

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Presencia de Anticuerpos Inhibidores de la Hemaglutinación para el Virus de la Parainfluenza 3 en Bovinos de 6 Estados de la República.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ALVARO FERNANDO GUTIERREZ VILLASEÑOR

GUADALAJARA, JALISCO 1973

INTRODUCCION.

Hablando de las infecciones del aparato respiratorio de los bovinos, es necesario aclarar algunos términos que resultan confusos por haber sido usados indistintamente para denominar los padecimientos con cuadros respiratorios, ellos son:

A).- Septicemia Hemorrágica: A consecuencia de los trabajos de Ligniers, aparecidos hacia 1900, se tendía a considerar sinónimos los términos "Pasteurelosis" y "Septicemia Hemorrágica". Sin embargo, pronto resultó evidente que muchas infecciones producidas por Pasteurellas no eran Septicemias hemorrágicas e inversamente, que muchos casos considerados patológicamente septicémicas hemorrágicas no eran ocasionados por Pasteurellas. Esto hizo caer en descrédito este último término especialmente en Norte América donde su significado se había extendido hasta incluir la "Shipping Fever" - - (Fiebre de Embarque), una enfermedad de etiología compleja y probablemente variable. Muchos Bacteriólogos y Veterinarios quisieran abolir la denominación septicemia hemorrágica y -- sustituirla por Pasteurelosis, lo cual quizá sería simplificar demasiado las cosas. En Asia Tropical se entiende por Septicemia Hemorrágica casi siempre una infección aguda, generalmente de los bovinos en los búfalos, muy mortal en los casos clínicos causada invariablemente por un tipo de Pasteurella multocida.

Debieran emprenderse estudios de un gran número de cepas para determinar si es o no conveniente una reclasificación, con lo que la Septicemia Hemorrágica sería un tipo particular de Pasteurelosis, al igual que la tifoidea es un tipo particular de Salmonelosis.

En los casos de Septicemia Hemorrágica no se ha encontrado más microorganismo patógeno específico que Pasteurella. El esfuerzo y las infecciones leves se han considerado factores que pueden precipitar la enfermedad.

La enfermedad se previene adecuadamente mediante vacunas dirigidas exclusivamente contra la Pasteurella del tipo I, y los casos clínicos si se tratan a tiempo, pueden curarse con la quimioterapia adecuada para este microorganismo (2).

B).- Complejo Respiratorio Bovino, Fiebre de Embarque, Neumonía Enzootica de los Bovinos (no parasitaria), Enfermedad Respiratoria, etc.

La hipótesis que predomina actualmente es que se trata de una combinación de tensión (stress) e infección. Hasta el presente ocho o más virus y gran variedad de bacterias han sido considerados como agentes que contribuyen a la presentación del cuadro de Fiebre de Embarque (16).

Según Charton et al. 1970 (6), si los Rinovirus por una parte parecen tener circunscrita su intervención como patógenos a las vías respiratorias superiores, Reovirus, Adenovirus, Paramixovirus (PI3), Herpesvirus (IBR) y Virus de la Enfermedad de las Mucosas o de la Diarrea Viral Bovina (BVD) parecen bien capaces de tener, en muchas enzootias el papel de iniciadores cuando menos neumopatías y neumoenteritis. La demostración de este papel se basa en los resultados obtenidos en diversos laboratorios por: 1) Investigación del poder patógeno experimental, 2) Control de la cinética de anticuerpos en hatos donde se ha aislado algún virus, 3) Encuestas serológicas sistemáticas en lugares donde se sospecha la presencia de estos virus, y 4) Vacunaciones experimentales.

Cole, 1970 (7) aisló en Queensland una cepa de Adenovirus, el RG, del que supone que en proceso neumónico su invasión es secundaria.

Enterovirus han sido aislados de becerros con enfermedades respiratorias pero su poder patógeno ha sido reconocido sólo experimentalmente y en condiciones especiales. En situación similar se encuentran los virus Enterico Hemadsorbentes (HADEN), Respiratorio Sincitial y el de la influenza tipo A (14).

La importancia de las bacterias es difícil de determinar. Según Ide, 1970 (14) Bacterias patógenas como son Corynebacterium pyogenes, Actinobacillus actinoides, Staphylococcus aureus, E. Coli, miembros de los géneros Pasteurella y Haemophilus, aisladas de brotes de campo, han fallado en producir Neumonía, siendo inoculadas por vía intratraqueal, por lo que no se les considera patógenos primarios respiratorios. De la observación sobre el género Haemophilus debe excluirse el H. somnus que entre otros procesos patológicos causan neumonía como agente primario (3).

