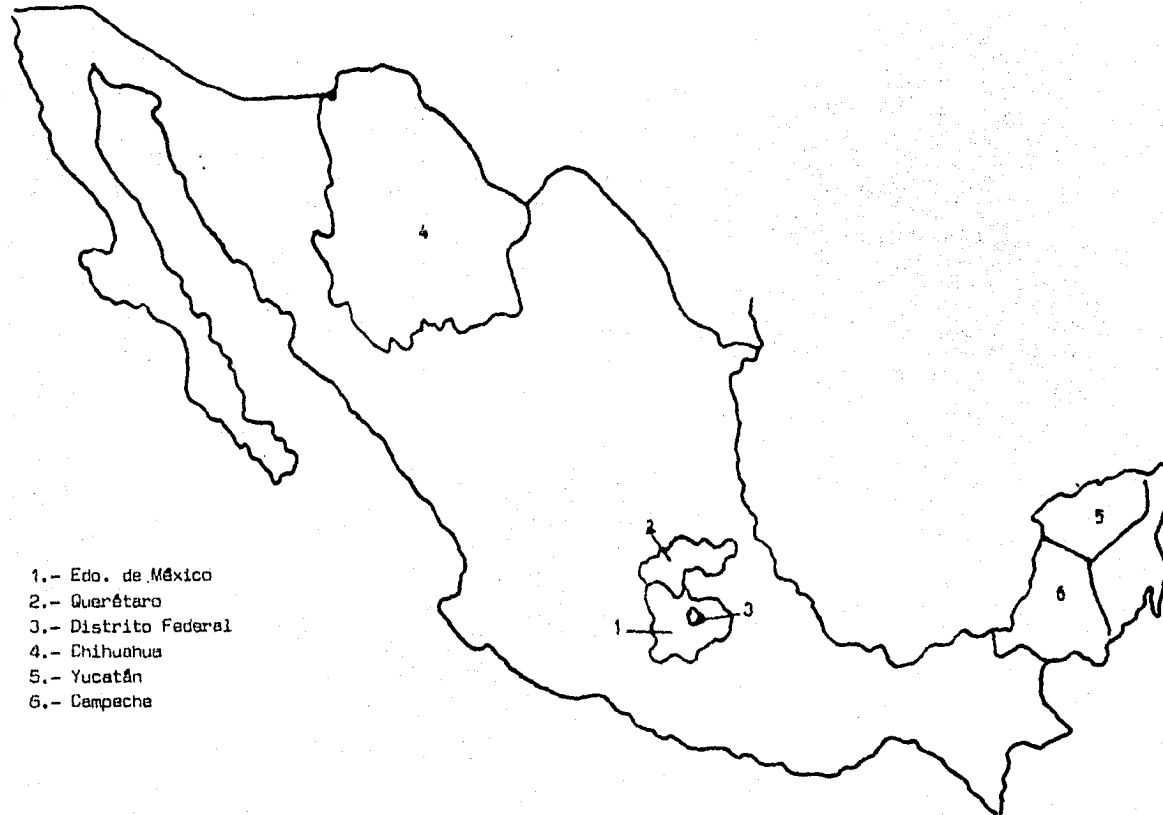
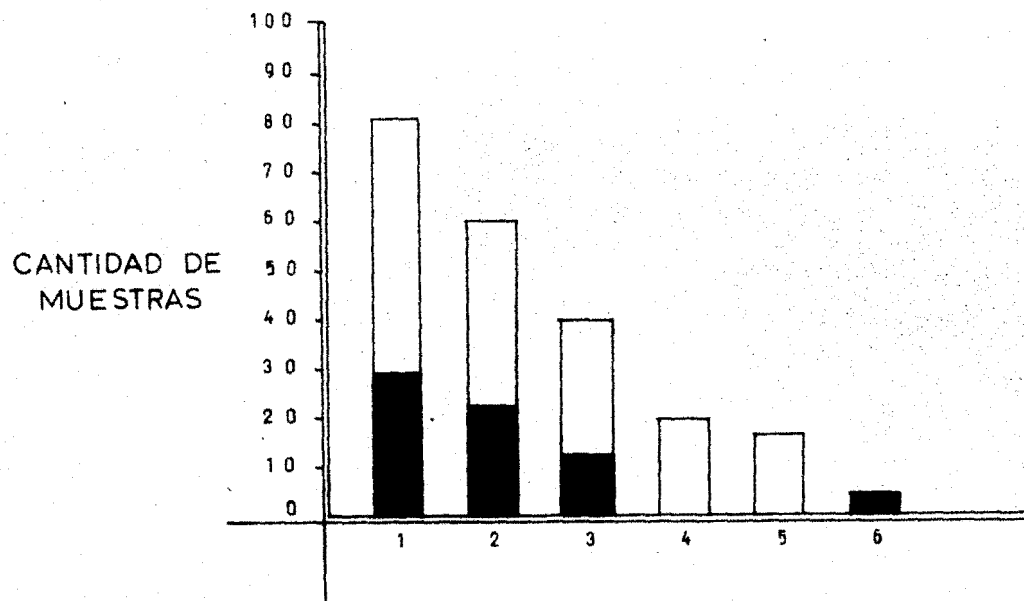


