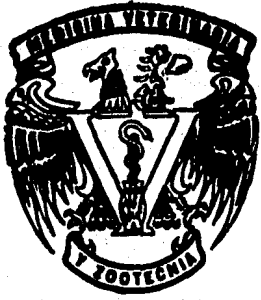


Ref: 143



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“ NIVELES DE INMUNOGLOBULINAS EN ANIMALES
VACUNADOS O CON RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA
BOVINA ”**

TESIS DE LICENCIATURA

**Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

p r e s e n t a

ERNESTO LIZARRAGA CELAYA

ASESOR: RAYMUNDO ITURBE RAMIREZ

México, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INDICE

| | |
|--------------------------------|----|
| I./ RESUMEN | 1 |
| II./ INTRODUCCION | 2 |
| III./ MATERIAL Y METODOS | 5 |
| IV./ RESULTADOS | 8 |
| V./ DISCUSION | 13 |
| VI./ CONCLUSIONES | 16 |
| VII./ LITERATURA CITADA | 17 |

RESUMEN

" NIVELES DE INMUNOGLOBULINAS EN ANI-
MALES VACUNADOS O CON RINOTRAQUEI-
TIS INFECCIOSA BOVINA "

AUTOR: ERNESTO LIZARRAGA CELAYA

ASESOR: RAYMUNDO ITURBE RAMIREZ

Se realizó un muestreo serológico doble en 75 bovinos (1er. parto) importados, raza Holstein-Friesian previamente vacunados en Canadá por vía intranasal contra la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB), y que presentaron el cuadro clínico de la enfermedad. La primera muestra se tomó en el momento en que se inició clínicamente la enfermedad y la segunda 3 semanas después.

Los sueros previamente identificados y congelados fueron trasladados al laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en donde se realizó la prueba de microseroneutralización en cultivo celular, con la finalidad de establecer un criterio de diagnóstico serológico comparando el título de inmunoglobulinas séricas entre las dos muestras.

El 100 % de los sueros de los animales estudiados, -- presentaron inmunoglobulinas contra el virus de la RIB. -- Los títulos obtenidos fluctuaron de 4 a 324.

Se establecieron con finalidad de diagnóstico, 3 grupos de animales: Animales positivos, negativos y sospechosos, dependiendo de si el título de inmunoglobulinas séricas aumentara o disminuyera en 2 o más diluciones (primer grupo), permaneciera estable (segundo grupo) y si tuvo una ligera fluctuación (último grupo).

INTRODUCCION

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB), fué reconocida por primera vez en Europa en 1890, como una enfermedad genital llamada exantema coital (1,10,22). En 1950 aparece en forma respiratoria en Colorado, (E.U.A.), en 1953 se presenta en hatos lecheros en California, (E.U.A.). El agente etiológico es un herpesvirus aislado por Madin en 1956 (8,12,14,16).

Las presentaciones clínicas que se observan son: abortiva, respiratoria, genital, conjuntival, meningoencefálica y digestiva. (3,7,8,17,24,25).

En México se diagnosticó la enfermedad en 1971 (20), con la prueba de inmunofluorescencia indirecta para detectar inmunoglobulinas contra el virus de la RIB, en un hato de bovinos Holstein-Friesian localizados en el Estado de México, en el cual ocurrió un brote caracterizado por abortos y problemas respiratorios en becerros.

Estudios posteriores, demostraron una mayor distribución de animales no vacunados, con inmunoglobulinas contra el virus de la RIB en el país. (1,4,15). Las entidades estudiadas fueron: Distrito Federal, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Queretaro, Sonora, Veracruz y Yucatán. Esto permite suponer que el virus de la RIB, se encuentra ampliamente distribuido en la República Mexicana. (18,20). Para controlar y prevenir esta enfermedad en los países de donde frecuentemente se importa ganado, (5), se utilizan dos vacunas a base de virus activo modificado, una por vía intramuscular y la otra intranasal, (6,8,9,11,12), capaces de producir una infección latente al igual que el virus de campo resultante de una infección

natural (12,16,21,22). Varios autores concluyen que ninguno de los métodos de inmunización con el virus atenuado de la RIB, es satisfactorio (16), pues la infección latente puede reactivarse al someterse los animales a estados de tensión o por aplicación de corticosteroides (9,12,23).