Chlamidia y Micoplasma se han aislado de casos de campo con síntomas respiratorios y su patogenicidad está fuera de duda (14).

C).- Parainfluenza 3, Rinotraqueitis Viral Bovina, - Diarrea Viral Bovina, enfermedad de la mucosa y complejo Haemophilus somnus.

El virus de Parainfluenza 3 es capaz por sí mismo de provocar enfermedad en animales de todas las edades, y permitir la identificación de la afección como infección por Parainfluen

za 3 y lo mismo ocurre en las demás enfermedades incluidas en este inciso.

Por algún tiempo se consideró al Virus de la Parainfluenza como el patógeno más importante dentro de la Fiebre de Embarque, Brown et al. 1970 (3) sugieren en sus trabajos que el Haemophilus somnus tiene cuando menos la misma importancia.

Infección por Virus Parainfluenza 3 en Bovinos.

Se sospechaba la presencia de los virus como desencadenantes o como causantes de la Fiebre de Embarque; fue en 1959 cuando Reinsiger et al. (21) encontraron por primera vez el virus de la Parainfluenza 3, el aislamiento se hizo de moco nasal de animales que mostraban signos clínicos de Fiebre de Embarque en los Estados Unidos de Norte América; poco después de conocerse el Mixovirus Parainfluenza 3 de los humanos y como no se encontraron idénticos, se reconocieron como Parainfluenza 3 Variedad bovina y Parainfluenza 3 Variedad humana.

Hasta el presente son válidas las observaciones hechas de las diferencias antigénicas de las cepas encontradas en humanos y las de los animales, al grado que el tipo humano de la Parainfluenza 3 no ha sido encontrado en los animales domésticos que conviven estrechamente con el hombre, cuando éste sufre la infección; así mismo tampoco hay evidencia de que los virus aislados de los becerros y los caballos sean del tipo humano, más bien ellos son antigénicamente distintos de los tipos virales Parainfluenza 3 humanos (5).

PODER PATOGENO.

La variedad bovina de Parainfluenza 3 ha sido considerada responsable o presunta responsable de algunos procesos pa-

tológicos; posiblemente el menos notorio sea el más frecuente e importante "Consiste en una enfermedad respiratoria leve, escasa elevación de la temperatura corporal, tos suave, ligera rinitis, depresión moderada, lagrimación y anorexia" (23, 27).

La infección por este virus es una enfermedad extremadamente leve, factores adicionales de tensión e infección secundaria pueden precipitar el síndrome de enfermedad respiratoria Fiebre de Embarque en becerros expuestos al virus (18). El virus lesiona los tejidos respiratorios lo suficiente como para permitir la intervención de bacterias (23). Con una infección aunque no se complique siempre habrá pérdida en la ganancia de peso de los animales en crecimiento o engorda (27). El virus - Parainfluenza 3 se ha propuesto como relacionado con la presencia de abscesos pulmonares (29). En animales infectados se ha encontrado neumonitis manifestada por áreas extensas de consolidación roja. Experimentalmente las lesiones encontradas son -- congestión, bandas de fibrina en los pulmones y exudado mucopurulento en los bronquios(11)El examen Histológico revela hiperplasia linfoide en los ganglios retrofaríngeos (30). La recuperación viral (PI3) de fetos abortados indujo a investigaciones acerca de la habilidad del virus para producir muerte fetal y -- fue comprobada (28).Se aprecia simultáneamente con el periodo-- do febril una leucopenia.(8)

DISTRIBUCION.

Las infecciones de Parainfluenza 3 demostradas por varios métodos, entre los que predomina la inhibición de la hemaglutinación, en Asia Schaal (25), Africa Kalunda (15), Australia Cole (7), América del Sur Candéias (4), América del Norte -- Hoerlein Et al, Ide, Reisingen et al (14), (13), (21), etc., -- Europa, Schaal (25), son evidencias de la amplia difusión del -- virus.

Estudios hechos en sueros obtenidos de animales de -- abasto, revelan la presencia de anticuerpos antiparainfluenza 3 en el 70% de los bovinos llevados al rastro en los E. U. A.(1). Por otra parte Reed 1972 (20), comunica en Dakota del Sur 73% - de muestras serologicamente positivas como promedio de 60 granjas y en la Universidad de Arizona halló el 80-81% serológica-- mente positivos en 1971 y el 96-98% positivos en 1972, estas -- pruebas fueron efectuadas en dos granjas.

