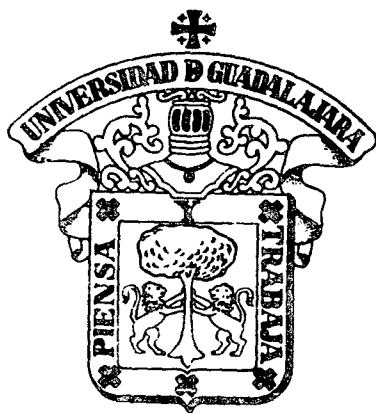


# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Identificación del Virus de la "IBR" en Reproductores  
Importados y en Semen Congelado, Mediante la Técnica  
de Anticuerpos Fluorescentes

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A  
MIGUEL ARNOLDO GONZALEZ NAVARRO  
GUADALAJARA, JALISCO. - 1978

## **I N D I C E :**

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>DESARROLLO</b>	<b>12</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>15</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>23</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>27</b>
<b>SUMARIO</b>	<b>29</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>30</b>

En la culminación de mi Carrera Profesional,  
con eterno cariño y agradecimiento para mis-  
PADRES por su esfuerzo y sabios consejos que  
siempre me han sabido dar.

A mis HERMANOS por su inagotable  
apoyo moral.

A MARICELA por su comprensión y gran impulso  
moral.

Con especial afecto a mi Asesor:  
C.MVZ. RODOLFO JAVIER BARBA LOPEZ  
por su enseñanza, consejos y su-  
desinteresada orientación para la  
elaboración de este trabajo.

al DR. E. A. CARBREY:  
Jefe del Laboratorio de Diagnóstico  
Viral de Ames, Iowa, U. S. A., quien  
gentilmente donó el Conjugado de IBR  
utilizado en este estudio.

Al C. DR. DON RAMON FERNANDEZ DE CEVALLOS  
Fundador y Ex-Director de esta Facultad -  
por su amistad, consejos y apoyo.

Al C. M.V.Z. JAVIER RIVERA HERNANDEZ  
por su afecto y valiosas enseñanzas.

A MIS MAESTROS DE ESTA FACULTAD.

A MI H. JURADO:

MVZ. ABEL BUENROSTRO SILVA

MVZ. JOSE ANTONIO OROZCO SANCHEZ

MVZ. FABIAN UVIÑA LUNA

MVZ. VICTOR MANUEL GOMEZ LLANOS MORALES

MVZ. RICARDO DIAZ VILLALOBOS

**I N T R O D U C C I O N :**

## HISTORIA Y DISTRIBUCION DE LA ENFERMEDAD:

IBR es una enfermedad relativamente nueva, habiendo sido notada por primera vez en Colorado, U.S.A. en 1950, y poco después en el Estado de California U.S.A. (\* 13; 16; 33); aunque los primeros reportes fueron publicados hasta 1954 por Schoroeder y Moys. En 1955 - Jensen y Miller la denominan Rinotraqueitis Necrótica Infecciosa; - en 1956 Madin, York y McKercher lograron su aislamiento por primera vez y la describen como Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). En 1957 McKercher y Cols. la caracterizan como una enfermedad de tipo-respiratoria (\* 13; 16; 21; 32); en 1964 Baker y Cols notaron sus -afecciones genitales (\*16), por eso recibe los nombres siguientes:- Vulvovaginitis Pustular Infecciosa; Eplvag; Balanopostitis; Exantema Coital; Vaginitis Vesiculosa, etc. (\*13; 17); además hay reportes que ésta enfermedad causa problemas de rumenitis, enteritis y -de mastitis (\* 1; 13).

En 1961, Armstrong, Pereira y Andrewes lo clasifican como un HERPES VIRUS BOVINO (\*16; 17; 33), cuyas características principales son:- virión envuelto de 180 a 250 milimicras de diámetro (desnudo mide -unas 110) posee un núcleo con doble banda de ADN; simetría cúbica - (cápside icosaédrico), con 162 capsómeros; como todo herpesvirus -- tiene predilección por epitelios superficiales; produce cuerpos de-inclusión intracitoplasmáticos; es un gérmen etersensible; estabili-dad a un Ph de 6 a 9 (\*13; 16; 26); posee un período de incubación-de 4 a 6 días (\*16; 33); morbilidad variable, que depende del esta-do inmunológico del hato, varía de un 7.6 al 25%, pero puede llegar

hasta un 90% en la manifestación respiratoria (\*16; 20; 21; 22); provoca una mortalidad baja, que no llega al 3% (\* 16; 21; 22), aunque hay reportes que la afección meningoencefálica puede causar un 90% de mortalidad en terneros menores de 6 meses (\*5).

Actualmente ha sido aislado el virus de la IBR-IVP en casi todos los países del mundo, en México los primeros en diagnosticarla fueron - Martell y Cols., en el Laboratorio de la D.G.S.A.; el primer brote - ocurrió en Azcapotzalco, Edo. de México en Noviembre de 1971, el - otro se presentó en Puebla durante el mes de mayo de 1972; la sintomatología de ambos brotes constaba de problemas respiratorios y conjuntivales (\*23). Posteriormente el virus ha sido aislado en Michoacán, Querétaro, Nuevo León, Chihuahua y en otros Estados de la República (\*22). En el Estado de Jalisco el primer reporte de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina fué publicado por Lucas Palacios en Julio de 1975, utilizando la técnica de Inmunodifusión y la de Aglutinación Capilar, describe únicamente un 47% de sueros bovinos negativos a la \*IBR\* (\*20).