El virus activado puede ser eliminado en las diferentes secreciones corporales del animal, aún en presencia de inmunoglobulinas y linfocitos sensibilizados, considerando se al animal parcialmente inmune (16,21) y una fuente permanente de infección para animales susceptibles, como hembras gestantes, fetos y recién nacidos (13,14,22).

Para comprender lo anterior, es necesario considerar la forma en que los herpesvirus se replican y permanecen dentro del huésped. Se conoce, que pueden replicarse dentro de la célula ocasionando la muerte de la misma, causando inmunosupresión en un grado variable, por lo que puede o no haber producción de inmunoglobulinas (9). En segundo lugar, la replicación viral puede llevarse a cabo a través de puentes intercelulares sin exponerse al aparato inmunocompetente, por lo que no habrá producción de anticuerpos (9). Finalmente la replicación del herpesvirus, ocasiona un cambio en la superficie celular perceptible por el aparato inmunocompetente, por lo que aumentará el nivel de inmunoglobulinas (6,9,12).

En los estudios efectuados en nuestro país, al no efectuarse un doble muestreo de suero en animales que presentaron signos de la enfermedad, no se determinó si las inmunoglobulinas encontradas eran producto de una infección natural ó de una vacunación, práctica que no se realiza en nuestro país, o apenas se inicia. (4,18).

El propósito de este trabajo, fué el de establecer ni

veles diagnósticos de inmunoglobulinas contra el virus de la RIB, y determinar si fueron por respuesta al virus vacunal o por infección natural.

MATERIAL Y METODOS

De 75 bovinos (hembras a ler. parto), raza Holstein-Friesian, procedentes del Canadá, que habían sido vacunados por vía intranasal contra la RIB, 90 días antes de ingresar al país, se tomaron muestras dobles de sangre de la vena yugular, con jeringas estériles desechables (10ml).

El primer muestreo se realizó en presencia de signos clínicos (abortivos y respiratorios) sugestivos a la RIB, y la segunda muestra se tomó 3 semanas después.

Lo anterior se realizó en establos lecheros establecidos en Cananea, Sonora.

Una vez formado el coágulo se obtuvo el suero el cual se centrifugó a 3000 rpm/5min (3000 rpm= 1750g) y se conservó en congelación en frascos estériles previamente identificados, para ser trasladados al laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

Los sueros fueron inactivados en baño maría a 56°C/ - 30 min., diluidos 1:4 en Medio Basal de Eagle's (MBE), (2), con antibiótico y mantenidos en congelación hasta su utilización.

Para la prueba de microseroneutralización, se utilizó cultivo primario de células de embrión de riñón de bovino (ERB) y el cultivo de línea Madin-Darby de riñón de bovino (MDEB).

Como medio de crecimiento se empleó el MBE suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y antibióticos ---- (200 U.I. de penicilina, 200 microgramos de estreptomycin /ml).

El antígeno de la RIB, fué obtenido a partir de una vacuna comercial⁺ titulada 10⁴DICT 50%/ml (DICT= Dosis In-

fectante Cultivo de Tejidos), con 100 DICT/50% por pozo -- (suero) en la prueba.

Como controles se utilizaron:

- 1). Suero negativo: Suero fetal bovino.
- 2). Suero positivo: a).- Suero con inmunoglobulinas proveniente de un animal sin antecedentes de vacunación y con cuadro -- clínico de la RIB.
 b).- Suero con inmunoglobulinas proveniente de un animal vacunado pero sin presentar signos clínicos de la RIB.

Para la prueba se utilizaron microplacas de plástico con 96 pozos de fondo plano ⁺⁺, microdiluidores de 0.05 ml y micropipetas de 0.05 ml y 0.025 ml.

La técnica de microseroneutralización se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Carbrey (2), Rossi y Kiessel (19), empleando diluciones triples en lugar de dobles. Las diluciones fueron de 1:4 hasta 1:972.