IMPORTANCIA ECONOMICA.

Se ha visto que los animales vacunados con virus Para influenza 3 tienen mejor ganancia en peso que los controles no vacunados (26).

La incidencia en los hatos es generalizada, puede - - afectar el 100% de la población (19) y por lo tanto significar grandes pérdidas económicas si sumamos los efectos en conver-- sión alimenticia individuales. Algo parecido puede ocurrir en ganado lechero, aunque al respecto no encontramos citas biblio-- gráficas.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.

Por muchos años se han importado pies de cría del extranjero, en especial de E.U.A. y Canadá donde está comprobada la presencia del virus Parainfluenza 3, y además "El período re lativamente largo de retención del virus en el tracto respirato rio, aumentaría la importancia de animales infectados en la - - transmisión natural de la enfermedad por la ruta respiratoria - (30)". Las importaciones posiblemente sean fuentes de virus, - pero lo más factible es que en México existiera la enfermedad,

debido a sus características epizoóticas. Por otra parte, una enfermedad nueva en una población susceptible sería lo suficientemente notoria como para motivar investigaciones en torno a -- ella.

Los objetivos de las pruebas a realizar:

A).- Demostrar la infección por virus Parainfluenza 3, variedad bovina en México, por medio de la detección de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación.

B).- Su difusión en diferentes áreas ganaderas.

MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL:

Sueros: Las muestras de suero se obtuvieron de diferentes áreas ganaderas y varios tipos de explotación en la República, se reportan por grupos según al estado que corresponden y quedaron constituidos de la siguiente forma:

	NUMERO DE MUESTRAS:
COLIMA:	
Armería: establo.	10
Colima: engorda.	9
Tecomán: ganado de campo.	8
CUIHUAHUA:	
Ciudad Delicias: establo (1).	25
GUANAJUATO:	
León: establo.	10
San Francisco del Rincón: establo.	25
JALISCO:	
Ameca: establo.	24
Guadalajara: rastro.	26
Lagos de Moreno: establo.	15
Mascota: establo.	20
Sayula: establo.	10
Tapalpa: establo.	9
Tonalá: establo.	5
Zapopan: establo.	7
SONORA:	
Alamos: estación cuarentenaria (1).	8
Bacabampo: establo.	9
Ciudad Obregón: establo.	9
Guaymas: engorda (1).	9
Huatabampo: establo.	8
YUCATAN:	
Mérida: establo (1).	20

(1) Enviados con Timerosal (Lab. Lilly) 1 : 10,000 como preservativo.

Antígeno: Bovine Rhinotracheitis-Parainfluenza 3 - -
Vaccine. Rhivax P. Pitman-Moore, Inc. Washington Crossing, N.
J. 08560.

Eritrocitos: Se usaron glóbulos rojos de cobayo al 0.5%, 5% y
50%, después de lavarse por tres ocasiones con solución salina
tamponada, pH 7.2 (Buffer fosfatos).

Caolín: Caolín técnico, polvo quemado y lavado. J.T. Baker, S.
A. de C. V. Ecatepec, Estado de México.

Tampones:

Salino boratado.- pH 9 (9)

- 1.- 1.5M Na Cl ----- 80 ml.
 - 0.5M H₃ B O₃-----100 ml.
 - 1.0M Na O H----- 24 ml.
- Ajustar a 1,000 ml.

Salino fosfatado.- pH 7.2

- 1.- Fosfato monobásico de sodio anhidro 8.00 gramos -
por litro de agua.
- 2.- Fosfato Dibásico de sodio 9.47 gramos de la base
anhidra por litro.
- 3.- Hacer un litro con 300 ml. de la solución 1 y - -
700 ml. de la solución 2; agregar 8.5 gramos de -
cloruro de sodio

MÉTODOS:

Tratamiento de Sueros: Los tratamientos de los sue--
ros se hacen con el fin de eliminar inhibidores inespecíficos -
de la hemaglutinación, y aglutinaciones causadas por aglutini--
nas séricas (1, 10, 24).

1.- Suspender caolín al 25%, lavado al ácido en la so
lución salina tamponada y boratada, precedente; preparar:

Suero - - - - - 1 volumen
Tampón salino boratado - - - - - 4 volúmenes
Suspensión boratada de caolín - - - 5 volúmenes

Se deja reposar 20 minutos a temperatura del laboratorio y centrifugar a 1,000 g. por media hora. El sobrenadante se decanta y corresponde a la dilución del suero 1:10 (9).