#### SINTOMATOLOGIA GENERAL:

El virus de la \*IBR-IVP\* posee capacidad de producir un amplio rango de síndromes, por lo cual los dividiremos de la siguiente manera:

##### a).- SINDROME RESPIRATORIO:

Inicia con hipertemia, anorexia, y depresión; después aparece -



una descarga nasal transparente de tipo serosa, acompañada de hiperemia de las mucosas nasotraqueales (por ello le dicen Enfermedad de la Nariz Roja); ocasionalmente se presenta la tos (\*33); al progresar la enfermedad la secreción nasal cambia de serosa a mucopurulenta, es raro observarla con estrías de sangre (\*17). También se produce una polipnea y una disnea. En el ganado lechero ocurre una disminución de la producción láctea; mientras que en bovinos tipo carne sucede una reducción del peso corporal, motivada por la anorexia (\*16; 23).

Puede haber complicaciones del problema respiratorio, debido a la invasión secundaria de bacterias, las cuales al causar neumonías provocan un aumento en el porcentaje de la mortalidad por la IBR; por eso se usan antibióticos en el tratamiento (\*2; 16; 17). Según un trabajo recientemente efectuado en el Estado de Jalisco, el cual describe que los principales contaminantes bacterianos asociados en los procesos respiratorios son los siguientes: Estafilococos; Escherichia Colli y Estreptococos (\*7); y muchos otros autores mencionan a las Pasteurellas como una de las principales causas de neumonías en los bovinos; y por ende se han desarrollado vacunas múltiples, es decir una combinación de varios gérmenes, principalmente son mezclas de IBR con Diarrea Viral Bovina (DVB) diluídas en una bacterina de Pasteurella spp.; otras vacunas además de los microorganismos antes descritos, le adicionan virus de la Parainfluenza Bovina (PI-3). (\*18-1).

b).- CONJUNTIVITIS:

En la mayoría de los casos se presenta dicha manifestación ocular, la cual se caracteriza por excesiva secreción que al inicio del problema es de tipo serosa, pero después cambia a purulenta (\*20; 33). La conjuntivitis puede ser uni o bilateral; - McKercher la designa como el principal síntoma clínico de la - IBR. En ocasiones produce Queratitis y en muy raras veces el - virus ha sido aislado de Carcinomas Oculares, causándole ceguera al ojo afectado (\*13).

c).- SINDROME IVP Y ABORTOS:

Caracterizado por hiperemia y edema vulvovaginal; después aparecen unas minúsculas pústulas pálidas de 0.5 a 1.0 mm. de diámetro, dichas estructuras pustulares vulvovaginales al progresar la enfermedad se unen varias para formar placas aplanadas de color gris; finalmente el epitelio se erosiona, quedando unas úlceraciones que en ocasiones se necrosan (\*17; 33). En las hembras se afecta también el cervix y el endometrio, para causar - posteriormente una infección fetal, ya que atraviesa placenta - por vía hemática para producir la muerte fetal, finalmente ocurre el aborto (\*1; 13; 28). En los machos la IVP (vulvovaginitis pustular infecciosa) les ocasiona epididimitis, orquitis y lesiones pustulares en prepucio y pene (\*28).

McKercher y Wada reportaron que en un hato bovino con antecedentes respiratorios y conjuntivales, hubo muchos abortos dentro -

de los 2 meses siguientes en hembras del quinto al octavo mes - de gestación; también el virus vacunal administrado durante el último tercio de preñez produce abortos (\*18; 24; 29). En infección por IBR además del aborto, se puede presentar mortinatos o partos débiles con retención placentaria ya que sucede una degeneración cotiledonaria (\*11; 13).

Actualmente se ha prestado mucha atención a los virus como causa de abortos, y por consiguiente se ha incrementado el envío de muestras a los Laboratorios de Diagnóstico, para detectar IBR u otros agentes abortivos (\*12).

Las lesiones fetales que produce la infección de IBR son: traqueitis hemorrágica; hepatitis necrótica focal (nódulos de 0.2 a 0.5 mm. de diámetro); placentitis necrótica; autólisis fetal con edema subcutáneo sanguinolento; y una distribución irregular de focos necróticos en otros órganos tales como bazo, riñón pulmones y nódulos linfáticos (\*10; 22).

d).- MENINGOENCEFALITIS POR IBR:

Aunque es de rara presentación, en Australia fué aislado el virus del cerebro y médula espinal de terneros cuyas manifestaciones clínicas constaron de incoordinación de los miembros posteriores, parálisis y nerviosismo del animal; clínicamente se confundía con Pseudorabia (\*1). Posteriormente dicha manifestación se ha presentado en otros países (U.S.A., y etc.), ocurrien

do la muerte de los animales afectados dentro de los 3 a 4 días posteriores a la aparición de los primeros síntomas de carácter nervioso (\*13).

La característica de éste síndrome, es que sólo afecta a terneros de 3 a 6 meses de edad (\*2; 5; 25); inoculaciones experimentales llegaron a la conclusión de que no todas las cepas de la IBR poseen propiedades neurotrópicas que puedan reproducir el síndrome meningoencefálico (\*25).

e).- RUMENITIS Y ENTERITIS:

Comunmente se observa la diarrea provocada por dicha manifestación, ya que el virus de la IBR ha sido aislado del tracto gastrointestinal y del excremento (\*1; 13). Otros autores mencionan asociaciones de éste virus con el de la Diarrea Viral Bovina (DVB), agravando aún más el problema.

f).- MASTITIS Y DERMATITIS PERIANAL:

Ocasionalmente se afectan dichas estructuras anatómicas, puesto que hay reportes de ello (\*13).