En las pruebas realizadas por duplicado, los sueros - (0.025 ml) a probar, debieron estar en buenas condiciones para que en su presencia existiera crecimiento celular. A los sueros diluidos en la microplaca se añadió el virus titulado (0.025 ml/100 DICT/ 50%), después de una hora se agregó la suspensión de células (0.05 ml). La microplaca se incubó (37°C/48 hrs). En los pozos donde hubo formación de monoestratos celulares, el virus se neutralizó por anticuerpos específicos en el suero, o por el contrario en ausencia de estos, el virus produjo efectos citopatogénicos (ECP) en el cultivo celular.

El título de los sueros, se expresó como el recíproco de la dilución donde se observó un 50% de crecimiento celu

lar, al microscopio invertido, a las 48 horas de realizada la prueba.

* IBR, Anchor. Lab. Inc. St. Joseph, Mo. U.S.A.

** Cooke. Eng. Co., Alexandria, Va. U.S.A.

RESULTADOS

Los títulos de los sueros probados fluctuaron de 4 a 324 (Cuadro No. 1).

CUADRO 1

Distribución de los títulos de anticuerpos en la población.

| Título | No. animales 1ra. muestra | % | No. animales 2da. muestra | % |
|--------------|------------------------------|------------|------------------------------|------------|
| 4 | 19 | 25.3 | 3 | 4 |
| 12 | 18 | 24 | 21 | 28 |
| 36 | 33 | 44 | 33 | 44 |
| 108 | 4 | 5.3 | 17 | 22.6 |
| 324 | 1 | 1.3 | 1 | 1.3 |
| Total | 75 | 100 | 75 | 100 |

De acuerdo con los resultados, se consideraron 3 grupos.

a).- Animales positivos a la prueba; aquellos dónde se observó una marcada modificación en el título de inmunoglobulinas, aumentando o disminuyendo en 2 o más diluciones. (Cuadro 2).

b).- Animales negativos a la prueba; aquellos dónde no se observó modificación entre la primera y segunda muestra, o con disminución de inmunoglobulinas en la segunda muestra en una dilución. (Cuadro 3).

c).- Animales sospechosos a la prueba; aquellos dónde hubo un incremento mínimo (1 dilución) del título de inmunoglobulinas entre la primera y segunda muestra. (Cuadro 4)

El nivel de inmunoglobulinas del hato tendió a subir en el segundo muestreo, ya que el promedio (\bar{x}) general del título de la primera muestra fué de 30.13 ($\bar{x}_g = 17.30$), -- mientras que en la segunda muestra fué $\bar{x}=48.16$ ($\bar{x}_g= 21.54$)

CUADRO 2

Animales positivos a la prueba
de microseroneutralización.

| No. del animal. | Título: 1ra. muestra. | Título: 2da. muestra. |
|-------------------------------------|--|--|
| 5 | 324 | 12 |
| 9 | 4 | 36 |
| 13 | 36 | 108 |
| 21 | 36 | 108 |
| 24 | 108 | 108 |
| 30 | 36 | 108 |
| 31 | 108 | 324 |
| 33 | 4 | 108 |
| 34 | 12 | 108 |
| 38 | 4 | 108 |
| 40 | 4 | 36 |
| 42 | 4 | 36 |
| 43 | 108 | 36 |
| 44 | 4 | 108 |
| 45 | 36 | 108 |
| 46 | 108 | 12 |
| 47 | 36 | 108 |
| 48 | 4 | 108 |
| 50 | 36 | 108 |
| 53 | 4 | 108 |
| 56 | 4 | 36 |
| 59 | 36 | 108 |
| 60 | 12 | 108 |
| 61 | 4 | 36 |
| 64 | 36 | 108 |
| 66 | 4 | 36 |
| 70 | 4 | 36 |
| 71 | 36 | 108 |
| Total: 28 (37.3%) de la muestra. | $\bar{x} = 41.14$ $\bar{x}_g = 16.42$ | $\bar{x} = 87.55$ $\bar{x}_g = 70.14$ |

CUADRO 3

Animales negativos a la prueba
de microseroneutralización.