2.- Inactivar a 56 grados centígrados por 30 minutos (10).

3.- Dejar los sueros por toda la noche con hematíes de cobayo al 50%, en una proporción de un volumen de glóbulos rojos por 20 de suero, la temperatura requerida para esta reacción es de 4 grados centígrados (24). Se siguió considerando la dilución como 1:10, del sobrenadante obtenido de la centrifugación.

Antígeno: Se inoculó a embriones de pollo de 8 a 10 días de edad por la vía intra-amniótica y se cosechó a los 5 días post-inoculación, únicamente de los embriones vivos y positivos a la prueba rápida en placa. Con esto se logra eliminar el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (17). Se probó contra un suero de conejo previamente vacunado y que tenía un título de inhibición de la hemaglutinación 1:80 y contra un suero de gallina, con el mismo título para el virus de la enfermedad del Newcastle. Los resultados de estas pruebas nos hicieron confiar en que estábamos utilizando el antígeno adecuado.

La reacción de inhibición de hemaglutinación pone en contacto cuatro unidades hemaglutinantes de virus en un volumen de 0.5 ml. ; el diluyente del antígeno es el tampón salino fosfado.

Eritrocitos: Para el paso 3 del tratamiento de sueros, se usaron glóbulos rojos al 50%, al 5% para las pruebas rápidas en placa, al momento de la cosecha del virus y al 0.5% en un volumen de 0.25 ml. para las pruebas de inhibición de la hemaglutinación.

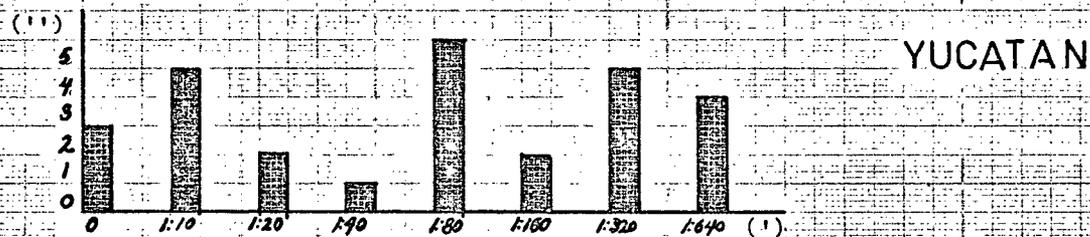
R E S U L T A D O S .

CHIHUAHUA

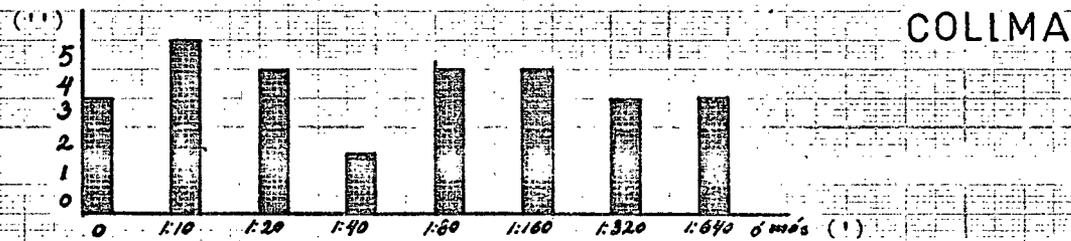


(1) Título máximo hasta el que se inhibió completamente la hemaglutinación.

(2) Número de muestras (unidades).