## METODOS DE DIAGNOSTICO PARA LA IBR:

Los principales son: el aislamiento viral en cultivos celulares; la prueba de Anticuerpos Fluorescentes (AcF), la cual fué utilizada para este trabajo; el método de histopatología, en el cual se observan los corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticos; el sistema de microscopía electrónica; las técnicas serológicas; y la prueba rápida de intradermoreacción (\*13). Entre los métodos de serología, las técnicas de inmunodifusión en gel y la de hemoaglutinación pasiva son pruebas de gran valor en el diagnóstico, pero tienen el inconveniente de ser tardadas (\*19; 20).

La técnica de AcF fué aplicada por primera vez en microbiología por Conns y Cols. en 1942, dicha prueba es utilizada para la identificación de bacterias, virus y de anticuerpos (\*31). Esta técnica fué adaptada para la identificación del virus de la IBR-IVP en cultivos celulares infectados por Schipper, Chow y Brown; Gratzek igualmente la usó para detectar dicho virus en exudados nasales y en vaginales (\*30).

A la observación microscópica, las células infectadas fluorescen de un color amarillo-verdoso brillante (\*4); la fluorescencia específica la observamos en localización intracitoplasmática, cercas de la membrana nuclear; ésto ocurre en cultivos celulares infectados por el virus de la IBR (\*15; 23).

El método de diagnóstico relativo al aislamiento viral en cultivos de tejido, en el caso de la IBR, además de ser una de las pruebas más - certeras para la identificación del virus, conduce a la atenuación - del virus y a la elaboración de vacunas; sobre las vacunas del virus- vivo, pruebas de campo controladas demostraron su eficacia e inocuidad de dicho producto biológico administrándolas en zonas endémicas, ex- ceptuando en la aplicación de la vacuna sobre hembras gestantes ya - que puede producirle aborto si se usa la vacunación durante el quinto al octavo mes de preñadas, además la vacuna puede producir absorción- fetal o parto prematuro (\*16). La vacuna fenolizada (virus muertos), aunque tiene menor grado de antigenicidad que la vacuna modificada, - proporciona inmunidad suficiente para proteger al animal durante un - año. La vacuna que se administra por la vía intranasal también produ- ce buena inmunidad. En la aplicación de cualquier tipo de vacuna, es recomendable revacunar al año (\*2).

#### VIAS DE TRANSMISION DEL VIRUS DE LA IBR-IVP:

Ocurre mediante Aerosoles, tanto de las vías respiratorias, como de - las genitales, dichas secreciones van a ser una de las fuentes de con- taminación hacia los animales que estan en contacto con los enfermos. Otra vía de diseminación viral es a través del coito durante la monta directa (\*10; 17). Aunque hay escasos reportes, se ha aislado dicho- microorganismo del fluido seminal de toros infectados, por lo tanto - la IBR se transmite mediante el uso de la Inseminación Artificial (\*8 13; 22), la mencionada vía de transmisión es muy importante ya que -

por ser una inoculación intrauterina vá a causar altos porcentajes de abortos (\*22).

Además, mediante el manejo podemos contaminar animales sanos con esponjas de lavado, espéculos vaginales y con cualquier otro equipo puesto en contacto con los órganos afectados (\*20; 21). La enfermedad se propaga rápidamente después de introducir un nuevo lote traído de zonas endémicas (tal es el caso de importación de piés de crfa con la finalidad de mejorar genéticamente la calidad de nuestro ganado). (\*6; 21 26).

Tomando en cuenta la presencia y transmisión del virus de la IBR en semen, es interesante analizar el uso actual de la Inseminación Artificial (A.I.) en nuestra ganadería: día a día se ha incrementado a grandes pasos su uso en los bovinos de todo el mundo, los centros dedicados a la obtención de semen congelado se han visto posiblemente obligados a dedicar poco tiempo al CONTROL DE CALIDAD, para AUMENTAR LA CANTIDAD, dada la gran demanda (\*14).

Una de las técnicas más usadas para evitar ciertos contaminantes bacterianos, y por ende aumentar la fertilidad del semen es la siguiente diluir el semen en yema de huevo, citrato de sodio, adicionándole antibióticos (penicilina y estreptomina), y congelando a una temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$ . mediante el uso de nitrógeno líquido (\*14).

Un trabajo de investigación, describe los principales contaminantes -

bacterianos del semen, los cuales por orden son: Escherichia Colli; - Proteus Vulgaris y P. Miriabilis; y Corynebacterium Pyiogenes (\*14).

En el Estado de Jalisco, el Banco de Semen de la S.A.R.H. dice aplicar aproximadamente 1,500 dosis de semen mensuales, siendo utilizadas alrededor de 700 en el Banco localizado en Tepatitlán, Jal. (datos proporcionados por la S.A.R.H.); partiendo de dichos datos nos podemos dar cuenta aproximada del gran uso de la Inseminación Artificial en nuestro medio, teniendo en mente la gran cantidad de casas comerciales tanto Nacionales como las extranjeras que se dedican a vender semen congelado bovino.