| No. del animal. | Título: 1ra. muestra. | Título: 2da. muestra. |
|-------------------------------------|--|--|
| 1 | 36 | 36 |
| 2 | 36 | 36 |
| 3 | 12 | 12 |
| 6 | 12 | 4 |
| 7 | 36 | 12 |
| 8 | 36 | 36 |
| 10 | 4 | 4 |
| 11 | 36 | 12 |
| 12 | 36 | 36 |
| 14 | 36 | 36 |
| 16 | 12 | 12 |
| 17 | 36 | 36 |
| 18 | 36 | 36 |
| 19 | 12 | 12 |
| 20 | 12 | 12 |
| 22 | 36 | 36 |
| 23 | 36 | 12 |
| 26 | 12 | 12 |
| 28 | 36 | 12 |
| 32 | 36 | 36 |
| 36 | 36 | 36 |
| 37 | 4 | 4 |
| 39 | 36 | 36 |
| 51 | 36 | 36 |
| 54 | 12 | 12 |
| 55 | 36 | 36 |
| 57 | 36 | 36 |
| 58 | 36 | 36 |
| 62 | 12 | 12 |
| 67 | 36 | 36 |
| 68 | 36 | 12 |
| 72 | 36 | 36 |
| 73 | 36 | 12 |
| 75 | 36 | 36 |
| Total: 34 (45.3%) de la muestra. | $\bar{x} = 28.47$ $\bar{x}_g = 24.42$ | $\bar{x} = 23.29$ $\bar{x}_g = 19.48$ |

CUADRO 4

Animales sospechosos a la prueba
de microseroneutralización.

| No. del animal. | Título: 1ra. muestra. | Título: 2da. muestra. |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 4 | 12 | 36 |
| 15 | 4 | 12 |
| 25 | 12 | 36 |
| 27 | 12 | 36 |
| 29 | 12 | 36 |
| 35 | 4 | 12 |
| 41 | 4 | 12 |
| 49 | 12 | 36 |
| 52 | 12 | 36 |
| 63 | 12 | 36 |
| 65 | 12 | 36 |
| 69 | 4 | 12 |
| 74 | 4 | 12 |
| Total: 13 (17.3%) | $\bar{x} = 8.92$ | $\bar{x} = 26.76$ |
| de la muestra. | $\bar{x}_g = 7.86$ | $\bar{x}_g = 23.59$ |

DISCUSION

Se encontró que el 100% de los sueros poseían inmunoglobulinas séricas contra el virus de la RIB, resultado similar al obtenido por Kahrs, (11) con la prueba de seroneutralización en tubo, en la cual de 558 animales (100%), -- 556 (98.6%) presentaron inmunoglobulinas a las 5 semanas de la vacunación intranasal.

Las inmunoglobulinas séricas anti-virus de la RIB encontradas en este trabajo, se determinaron en animales que fueron vacunados por vía intranasal 90 días antes de ingresar al país. Como se sabe, la vía intranasal ha mostrado su efectividad para inducir niveles detectables de anticuerpos séricos en los animales en que se aplica, así Gerber, (6) en otro estudio, obtuvo títulos de anticuerpos séricos que tuvieron una fluctuación de 10 a 100, en animales vacunados contra la RIB utilizando la misma vía. Por otro lado en Canadá en 1973, Darcel (5), encontró que el 100% de los animales vacunados contra RIB, presentaron inmunoglobulinas con títulos que oscilaron entre 8 y 512.

En México Correa (4) en 1975 estudió 47 sueros con la misma técnica empleada en este trabajo, encontrando un 37.5% de animales con inmunoglobulinas contra la RIB. Posteriormente Quevedo (18), en 1978 encontró que de 259 sueros probados, 161 (62.1%) de los sueros poseían anticuerpos contra este virus.

Estos trabajos muestran una variación de los niveles de inmunoglobulinas. No fué posible obtener un diagnóstico pues solo se realizó un muestreo serológico en ambos estudios.

Los resultados del presente trabajo, concuerdan con lo anterior ya que se observó que el rango del título de --

anticuerpos fluctuó entre 4 y 324, (Cuadro 1), siendo el título promedio de la población estudiada en la primera muestra de 30.13 ($\bar{x}_g = 17.30$), mientras en la segunda muestra el título promedio fué de 48.16 ($\bar{x}_g = 21.54$).