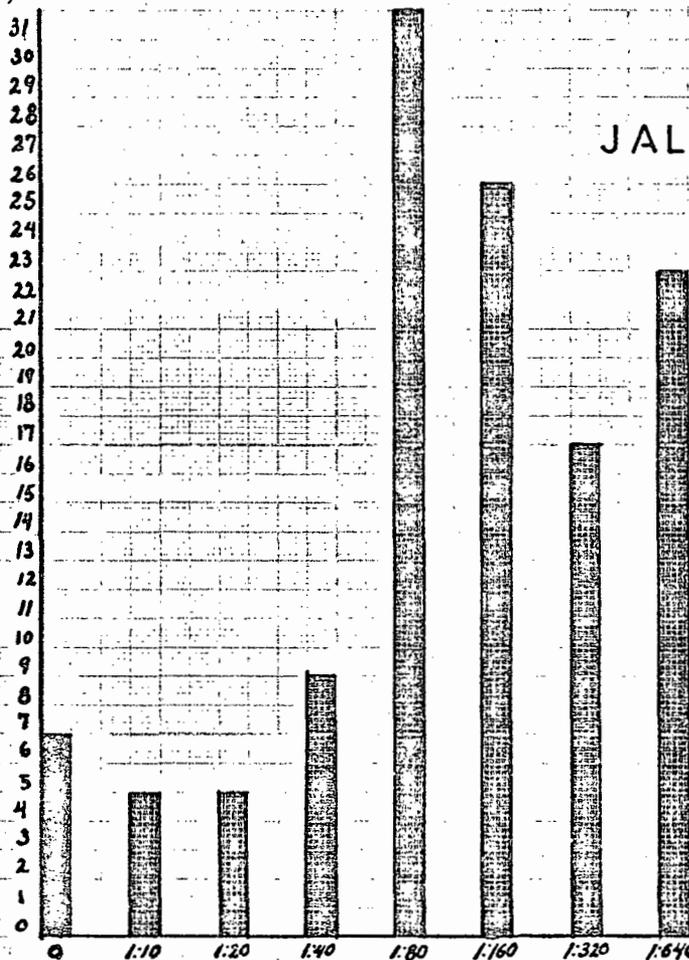
GRAFICA NUMERO 3



(1) Título máximo hasta el que se inhibió completamente la hemaglutinación.

(11) Número de muestras (unidades)

(1)



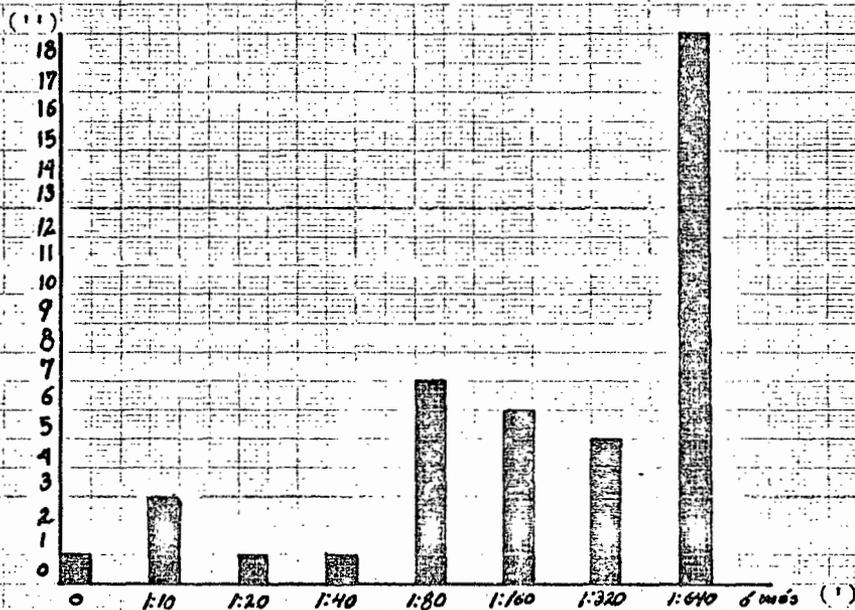
JALISCO

(1) Título máximo hasta el que se inhibió completamente la hemaglutinación.

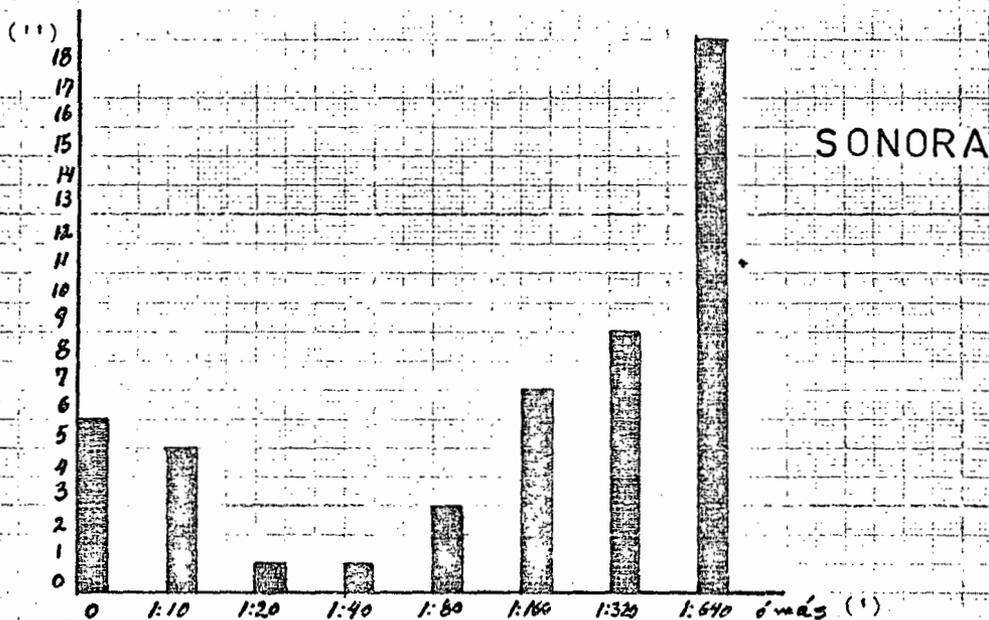
(2) Número de muestras - - (unidades).