#### PERDIDAS ECONOMICAS CAUSADAS POR LA IBR-IPV:

Estas radican principalmente en los abortos y en la disminución de la producción láctea, ya que produce pocas muertes (\*18; 21; 23); otras pérdidas vendrían a ser el costo del tratamiento (vacuna y antibióticos) y la disminución del peso corporal causado por la anorexia, prolongándose el período de engorda (\*16). Por lo tanto para la profilaxis, sería la administración de vacuna anualmente, e impedir la utilización de semen contaminado, usando para ello pruebas de laboratorio para la detección viral (\*21; 22).

Tomando en consideración las pérdidas económicas causadas por los abortos, para reducir su presentación, lo mejor sería practicar exámenes de laboratorio a las vacas que aborten y a los lotes de semen,



con la finalidad de detectar a los principales agentes abortivos, los cuales son: Virales (IBR; DVB; PI-3; aborto bovino epizootico, etc.); Bacterias, (brucelosis, listeriosis, vibriosis, etc.); Protozoarios (tricomoniasis); o por Hongos (aspergillus, rhizopus, etc.); (11; 14 27). Aunque algunas pruebas se realizan actualmente otras no se llevan a cabo por tal o cual motivo, tal es el caso de la IBR; por lo tanto se debe iniciar para evitar la diseminación de dichos gérmenes.

DESARROLLO:

El trabajo se llevó a cabo en la CUENCA LECHERA DE JALISCO, comprendiendo los siguientes Municipios: Tepatitlán; Arandas; Guadalajara; Ocotlán y Poncitlán. Se obtuvieron muestras al azar de 12 establos de ganado lechero, muestreando un total de 93 vacas importadas (ya sea del Canadá o de los U.S.A.); tomando aproximadamente un 15% del total de animales importados de c/establo, y las técnicas de muestreo y tinción utilizadas en éste estudio, fueron las siguientes:

A partir de raspados, tanto de la mucosa pituitaria, como de la nasal se realizaron improntas sobre portaobjetos libres de grasa, identificando a cada placa mediante un lápiz punta de diamante (las muestras vaginales se obtenían con previo lavado de los genitales externos, con agua limpia).

Una vez preparada la impronta, se efectuaba la fijación del tejido mediante acetona fría, durante 1 a 6 horas, tiempo que se aprovechaba para transportar las improntas desde el establo hacia el Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde se llevó a cabo éste trabajo; el recorrido de las muestras se realizaba sobre un termo conteniendo hielo.

En el laboratorio se realizaba la técnica de tinción descrita por Kaplan y Koprowski (\*9), es decir, mediante una jeringa hipodérmica depositamos una gota del conjugado de IBR (anticuerpos marcados con fluoresceína) sobre un área delimitada de tejido; posteriormente se procedía a la incubación de las muestras en la estufa bacteriológica (colocándola en la cámara húmeda) a 37°C. durante 20 a 25 minutos. -

La incubación tiene por finalidad el que se lleve a cabo la Reacción ANTIGENO-ANTICUERPO, la cual vá a causar la fluorecencia específica a la hora de la lectura en el microscopio de inmunofluorecencia.

Después se sometían las placas a 2 lavados consecutivos con sol. salina bufferada durante 10 minutos c/u a temperatura ambiente, con la finalidad de eliminar los restos de colorante. Enseguida se hacía otro lavado, pero con agua bidestillada durante 10 minutos para evitar la formación de cristales que se forman por la acción de la sol. buffer; como paso siguiente dejamos secar la placa a temperatura ambiente; finalmente se realizaba la lectura en el microscopio.

El método que se realizó en las muestras de semen, fué el siguiente: se recolectaron 58 muestras de flúido seminal bovino, de diferentes razas (tanto de carne, como de finalidad lechera), de casas comerciales nacionales y extranjeras; depositamos una gota del líquido espermiático sobre un portaobjetos y mediante otra laminilla de vidrio procedíamos a extender el semen a manera de frotis sanguíneo; posteriormente se dejaba secar al aire, para después continuar con la fijación del tejido (en acetona fría durante 1 a 6 horas). La técnica de tinción efectuada en semen, fué igual a la realizada en las muestras nasales y en las vaginales.

El conjugado de "IBR" para Inmunofluorecencia fué donado por el Departamento de Agricultura de Ames IA, U.S.A.; por lo antes descrito se pudo llevar a cabo éste estudio de investigación sobre la Rinotra

queitis Infecciosa Bovina.

La lectura microscópica se llevó a cabo en el Laboratorio de Virología dicho microscopio posee las siguientes características: Marca Leitz - Ortholux, con condensador de campo oscuro; conteniendo una fuente de luz ultravioleta, mediante una lámpara de vapor de mercurio HB-200-W; utilizando los siguientes filtros: diffus N, UV-UG 1, BLAU-BG 12, y el filtro barrera K-470.

En todas las muestras (tanto las nasales y vaginales, como en las de semen congelado), se contó con un PATRON NEGATIVO (CVS) con la finalidad de obtener resultados con mayor veracidad; dicho parámetro se obtuvo a base de conjugado de IBR para inmunofluorescencia, al cual se le adicionó un volumen igual de virus procedente de una vacuna comercial, e incubándolos en estufas bacteriológica (a 37°C) durante 30 minutos, con la finalidad de lograr la INHIBICION de la Fluorescencia Específica; ésto reflejado en la placa, a la hora de la lectura al microscopio evita la Reacción Antígeno-Anticuerpo y por lo tanto no aparecen las fluorescencias específicas.