La observación del cuadro clínico en animales con inmunoglobulinas séricas, sugiere que el virus puede causar daño aún en presencia de éstas, y ser eliminado (9,23). Esto probablemente ocurre, pues se sabe que la respuesta inmune puede contribuir a la presentación del cuadro clínico (8,12).

Es importante considerar también, que el virus vacunal de la RIB produce infecciones latentes en el huésped, como lo demostró Sheffy, (21). En esta infección latente, el virus vacunal puede reactivarse cuando los animales son sometidos a estados de tensión o con la aplicación de fármacos, entre ellos los corticosteroides (6,9,12,16,21).

Se desconoce, si los animales estudiados en este trabajo sufrieron estados de tensión, pero es muy probable -- que el transporte hacia nuestro país, el cambio brusco de alimentación, el clima y prácticas de manejo hayan contribuido o participado en la presentación del cuadro clínico. Por lo cual se pudo haber incrementado la susceptibilidad de la población para un virus de virulencia mayor, o para la participación de otros agentes etiológicos.

La presentación del cuadro clínico de la RIB en estos animales, sugiere que la vacuna fué incapaz de brindar la protección deseada, lo que coincide con lo reportado por Kelling, (13), quien encontró una gran cantidad de cuadros clínicos de la RIB, en animales vacunados y en animales no vacunados, pero que tuvieron contacto con los primeros.

Los resultados de este trabajo y la información existente con respecto a la vacunación contra la RIB, cuestio-

nan la protección que confirió esta vacuna en los animales estudiados, y por otro lado reafirman la necesidad de establecer patrones de diagnóstico serológico en nuestro país, utilizando el doble muestreo y pruebas más sensibles y específicas, como la de microseroneutralización en cultivo celular.

Se sugiere que los títulos de inmunoglobulinas encontrados en los sueros de los animales estudiados en el presente trabajo, pudieron haber sido consecuencia de una probable infección por un virus vacunal que recuperó su virulencia original; o que el virus vacunal no fué capaz de estimular eficazmente al aparato inmunocompetente de estos animales, por lo que no tuvieron protección ante la infección por un virus de campo de virulencia mayor.

CONCLUSIONES

- 1.- Se establecieron niveles diagnósticos de inmunoglobulinas séricas contra el virus de la RIB, empleando la --- prueba de microseroneutralización en cultivo celular -- realizando el doble muestreo serológico.
- 2.- En los animales importados de Canadá y vacunados por -- vía intranasal contra la RIB, la vacuna no confirmó la protección esperada.
- 3.- La observación del cuadro clínico en animales que po- - seen inmunoglobulinas séricas contra el virus de la RIB, indica que estas no son capaces de evitar la presenta- ción del cuadro.

LITERATURA CITADA

- 1.- Bordier, D. D.: El método de inhibición de la migración de macrófagos para detectar inmunidad celular en la Rinotraqueitis infecciosa bovina. Tesis de licenciatura Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. (1980).
- 2.- Carbrey, E.A., Downing, D.R., Snyder, M.L., Wessman S.J. and Gustafson, G.A.: Microtiter and automated serologic techniques for diagnostic Virology. Proc. Annu. Meet. U.S. Anim. Health Assoc. : 533-562, (1973).
- 3.- Coates, J.W. : Infectious bovine rhinotracheitis acute respiratory form in young calves. Can. Vet. Jour. 13 : 290-291, (1972).
- 4.- Correa, G.P.; Brown, L.N. y Bryner, J.H.: Presencia de anticuerpos contra Rinotraqueitis Infecciosa, Diarrea Viral Bovina, Parainfluenza 3, Brucelosis, Leptospirosis, Vibriosis y Hemophilus somnus en sueros de bovinos -- con problemas patológicos Reproductores y Respiratorios. - Tec. Pec. Méx. 29: 26-33, (1975).
- 5.- Darcel, C.Q. : The prevalence of neutralizing antibodies to Infectious Bovine Rhinotracheitis in Cattle in Alberta. Can. Vet. Jour. 14 : 167-169, (1973).
- 6.- Gerber, D.J., Marron, E.A. and Kucera, J.C.: Local and Systemic Cellular and Antibody Immune Responses of Cattle to Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Vaccines Administered Intranasally or Intramuscularly. Ann. J. Vet. Res. 39 : 753-760, (1978).
- 7.- Gough, A. and James, D. : Isolation of IBR virus from a heifer with meningoencephalitis. Can. Vet. Jour. 16 : 313-314, (1975).