más (1)

GUANAJUATO



(¹) Título máximo hasta el que se inhibió completamente la hemaglutinación.
 (¹¹) Número de muestras (unidades).



(1) Título máximo hasta el que se inhibió completamente la hemaglutinación.
 (1) Número de muestras (unidades).

RESUMEN DE RESULTADOS.

En las 20 explotaciones estudiadas se encontraron - niveles de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación superiores a 1:20.

El porcentaje sobre todas las muestras fue de 86.47% sueros que inhibieron la hemaglutinación en una dilución del suero de 1:20 o más.

D I S C U S S I O N .

Antígeno: Uno de los factores a tomar en cuenta, al reproducir el antígeno, es la posible interferencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, en la multiplicación -- del virus Parainfluenza 3 en el embrión de pollo, de tal manera que los títulos del Parainfluenza 3 fueran bajos, o no hubiera reproducción, o bien que en el momento de la reacción antigena (PI3) y su anticuerpo (anti PI3), se produjera otra reacción -- (IBR-anti IBR) que nos diera títulos equivocados. Marshall --- 1964. (17), en un estudio comparativo entre aislamiento de virus Parainfluenza 3 en embrión de pollo y cultivo de tejidos (células de riñón embrionario bovino) hace las siguientes observaciones que son interesantes para nosotros: A) Los embriones fueron más frecuentemente infectados que los cultivos de tejidos inoculados con el mismo material. B) El virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina no interfiere con el aislamiento de virus Parainfluenza 3 en huevos embrionados, y no se demostró su presencia en líquido amniótico.

Valoración de la Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación: La presencia de anticuerpos neutralizantes en un suero y la cinética de los mismos, forma gráficamente una curva que puede ser superpuesta a la de los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación sin obtener con ello diferencias (9).

Corresponde a la prueba de anticuerpos neutralizantes una escasa significación práctica para diagnóstico de hatos infectados, debido a que es una técnica que requiere tiempo y gasto de material, además el conocimiento de anticuerpos neutralizantes como ilustrativo de una fase aguda de la infección, no es mejor que la determinación de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (25).

La mayor parte de los investigadores que hacen pruebas de inhibición de la hemaglutinación para virus de la Parainfluenza 3, dan como significativos de contacto con el virus los

títulos 1:20 o mayores, utilizando volúmenes de suero de 0.25 ml.

Frank 1966 (10), después de comparar títulos entre -- becerros expuestos al virus y becerros aislados y privados de -- calostro, concluye que los títulos mayores que 1:8 deben tomarse como evidencia de contacto con el virus, en pruebas de inhibición de la hemaglutinación, siempre y cuando los sueros se hallan tratado con caolín y calor (56 grados centígrados por 30 minutos), método que fue seguido por nosotros. El volumen de suero en contacto con el antígeno durante sus pruebas fue de -- 0.25 ml.

Por la inexactitud de la medición en las pipetas utilizadas, preferimos standarizar los volúmenes en 0.5 ml. Con lo que aritméticamente la dilución hecha por nosotros equivale a la mitad de la que ponen los autores antes mencionados, por lo tanto, dos volúmenes de la dilución 1:20 son igual a la dilución 1:10, 1 volumen, por eso seguimos considerando que los sueros que inhiben la hemaglutinación 1:20 son positivos, y no los 1:10, que serían los más aproximados a la dilución 1:8 mencionada por Frank.

Los datos obtenidos en este estudio nos hacen pensar en que la gran cantidad de animales que padecen enfermedades -- respiratorias, pueden estar relacionadas en parte con las infecciones por virus Parainfluenza 3, y que si lo consideramos como el patógeno más importante de la Fiebre de Embarque, como se ha hecho en los E.U.A., podríamos responsabilizarlo de grandes pérdidas económicas en la ganadería del País; puesto que además -- de su morbilidad tan alta, tiene una difusión del 100% sobre -- los hatos estudiados.