Fig. 4.- Lesiones en vísceras de un feto abortado.

ESTADOS DE LA REPUBLICA DONDE SE REALIZO EL MUESTREO.





Nº DE MUESTRAS	80	60	40	20	16	4
Nº POSITIVAS	29	22	12	0	0	4
PORCENTAJE	36.25	30.6	30.0	0	0	100

PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS

1- EDO. DE MEXICO
2- DISTRITO FEDERAL
3- QUERETARO

4- YUCATAN
5- CAMPECHE
6- CHIHUAHUA

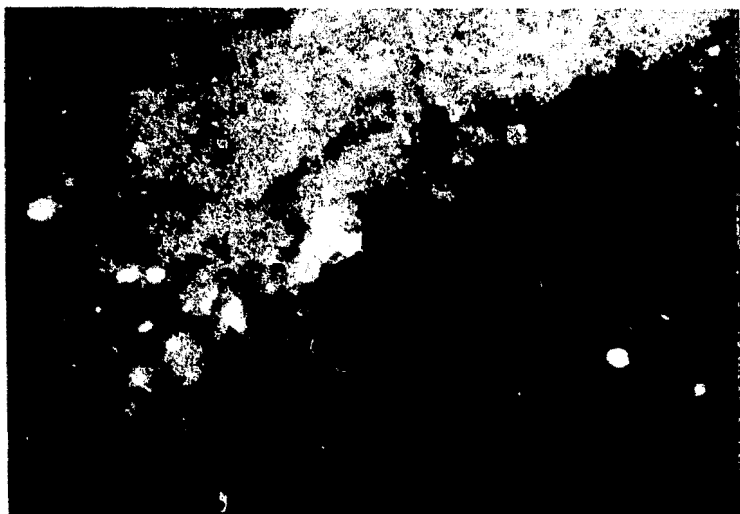


Fig. 6.- Inmunofluorescencia positiva a rinotraqueitis viral bovina de una muestra de exudado nasal.

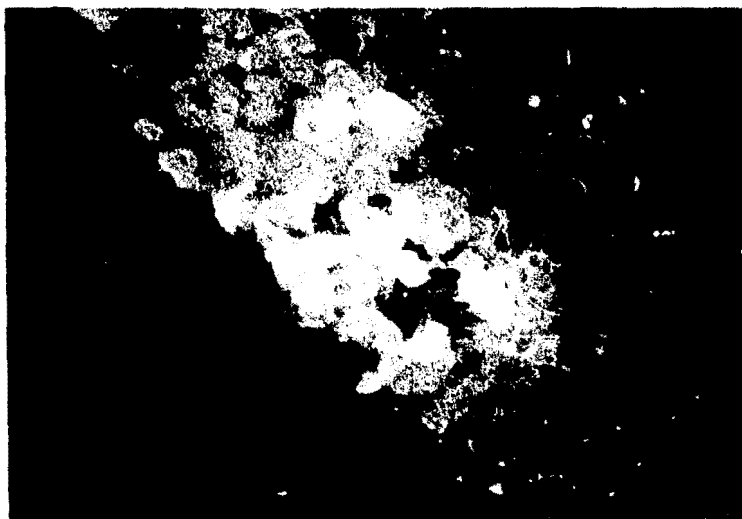


Fig. 7.- Inmunofluorescencia positiva a rinotraqueitis viral bovina, virus de campo recuperado en cultivo de tejidos (células de riñón bovino).