R E S U L T A D O S :

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS ESTUDIOS PRACTICADOS  
 SOBRE REPRODUCTORES IMPORTADOS, DURANTE LOS AÑOS  
 1977 - 1978; MEDIANTE UN CONJUGADO DE INMUNOFLUO  
 RESCENCIA PARA "IBR". :

---

ESTABLO : SAN JOSE  
 Guadalajara; 8 de Octubre de 1977

Nasal	Vaginal
+	+
-	- *
+	-
+	-
-	- *
-	- *
+	-
+	-
+	-
+	-
+	+
+	-
+	-
TOTAL DE MUESTRAS	13

ESTABLO : LA MANGA  
 Poncitlán; 10 noviembre 1977

Nasal	Vaginal
+	+
-	+
-	- *
-	- *
TOTAL DE MUESTRAS	4

\* Negatividad al virus de la IBR, por las 2 vías detectables.

ESTABLO : EL CRUCERO  
Arandas; 1 diciembre 1977

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
+	+
+	+
+	+
-	- *
-	- *
+	+
<hr/>	
TOTAL DE MUESTRAS	6

ESTABLO : SR. VALENZUELA  
Tepatitlán; 5 diciembre 1977

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
-	- *
+	+
<hr/>	
TOTAL DE MUESTRAS	2

ESTABLO : EL TEPAME  
Tepatitlán; 30 diciembre 1977

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
+	+
+	+
+	+
+	+
+	+
+	-
-	+
+	-
+	+
-	- *
-	- *
-	- *
<hr/>	
TOTAL DE MUESTRAS	12

\* Negatividad al virus de la IBR a las 2 vías detectables.



ESTABLO : SAN LUIS  
Ocotlán; 12 enero 1978

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
-	+
+	+
+	+
-	- *
-	+
+	+
+	+
+	+
<hr/>	
TOTAL DE MUESTRAS	8

ESTABLO : LA VILLA  
Tepatitlán; 28 enero 1978

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
+	+
+	+
<hr/>	
TOTAL DE MUESTRAS	2

ESTABLO : CAPILLA DE GPE.  
Tepatitlán; 28 enero 1978

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
+	+
<hr/>	
TOTAL DE MUESTRAS	1

\* Negatividad al virus de la IBR a las 2 vías detectables.

ESTABLO : LA CRUZ  
Tepatitlán; 10 febrero 1978

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
-	+
+	-
-	- *
+	-
-	+
-	+
-	+
-	- *
+	+
+	-
+	-
+	+
-	+
+	-
<u>TOTAL DE MUESTRAS</u>	<u>14</u>

ESTABLO : LOS DOLORES  
Capilla de Gpe.; 15 febrero 1978

<u>Nasal</u>	<u>Vaginal</u>
+	-
+	-
-	- *
-	- *
-	- *
-	+
-	+
-	+
<u>TOTAL DE MUESTRAS</u>	<u>8</u>

\* Negatividad al virus de la IBR por las 2 vías detectables.

ESTABLO : EL GUAYABO  
 Tepatitlán; 30 febrero 1978

Nasal	Vaginal
+	-
+	-
-	- *
-	+
+	-
+	+
+	+
+	+
-	+
-	+
+	-
+	+
TOTAL DE MUESTRAS	12

ESTABLO : LA PROVIDENCIA  
 Tepatitlán; 10 marzo 1978

Nasal	Vaginal
+	+
-	- *
-	- *
+	-
-	- *
-	- *
+	+
-	- *
-	- *
+	+
+	-
TOTAL DE MUESTRAS	11

\* Negatividad al virus de la IBR por las 2 vías detectables.

"Cuadro No. 1: Resumen de los resultados sobre reproductores importados, localizados dentro de la Cuenca Lechera de Jalisco, durante los años 1977 a 1978; mediante la técnica de Anticuerpos Fluorescentes (identificando el virus de la "IBR").

ESTABLO	No. ANIMALES MUESTREADOS	MUCOSA NASAL (+)	MUCOSA VAGINAL (+)	+ A CUALQUIERA (NASAL O VAGI- NAL)	PORCENTAJE %
SAN JOSE	13	10	2	10 *	76.92
LA MANGA	4	1	2	2 *	50
EL CRUCERO	6	4	4	4 *	66.66
SR. VALENZUELA	2	1	1	1 *	50
EL TEPAME	12	8	7	9 *	75
SAN LUIS	8	5	7	7 *	87.5
LA VILLA	2	2	2	2 *	100
CAPILLA GPE.	1	1	1	1 *	100
LA CRUZ	14	7	7	12 *	87.71
LA PROVIDENCIA	11	5	3	5 *	45.45
LOS DOLORES	8	2	3	5 *	62.5
EL GUAYABO	12	8	7	11 *	91.66
TOTALES	93	54	46	69 *	74.2 %

\* Positividad a la IBR, cualquiera que sea la localización del virus; ésto nos indica la INCIDENCIA REAL de la enfermedad en los animales muestreados.

Cuadro No. 2: Resultados de los estudios practicados sobre las muestras de semen congelado bovino, efectuados durante el año 1978; mediante la técnica de ACF (detectando IBR).