C O N C L U S I O N E S .

CONCLUSIONES.

1.- En todos los Estados y en cada una de las explotaciones, se encontraron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación, que indican que un 86.47% de los animales muestreados sufrieron naturalmente infección por virus Parainfluenza 3.

2.- Este estudio debe ampliarse a zonas no abarcadas en él, intentarse el aislamiento del virus y determinar finalmente cuál es la verdadera importancia económica de la enfermedad, con el fin de seleccionar adecuadamente las medidas profilácticas para contribuir a reducir las mermas económicas causadas por las infecciones respiratorias debidas al virus de la Parainfluenza 3.

R E S U M E N .

Algunos virus, entre otros el de la Parainfluenza 3, parecen tener en muchas enzootias el papel de iniciadores cuando menos, en neumopatías y neumoenteritis (6).

El virus de la Parainfluenza 3 es capaz por sí mismo de producir enfermedad, y la infección por él provocada es identificable por varios métodos.

El material probado comprendió 266 sueros de 20 explotaciones en seis Estados de la República. Las muestras se obtuvieron de rastros, establos, engordas, estaciones cuarentenarias y animales de campo. La técnica usada fue la de inhibición de la hemaglutinación, sometiendo los sueros a tratamiento para evitar reacciones inespecíficas de inhibición de la hemaglutinación y de aglutinación de hematíes. Tanto los diluentes de sueros, como los de antígeno y eritrocitos, fueron soluciones salinas tamponadas.

Los resultados fueron positivos a la inhibición de la hemaglutinación en todas las explotaciones de los seis Estados (Colima, Chihuahua, Guanajuato, Jalisco, Sonora y Yucatán), con un porcentaje sobre todas las muestras de 86.47% con niveles de anticuerpos significantes de que los animales estuvieron en contacto con el virus.

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

- 1.- Abinanti, F.R. Hoerlein, A.B. Watson, R. L.; and Huebner, R. J. Serologic Studies of Myxovirus Parainfluenza-3 in Cattle and the Prevalence of Antibodies in Bovines, J. Immunology, vol. 86 (1961) 505.
- 2.- Bain R. S., La Septicemia Hemorrágica. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma 1965.
- 3.- Brown L. N. et, al. The Haemophilus Somnus Complex. Proceedings of 74th Annual Meeting U. S. Animal Health Association 1970. 94-108.
- 4.- Candeias, JA.N. and Ribeiro, L.C. (1970) Haemagglutination-inhibiting to Strain SF4 and HA 1 of Myxovirus in Cattle in Sao Paulo State; Arq. Inst. Biol., S. Paulo 37, 129-135.
- 5.- Chanock, Robert M. Comunicación Personal. Febrero 9 de 1973.
- 6.- Charton A., Faye P., Lecoanet J., Pneumopathies Virales -- Chez Le Veau en France. XIX Congreso Mundial de Med. Vet. y Zoot. Mex. D. F., (1971) Secc. 10 Vol. 1 (304-307).
- 7.- Cole, A.M. The Aetiology of Calf Pneumonia in Queensland - Australian Vet. J. Vol. 46, Dec. 1970.
- 8.- Dawson, P.S. Calf Pneumonia Caused by Parainfluenza-3 Virus. Vet. Rec 76 (15): 434-435, 1964.
- 9.- Faye, Pane. Comunicación Personal. 25 Septiembre 1972.
- 10.- Frank, G. H. A Hemagglutination- Inhibition Test for Parainfluenza 3 Virus antibodies. Proceedings Seventieth - Annual Meeting of the U. S. Livestock Sanitary Association. 59-66., 1966.
- 11.- Frank, Glynn H. and Ronald G. Marshall. Relationship of -