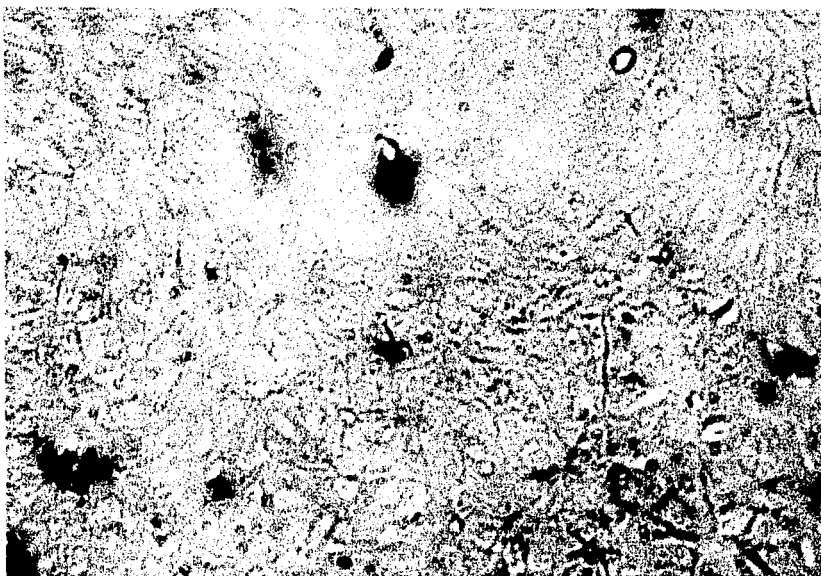


Fig. 8.- Efecto citopatogénico del virus de la rinotraqueitis viral bovina en cultivo de tejidos (células de riñón bovino).

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

- 1.- Kendrick J. W.; Gillespie, J. H. and Mc. Entee K. Infectious Pustular Vulvovaginitis of Cattle. New York State Veterinary College. July 1958.
- 2.- Miller, N. J.; Infectious Necrotic Rhinotracheitis of Cattle. JAVMA. 463-467. June 1955
- 3.- Mc Kercher, D. G., The virus of infectious bovine rhinotracheitis as a cause of abortion in cattle. J.A.V.M.A. - - - 144:136-142. 1964
- 4.- Landeros, F., Diagnóstico de Rinotraqueitis Viral Bovina en el Estado de Chihuahua. Lab. Reg. de Diagnóstico de Patología Animal. 1972.
- 5.- Ruiz, D. R.; Cuevas, C. F., Rinotraqueitis infecciosa bovina causa de abortión en México. Técnica Pecuaria de México - 15-16:51-52. 1971
- 6.- Martell, M., Soto, L., Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus isolated from two epizootic in Mexican dairy cattle. Veterinary Medicina Small Animal Clinician. 1045-1049, August 1974.
- 7.- Mc Kercher, D. G. Studies of etiologic agents of infectious bovine rhinotracheitis and Blaschenausschag (coital vesicular exanthema). Amer, J. Vet. Res., 24:501. 1963.
- 8.- Curtis, R. A., Dreumel, A. A.; Ditchfield, J. Infectious - Bovine Rhinotracheitis. Clinical, Pathological and Virological aspects Can. Vet. Jour. 7:161-168. August 1966.
- 9.- Spradbrow, P. B., The isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from bovine semen. Aust. Vet. J. 44:410-
- 10.- Development of Bovine Established Cell line, Key to improved IBR/pl-3 Vaccine. Norden News 44:10-14.
- 11.- Brown, A. L. The relation of Nasal Discharge to infectious - With Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. Amer. J. Vet Res. 20:985-988. Nov. 1959.