CASA COMERCIAL	PROCEDENCIA	R A Z A	TOTAL DE MUESTRAS	+	%
Carnations	Importado	Holstein	19	8	42.1
Carnations	Importado	Suizo	2	1	50
Carnations	Importado	Hereford	2	0	--
Carnations	Importado	Jersey	2	1	50
Carnations	Importado	Guernsey	1	0	--
A.B.S.	Importado	Holstein	11	5	45.4
A.B.S.	Importado	Cebú	3	1	33.3
A.B.S.	Importado	Suizo	1	0	--
S.A.R.H.	Nacional	Holstein	9	4	44.4
S.A.R.H.	Nacional	Cebú	2	2	100
S.A.R.H.	Nacional	Simental	1	1	100
SIMEX	Nacional	Holstein	1	0	---
MEED WEST	Importado	Holstein	1	1	100
Particular	Nacional	Holstein	1	0	---
Particular	Nacional	Cebú	2	2	100
T O T A L E S .....			58	26	44.8

Dentro del capítulo de resultados, se debe aclarar que los parámetros utilizados en éste estudio sobre el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, para considerar como positivas las muestras observadas, fueron las siguientes: En las placas nasales y vaginales, la Fluorescencia Específica se observó como una especie de polvo verde brillante circular, sobre una superficie plana, con localización extracelular; raras veces se observaban células del tejido, debido a que se trabajó siempre con desechos de dichas estructuras anatómicas.

Con respecto a las muestras de semen congelado, se observaron las siguientes características: La reacción Positiva se observaba igual que en la anterior (forma y localización de la fluorescencia específica); además el fluorocromo teñía por lo general a las caudas espermáticas; y en raras ocasiones se presentaba la coloración del contornocefálico de los espermatozoides.

D I S C U S S I O N :

La incorporación de la técnica de Anticuerpos Fluorescentes (AcF), para detecciones virales ha proporcionado un medio rápido para su diagnóstico, ya que ganamos tiempo, en comparación con los métodos convencionales de Seroneutralización (\*4); además ésta prueba ha demostrado ser sin par, por su enorme utilidad para detectar antígenos (\*15); - otros autores reportan que tanto la técnica de aislamiento viral en cultivos celulares, como la de inmunofluorescencia son los métodos de diagnóstico más certeros que existen (\*5); por lo tanto la prueba utilizada en éste trabajo es de resultados confiables para la detección del virus de la IBR-IVP.

Se obtuvo altos porcentajes de semen contaminado por el virus de la IBR (44.8), motivo por el cual no es de causarnos sorpresa, ya que hay ciertos reportes que afirman tanto la presencia, como la transmisión y alteración de la calidad del semen (causando un menor porcentaje de fertilidad), dichas afirmaciones las han reportado los siguientes autores: Spradbrow (\*2); Dennet y Cols. (\*13); Darcel y Cols. (\*8) Conradi y Cols; Boeckx y Cols. (\*13). Otros autores, tales como Saxegaard, Allan y Parsonson, aunque admiten que el semen contaminado por IBR administrado por la vía artificial puede causar endometritis - causando una disminución en el porcentaje de concepciones, opinan que mediante la vía natural (monta directa) no se interfiere la fertilidad cuando el semen está contaminado, (\*13). Tomando en cuenta dichas sugerencias, no debe de extrañarnos que en éste estudio encontramos un gran porcentaje de semen contaminado; pero tales hechos deben conducirnos al inicio de mejores sistemas de Control de Calidad (mediante-



análisis de laboratorio) sobre los lotes de semen explotados en nuestro medio, evitando aquellos contaminados por agentes abortivos.

Con respecto al trabajo realizado sobre las muestras nasales y vaginales de los bovinos importados, se obtuvieron en base a raspados mucosales (\*28); los resultados entre dichas estructuras anatómicas difieren entre ellas mismas, debido a que la manifestación respiratoria antecede y se recuperan los animales sin tratamiento alguno en la mayoría de los casos; y de 10 a 14 días posteriores al restablecimiento aparece la afección genital o Vulvovaginitis Pustular Infecciosa (\*29) Por dichas consideraciones, se obtuvieron los siguientes resultados:- 61.2% de positivos en la mucosa pituitaria; en raspados vaginales se observó un 58.4% de positivos al virus de la IBR; además se debe aclarar que de los 93 animales muestreados, 69 resultaron positivos a una de las 2 vías detectables (nasal o vaginal), y algunos a ambas pruebas, por lo tanto la Incidencia Real hacia la IBR fué de 74.2%.

Se ha registrado y reportado que la excreción del virus de la IBR-IVP en forma intermitente durante 17 a 19 meses posteriores a la infección experimental (\*2; 13). Tomando en cuenta dicho período de transmisión latente, para disminuir la incidencia actual de la enfermedad, nuestras autoridades Sanitarias deberían utilizar mejores Sistemas de Control a la hora que nuestros ganaderos traten de importar animales traídos de zonas altamente endémicas; equipando mejor a las Zonas de Cuarentena, utilizando métodos de detección para impedir la introducción de animales asintomáticos realizando para ello pruebas rápidas tales como: la de Inmunofluorescencia y la de hipersensibilidad cutánea.

Actualmente nuestras Autoridades Sanitarias consideran erróneamente - que la IBR en México es un problema de carácter exótico, ya que durante el año 1977 reportan 12 casos en toda la República, de los cuales - 2 casos fueron identificados en el Estado de Jalisco (\*3); y el inicio de éste trabajo data del 8 de octubre de 1977, con los resultados antes descritos. Otro estudio, similar en cuanto a fecha, pero obteniendo muestras sobre animales criollos (casi en su totalidad), describe también una alta incidencia hacia el virus de la IBR (46.6% en mucosa nasal; y 28.4% en la vaginal), dicho estudio también fué llevado a cabo en el Estado de Jalisco, pero difiere porque se realizó en animales afectados del tracto respiratorio. (\*7).