- Serum and Nasal Secretion-Neutralizing Antibodies In ---
Protection of Calves Against Parainfluenza-3 Virus. Am.
J. Vet. Res. Vol. 32 No. 11.1707-1713.
- 12.- Haralambiev, H. and Beltshev, D. C. (1970). Aetiology -
of Respiratory Diseases of Calves in Bulgaria. Acta Vet.
Hung 20, 245-249.
 - 13.- Hoerlein A. B., Mansfield M.E., Abinanti F. R., Huebner
R. J. Studies of Shipping Fever of Cattle. I. Para-In--
fluenza-3 Virus Antibodies in Feeder Calves. J. A. V. M.
A. Vol 135 No. 153-160 (Aug. 1959).
 - 14.- Ide P. R., The Etiology of Enzootic Pneumonia of Calves.
Can. Vet. Jour Vol. 11 No. 10, 194-202. (October 1970).
 - 15.- Kalunda, M. (1970) Serological Evidence for Widespread -
Infection of East African Cattle By Parainfluenza 3 Vi--
rus. Trop. Anim. Hlt. 2, 90, 94.
 - 16.- Kiesel G. K., Rossi C. R. Alexander R. D., Brooks G. G.
A Study of Weaning, Acclimatization, and Limited Vaccina
tion of the Incidence of Respiratory Disease Complex In
Cattle. The Cornell Vet. January 1972.
 - 17.- Marshall R. G. Isolation of Bovine Parainfluenza 3 Virus
in Chick Embryos. J. of Bacteriology Vol. 88 Jul. 1964,
No. 1 267-268.
 - 18.- Mc. Kercher D. G., Saito J. K., Franti C. E., Wada E. M.
Crenshaw G. L. Response to Parainfluenza 3 Vaccines Admi
nistered Nasally or Parenterally. Am J. Vet. Res., Vol.
33 No. 4.
 - 19.- Moretti B. La C. D. "Influenza Dei Bovini". Archivio Ve
terinario Italiano. Vol. 23 No. 2., 30 Aprile 1972. 5-
84.
 - 20.- Reed D. E. Comunicación Personal. 18 Diciembre 1972.

- 21.- Reisinger Robert C., Heddleston K. L., Manthei C. A., J. A. V. M. A. A Myxovirus Associated With Shipping Fever of Cattle. Vol. 135, No. 3 (Aug. 1959) 147-152.
- 22.- Rosenquist B. D., English J. E. Johnson D. W., Loan R. W. Mixed Viral Etiology of a Shipping Fever Epizootic in Cattle. Am. J. Vet. Res., Vol. 31 No. 6 (June 1970) 989-994.
- 23.- Runnells, R. A., Monlux, W. S., Monlux, A. W. Principios de Patología Veterinaria. Cia. Editorial Continental. 7a. Edición, Traducción 1969. Pag. 497.
- 24.- Schell K., Sanderson R. P., Whalen J. W. and Bittle J. L. The Antigenicity of Multivalent Vaccines for Bovine Respiratory Disease. The Cornell Vet. Jan. 72 101 - 109.
- 25.- Schaal E. Ernst H., Riedel F., and Kraeber A., Vergleichende Untersuchungen über die Anwendbarkeit der Komplementbindungreaktion (KBR) und des Serumneutralisationstestes (NT) zur Diagnose der Parainfluenza 3 (PI 3) Infektion des Rindes. Zbl. Vet. Med., B- 16, 608-619, 1969.
- 26.- Steves F.E., Baker J. D. Intranasal Inoculation of Feedlot Calves With Telc Strain Parainfluenza-3 Vaccine. Veterinary Medicine Small Animal Clinician Vol. 65 No. 4 (April - 1970) 333-335.
- 27.- Sweat R. L. Epizootiologic Studies of Bovine Myxovirus Parainfluenza 3, J.A.V.M.A., Vol. 150 No. 2 178-183 (Jan. 15 1967).
- 28.- Swift B.L., Kennedy P.C. Experimentally Induced Infection of In Utero Bovine Fetuses With Bovine Parainfluenza 3 Virus. Am. J. Vet. Res. Vol. 33 No. 1. 57-63 (Jan. 1972)
- 29.- Walker D.F. Possible SF4 Virus Relation to Pulmonary Abscess Auburn Vet. 19 (2): 70-71, 1963.
- 30.- Woods G. T. Transmission of Bovine Parainfluenza 3 Virus. Am. J. Vet. Res. 25 (107) : 1021- 1026, 1964.

AGRADECIMIENTOS.

A LOS M.V.Z.:

Eneas Rendón Ruiz.
Ramón Fernández de Cevallos.
Javier Rivera Hernández.
Eduardo Nevares Salas.
José M. Castañeda Ramírez.
Ignacio de Jesús Beas N.
Eduardo Gutiérrez Padilla.
Guillermo Valtierra Alvarez.

A LOS P.M.V.Z.:

Juan M. Carrillo García.
Ramón Lopez Murguía.
Francisco Preciado de la Torre.
Ernesto Zamora Nuño.
Sin la ayuda de los cuales no hubiera sido posible la
realización de este trabajo.