- 12.- Shroyer, E. L. and B. C. Easterday. Studies on the pathogenesis of infectious bovine rhinotracheitis following exposure. Dep. of Veterinary Science, University of Wisconsin Madison, Wisconsin. 26, Jun. 1967.
- 13.- Kaminjolo, J. S.; Nyaga, P. N.; Omuse, J. K.; Mutiga, E. R., Infectious Bovine Rhinotracheitis - Infectious Pastular Vulva vaginitis, Viral Isolates from cattle with Epididymitis and - Vaginitis. Am. J. Vet. Res. 36:123-125. Jan. 1975
- 14.- Wohlgenuth, K. and Kirkbride, C. A. Aborto en ganado bovino causado por el herpesvirus bovis (IBR). Traducción. Revista de Medicina Veterinaria 53:61-63. Ene. - Feb. 1972.
- 15.- Gratzek, J. B.; Jenkins, R. A.; Chennakatu, P. P.; Ramsey, F. K.. Isolation and Characterization of a Strain of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Associated with Enteritis in cattle: Comparative Developmental Study by fluorescent Antibody tracing and Electron Microscopy. Am. J. Vet. Res. - - - 27:1573-1582. Nov. 1966.
- 16.- Chow, T. L.; Molello, J. A.; Owen, H. V. Abortion experimentally induced in cattle by IBR. Virus. J. A. V. M. A. - - 144:1005-1006. May 1964.
- 17.- Van Kruiningen, C. D., and Bartholomew, R. C. Infectious Bovine Rhinotracheitis diagnosed by lesions in a calf. J.A.V.M.A. A., 144:1008-1012. 1964.
- 18.- Cartrey, E. A. and Lee, L. R. Serum neutralization test for bovine viral diarrhea virus and infectious bovine rhinotracheitis virus employing established tissue culture cells lines. Agricultural research service. United States Department of Agriculture.
- 19.- Chennakatu, P. P., Gratzek, J. B., Ramsey, F. K., Isolation and Characterization of a Strain of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Associated with Enteritis in Cattle: Pathogenesis Studies by fluorescent antibody tracing J.A.V.M.A. - 1583-1589. Nov. 1966.
- 20.- Cartrey, E. A., Recommended Standard Laboratory Techniques - for Diagnosing Infectious Bovine Rhinotracheitis, Bovine Virus Diarrhea and Shipping Fever (Parainfluenza-3). Agricultural research service. United States Department of Agriculture.

- 21.- Brown, A. L., Comment on Infectious Bovine Rhinotracheitis, Immunization. J.A.V.M.A. 152:856-857. Mar. 1968.
- 22.- Instructivo para la utilización del conjugado para diagnóstico de la Rinotraqueitis Viral Bovina.
- 23.- Gillespie, J. H.; Lee, K. M. and Baker, J. A. Infectious Bovine Rhinotracheitis Aj. Vr. 18:530. 1957.
- 24.- Cabasso, V. J.; Brown, R. G. Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR). Lack of contact transmission following intramuscular. Inoculation. Veterinary Medicine 53:503-506. 1958.
- 25.- Jasty, V.; Chang, P. Effects of Hidroxyurea on replication of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. AM. J. Vet.Res. 31:1943-1949. Nov. 1970.
- 26.- Zuschek, F.; Chow, T. L., immunogenicity of 2 Infectious Bovine Rhinotracheitis Vaccines. J.A.V.M.A. 139: 236-237. - - July 1961.
- 27.- Kendrick, J. W.; Placental reaction to the infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis virus. Am. J. Vet. Res. 32:1045-1052. 1971.
- 28.- Todd, J. D. and Paton, I. M. Intranasal vaccination against infectious bovine rhinotracheitis: studies on early onset - of protection and use of the vaccine in pregnant cows. J.A.V.M.A. 159:1370-1382. 1971.
- 29.- Carbrey, E. A., and Steward, W. C. Application of recommended fluorescent antibody techniques for viral diseases in veterinary diagnostic laboratories. Agricultural research service. United States Department of Agriculture.
- 30.- Infectious Bovine Rhinotracheitis, a Newly Recognized virus disease of cattle Mc Kercher, D. G., Moulton, J. E.; Madin, S. H.; Kendrick, J. W.; Amer. J. Vet. Res. Vol.18:246-256. 1957.
- 31.- Baker, J. A.; Mc Entee, K.; Gillespie, J. H., effects of infectious bovine rhinotracheitis - infectious pustular vulvovaginitis virus on Newborn Calves Cornell Veterinarian. - Vol. 50. April 1969.

- 32.- Fernelius, A. C.; Ritchie, A. E., Mixed infection or contamination of bovine viral diarrhea virus with infectious bovine rhinotracheitis virus. Am. J. Vet. Res. 27 No. 116. January 1966.
- 33.- Shope Jr., R. E., Bovine Virus Diarrhea: Infectious Bovine - Rhinotracheitis Complex. Dep. of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine University of Minnesota. Jour of Dairy Science. 53:619-621.

UN SINCERO AGRADECIMIENTO AL M.V.Z.
ARTURO MEDINA FIGUERES, A NORDEN DE
MEXICO Y AL M.V.Z. JOSE A. BARAJAS
ROJAS, POR LA VALIOSA AYUDA Y ASESO
RAMIENTO PRESTADO PARA LA REALIZA
CION DE LA PRESENTE TESIS.