La diferencia de resultados entre éstos 2 trabajos sobre la IBR, posiblemente se deba a lo siguiente:

a).- Este trabajo describe poca diferencia entre la mucosa nasal en comparación con la vaginal, ya que se efectuó tanto en animales aparentemente sanos, como en aquellos con antecedentes tanto respiratorios como genitales (abortos y repetición de celo). Mientras que el otro trabajo (\*7) describe una gran diferencia entre ambas mucosas, siendo más alto el porcentaje en la nasal (casi un 20% más que la vaginal), ocasionada a su vez por tratarse de una obtención de muestras únicamente en bovinos con procesos respiratorios.

b).- Se encontró mayor número de casos positivos hacia la IBR en las-

muestras obtenidas sobre los animales importados, que en aquellos en los que predominaban los animales criollos (\*7).

C O N C L U S I O N :

1).- Los resultados obtenidos en éste estudio, fueron los siguientes:

- a).- En mucosa nasal se observó un 61.2% de animales (+)
- b).- En la vaginal se detectó un 58.4% de positividad a IBR.
- c).- La incidencia real de los animales muestreados, resulta de la aparición de la fluorescencia específica en cualquiera de las 2 vías detectables (nasal o vaginal); por lo tanto, el virus de la IBR fué detectado en un 74.2%.
- d).- En fluido seminal se presentó la reacción positiva hacia el virus en cuestión, en un 44.8% del total de muestras.

2).- Tomando en cuenta la observada incidencia de la enfermedad de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en nuestro país, si se desea disminuir o erradicar dicha enfermedad, nuestras Autoridades Sanitarias deben iniciar un programa en base a lo siguiente:

- a).- Permitir la elaboración de vacunas profilácticas (virus muertos) para ser utilizadas como preventivo en granjas que no presenten problemas continuos de la enfermedad. Además, permitir la elaboración de vacunas modificadas (virus vivo) para ser aplicadas en aquellas que presenten ataques de IBR (abortos o problemas respiratorios). En su defecto, de no ser posible la elaboración del material antes mencionado, facilitar al ganadero la importación del mismo.
- b).- Iniciar una efectiva Zona de Cuarentena, impidiendo la introducción de animales positivos a IBR, ya que aunque no manifiesten clínicamente la enfermedad, van a actuar como ve

tores diseminando virus y provocando el incremento de la in  
cidencia actual del problema en cuestión.

- c).- Asimismo deben evitar la introducción de semen de aquellos-  
toros que se detecten como positivos, permitiendo únicamen-  
te los lotes extranjeros libres de dicho germen; ésto es re  
comendable, partiendo desde el punto de vista que el virus-  
en semen se transmite a la hora de inseminar; también reali-  
zar análisis de laboratorio a los lotes de semen de las ca-  
sas comerciales nacionales, para desechar o evitar la explo-  
tación de los reactores positivos.

SUMARIO:

El trabajo efectuado sobre reproductores importados (de U.S.A. o del Canada), fué llevado a cabo dentro de la cuenca lechera Jalisciense, tomando muestra de la mucosa pituitaria y de la vaginal sobre un total de 93 animales; la detección del virus de la IBR-IVP se realizó mediante la técnica de Anticuerpos Fluorescentes; obteniendo una reacción positiva en 69 (74.2%) de los animales sometidos a la prueba. Los hallazgos observados en el estudio practicados sobre 58 muestras de "Semen Comercial Congelado Bovino", reveló 44.8% de positividad hacia dicho virus; analizándolas también mediante la técnica AcF.



BIBLIOGRAFIA:

- 1).- Beck, B. E.  
Infectious Bovine Rhinotracheitis encephalomyelitis in cattle.  
Journal Vet. Canadian; 16; (sep. 1975) ; 269
  
- 2).- Blood, D. C.; Henderson, J.A.  
Rhinotracheitis infecciosa Bovina.  
Medicina Veterinaria; 4a. edición en español (1976); Editorial  
Interamericana; página 546 a 548.
  
- 3).- Boletín Zoosanitario  
Editado por la D. G. S. A. (S.A.R.H.); enero a diciembre de 1977.
  
- 4).- Brown, C. L.; Jenney, E. W.; Lee, L. R.  
Fluorescent Antibody procedures for bovine viruses.  
72<sup>nd</sup> Annual Meeting, U.S. Livestock Sanitary Association, 1968;  
pag. 470 - 477.
  
- 5.- Carrillo Díaz, F.  
Estudio serológico para la detección de Ac contra IBR, en Tlalpan y Tepozotlán, Edo. de México.  
Tesis, U.N.A.M.; 1976.
  
- 6.- Casselberry, N. H.  
Present status of immunization procedures for IBR.  
J. A. V. M. A.; 152; (march 15 1968); 853 - 856.

- 7.- Castañeda Sandoval, J. J.  
Identificación del virus de la IBR en bovinos con procesos respiratorios.  
Tesis en proceso; U. de G. (1978).
- 8.- Darcel, C. le Q.; Coulter, G. H.  
IBR virus neutralizing substance in bull seminal fluid, and its removal prior to attempts at virus isolation from semen.  
J. Vet. Canadian; 17; (dec. 1976) : 318 - 320.
- 9.- Dean, D. J.; Abelseth, M. K.  
The fluorescent antibody test.  
Laboratory Techniques in rabies; 3th ed. (1973), W. Health O.  
Pág. : 73 - 80.  
Este libro está editado por Kaplan y Koprowski, H.
- 10.- Dennet, D. P.; Barasa, J. O.; Johnson, R. H.  
Infectious Bovine Rhinotracheitis virus : studies on the veneral carriers status in range cattle.  
Research in Vet. Science; (1976) ; 77 - 83.
- 11.- Dennis Stanley M.  
Diagnosis of infections abortions in bovines.  
Vet. Med./small animal clinican; (may 1969) : 423 - 430.