8.- Howard, G.J. and Francis, T.J. : Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals. Cornell University Press. Seventh Edition. London (1981).

9.- Johnson, W.D., Muscoplat, C.C. and McClure, J.J. : Immune responses to Bovine Viral Diseases: BVD, IBR and PI₃. Minn. Vet. 17. : 15-22, (1977).

10.- Jubb, K.V.F. and Kennedy, P.C. : Pathology of Domestic Animals. Second Edition. Vol. 1, Academic Press. U.S.A. (1970).

11.- Kahrs, F.R., Hillman, B.R. and Todd, D.J.; Observations on the Intranasal Vaccination of Pregnant Cattle Against Infectious Bovine Rhinotracheitis and Parainfluenza 3 Virus Infectiuos. J.A.V.M.A. 163 : 437-440, (1973).

12.- Kahrs, F.R., Viral Diseases of Cattle. Iowa State - Press. First Edition, Ames Iowa, U.S.A. (1981).

13.- Kendrick, W.J.: Effects of infectious Bovine Rhinotracheitis Virus on the fetus. J.A.V.M.A. 163: 852-854 - (1973).

14.- Kelling, C.L., Schipper, A.I., Strunn, E.G., Carlson, B.R. and Tilton, E.J. : Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) Abortion Observations on Incidence in Vaccinated and Non-Vaccinated and Exposed Cattle. Cornell Vet. 63 : -- 383-389, (1973).

15.- Martell, M.D., Soto, L., Castellanos, L., Mcandley, H.E. and Johnson, W.D.: IBR Virus Isolates from two Epizootics in Mexican Dairy Cattle. Vet. Med. Small Anim. Cli. 36: 1045-1050, (1974).

16.- Mohanty, B.S. and Dutta, K.S. : Veterinary Virology. First Edition. Lea & Febiger. Philadelphia, U.S.A. (1981).

17.- Potgieter, N.D.L. and Aldridge, L.P. : Frequency of Occurrence of Viruses Associated with Respiratory tract Disease of Cattle in Oklahoma: Serologic Survey for Bovine Herpesvirus DN599. Am. J. Vet. Res. 38: 1243-1245. -- (1977).

18.- Quevedo de, M., Berruecos, J.M., Aguilar, S.A. y Correa, G.P. : Algunos aspectos epizootiológicos de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Téc. Pec. Méx. 34: 61-68, (1978).

19.- Rossi, C.R. and Kiesel, G.K.: Microtiter Test -- for Detecting Antibody in Bovine Serum to Parainfluenza 3 virus, Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus and Bovine Virus Diarrhea Virus. Appl. Microbiol. 22: 32-36, ---- (1971).

20.- Ruiz, D.R. y Cuevas, F.: Rinotraqueitis Infecciosa Bovina como causa de aborto en México. Tec. Pec. Méx. 16: 51-52, (1971).

21.- Sheffy, B.E. and Rodman, B.A.: Activation of latent Infectious Bovine Rhinotracheitis infection. ----- J.A.V.M.A. 163: 850-851, (1973).

22.- Steves, F.E. and Heuschele, W.P.: IBR abortion - and its control. Vet. Med. Small Anim. Clin. 68: ----- 164-166, (1973).

23.- Todd, J.D.: Bovine Immune Response to Respiratory Infections of Viral Etiology. Jour. Dairy Science 54: 1334, (1971).

24.- Wiseman, A., Msolla, P.M., Selman, I.E., Allan, E.M., Cornwell, H.J.C., Pirie, H.M. and Inray, W.S.: An acute severe outbreak of infectious bovine rhinotrachei-

tis: Clinical, epidemiological, microbiological and pathological aspects. Vet. Rec. 103: 391-397, (1978).

25.- York, J.C.: Infectious Bovine Rhinotracheitis. - J.A.V.M.A. 152: 758-760, (1968).