- 12.- Durham, P. J. K.; Forbes-Faulkner, J. C.; Poole, W.S.A.  
IBR virus : experimental attempts to induce abortion with a  
N. Z., Strain.  
J. Vet. New Zeland; 23; (may 1975) : 93.
- 13.- Gibbs, E. P. J.; Rweyemamu, M. M.  
Bovine Herpesvirus, Part 1.  
The Vet. Bulletin; 47; (may 1977) : 317 - 329.
- 14.- González Velazquez, R.  
Contaminación bacteriana del semen congelado de ganado bov. leche  
Tesis, U. de G.; (sept. 1976).
- 15.- Gratzek, J. B. ; Jenkins, R. A.; Chenekaty, P. P.; Ramsey, K.  
Isolation and characterization of a strain of IBR virus associated  
with enteritis in cattle : comparative developmental study by fluo-  
rescent antibody tracing, and electron microscopy.  
J. A. Vet. Research; 27; (nov. 1966) : 1573 - 1582.
- 16.- Jensen, R.; McKey, D.  
Rinotraqueitis Infecciosa Bovina.  
Enferm. de los bovinos en corrales de engorda.  
1ª edición en español; editorial Uteha (1973) : 6 - 14.

- 17.- Jubb, K. V. F.; Kennedy, P. C.  
IBR ("A") e IVP ("B")  
Pat. de los anim. domésticos; edición en español (1973);  
editorial Labor; páginas : "A" = 190 - 194; "B" = 641 - 642.
- 18.- Kennedy, P. C.; Richards, W. P. C.  
The pathology of abortion, caused by the virus of IBR.  
Pathology Vet.; edit. 1964; 1: 7 - 14.
- 18<sup>2</sup>1.- Kolar, J. R.; Schemeister, I. L.; Kammlade, W. G.  
Use in cattle of formalin-killed polyvalent vaccine with  
adjuvant against IBR, DVR y PI-3 viruses.  
Am. J. Vet. Research; 33; (jul 1972) : 1415 - 1426.
- 19.- Lejeune, J. M.; Hart, L. T.; Larson, A. D.; Seger, C. L.  
Microimmunodiffusion test for detection of antibodies to IBR  
virus in bovine serum.  
J. A. Vet. Research; 38; (april 1977) : 459 - 465.
- 20.- Lucas Palacios, E. de  
Diagn. de IBR por la prueba de inmunodifusion y aglut. capilar.  
Tesis; U. de G.; julio 1975.

- 21.- Martell Delgado, M.  
La IBR e IVP en México  
Artículo en vías de publicación (1972); tiene sus Bibliografías.
- 22.- Martell Delgado, M.  
IBR e IVP  
Comunicación personal (26 de mayo 1978).
- 23.- Martell Delgado, M.; Leon Soto; Castellanos, L.  
IBR virus isolated from two epizootics in Mexican dairy cattle.  
Vet. Med./small clinican agric. practice; Aug. 1974 : 1045 - 1048.
- 24.- McKercher, D. G.  
Comments on infectius Bovine Rhinotracheitis.  
J. A. V. M. A.; 152; 15 march 1968; 760 - 761.
- 25.- Mc. Kercher, D. G.; Bibrack, B.; Richards, W. P. C.  
Effects of the IBR virus on the central nervous system of cattle.  
J. A. V.M. A.; 156; (15 may 1970) : 1460 - 1467.
- 26.- Merchant, I. A.; Packer, R. A.  
Herpesvirus ("A") e IBR ("B").  
Bacter y Virologías Vet.; 3ª edición en español (1970)  
Páginas : "A" = 642; "B" = 645 - 646.

27.- Miller, R. B.

A summary of some of the pathogenic mechanisms involved in bovine abortion.

J. Vet. Canadian; 18; (April 1977) : 87 - 95.

28.- Nyaga, P. N.; Kamminjolo, J.; Omuse, J. K.; Mutiga, E. R.

IBR-IVP isolates from cattle with epididymitis and vaginitis.

J. A. V. Research; 36; (Jan. 1975) : 123.

29.- Pastas, V. P.; Meyle, A. I.

Pustular Vulvovaginitis infection in a herd.

J. A. V. M. A.; 148; (10 Feb. 1976) : 276.

30.- Reed, D. E.; Bicknell, E. J.; Larson, C. A.; Knudtson, W. U.; and Kirkbride, C. A.

Infectious Bovine Rhinot. virus-induced abortion : diagnosis by -  
fluorescent antibody technique.

J. A. V. Research; 32; (Sept. 1971) : 1423 - 1426.

31.- Reyes Jimenez, J.

Resultados de la utilización de un conjugado fluorescente contra  
Bronquitis Infecciosa Aviar, frente al virus de la G.E.T. porcina  
Tesis; U. N. A. M. ; 1976.

32.- Ruiz Díaz, R.

IBR como causa de aborto en México

Técnica Pecuaria (editada por la S. A. G.); julio a enero 1971

Páginas 15 - 16.

33.- York, C. J.

J. A. V. M. A. ; 152; (15 march 1968) : 758 - 760