

**EL VIRUS DE LA RINOTRAQUEÍTIS
INFECCIOSA BOVINA
(*BOVID HERPESVIRUS 1*):
PROPIEDADES Y VACUNACIÓN**

J. ÁLVARO AGUILAR SETIÉN

*División de Inmunología
Unidad de Investigación Biomédica (IMSS)
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias
(SARH)*

I. Introducción.....	162
II. Propiedades del virus.....	164
1. Propiedades biofísicas.....	164
2. Propiedades bioquímicas.....	167
a) Proteínas estructurales	167
b) Proteínas no estructurales	168
c) El ácido nucleico.....	168
3. Propiedades biológicas.....	170
a) Células susceptibles	170
b) Replicación	171
c) Relaciones antigénicas.....	173
d) La diferenciación entre cepas.....	174
e) La latencia.....	175
4. Aspectos clínicos y epizootiológicos.....	176
a) Susceptibilidad.....	176
b) Formas clínicas.....	179
III. La vacunación.....	183
1. Antecedentes.....	183
2. Vacunas inactivadas no adyuvadas.....	185
3. Vacunas atenuadas de aplicación intramuscular	185
4. Vacunas "vivas" de mutantes termosensibles, para aplicación intranasal.....	186

5. Vacunas inactivadas con adyuvante oleoso.....	187
6. La vacunación como medida profiláctica.....	189
Referencias.....	190

I. Introducción

La rinotraqueítis infecciosa bovina (Infectious Bovine Rino-tracheitis (IBR) es una enfermedad contagiosa que afecta a los bovinos. Como su nombre lo indica, esta enfermedad se caracteriza esencialmente por la aparición de una rinotraqueitis exudativa que puede afectar a los bronquios mayores de los animales infectados. Las complicaciones bacterianas subsecuentes, pueden afectar el parénquima pulmonar y agravar el curso de la enfermedad. No obstante, la rinotraqueítis no es más que una de las manifestaciones clínicas que el agente causal (*Bovid herpesvirus 1 (BHV1)*) puede ocasionar. Esta forma respiratoria fue descrita por primera vez en Estados Unidos en 1954 (1, 2, 3). La reproducción experimental de los signos en bovinos susceptibles, fue hecha por Mc. Intyre en 1954 (4) y por Chow y sus colaboradores en 1955 (5), quedando establecido el carácter infeccioso de esta enfermedad. A mediados de la década de los años cincuenta, gracias a la divulgación de las técnicas de cultivos de células *in vitro*, el aislamiento del agente causal "un virus", fue luego realizado por Madin y sus colaboradores en 1956 (6) y por York y sus colaboradores en 1957 (7). A partir de este momento el estudio de la enfermedad entró en una nueva etapa. Después se realizan los primeros experimentos encaminados a la inmunización de los animales (8, 9, 10, 11, 12).

La clasificación del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina como virus herpes, se llevó a cabo en 1961 (13), ya que las características del grupo en si fueron establecidas hasta 1960 por Wildy y sus colaboradores (14). En 1981, el virus fue incluido dentro de la subfamilia *alphavirinae* que agrupa a los virus herpes que causan infecciones agudas (15).

Por otro lado, se tiene conocimiento de que en Europa, en 1841, Bauchner había descrito una entidad venérea del ganado bovino, que posteriormente Trommsdorf en 1894 identificó bajo el nombre alemán de "Bläschenausschlag" (16).

La descripción de la enfermedad hecha por estos autores del siglo pasado, corresponde a la enfermedad que en la actualidad conocemos bajo el nombre de vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV).

La etiología viral de esta enfermedad venérea del ganado bovino, fue establecida en 1928 por Reisinger y Reimann (17), quienes pudieron transmitir la enfermedad, utilizando muestras de exudados genitales filtrados con filtros que retenían a las bacterias. La identidad antigénica del virus de la vulvovaginitis pustular infecciosa con el virus responsable de la rinotraqueítis infecciosa bovina, fue demostrada, por Gillespie y sus colaboradores en 1959 (18) Y confirmada por Mc. Kercher y sus colaboradores en el mismo año (19).

Sin lugar a dudas la rinotraqueítis y la vulvovaginitis son de las formas clínicas de la enfermedad más comunes que primero fueron identificadas. No obstante, al pasar el tiempo, se demostró que otras manifestaciones clínicas, como queratoconjuntivitis, abortos, problemas digestivos, encefalitis e infecciones generalizadas en becerros eran provocadas por el *Bovid herpesvirus 1* (20, 21, 22, 23, 24).

A partir de los años sesenta se ha demostrado la presencia de la enfermedad mediante el aislamiento del virus en muchos países, por lo que podemos considerarlo como una enfermedad prácticamente mundial (22, 25, 26, 27, 28, 29).

La comunicación del primer brote de rinotraqueítis infecciosa bovina en México fue hecho por Ruiz y Cuevas en 1971 (30) y correspondió a un hato de vacas Holstein-Friesian del Estado de México. A fines de 1971 y principios de 1972 fue aislado el virus BHVI en dos brotes, uno en Atzacapotzalco, D. F., y el otro en la ciudad de Puebla, confirmándose la presencia, del virus BHVI en el país (31).

La importancia epizootiológica que ha adquirido el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (BHVI) en nuestro país en la última década, es sin lugar a dudas, muy grande. Encuestas serológicas recientes han demostrado que esta enfermedad está diseminada en las principales zonas ganaderas del país (32). La propiedad que tiene el BHVI -como muchos otros virus herpes- de instalarse en el huésped y de ser reexcretado en forma intermitente después de la infección, obstaculiza el control de la enfermedad en una área determinada (33).

IBRV: Propiedades y Vacunación

En virtud de las manifestaciones clínicas que produce en su huésped natural y por ilustrar muy bien el problema de los portadores asintomáticos, el BHV1 constituye un buen modelo en el seno de las infecciones herpéticas.

Este virus ha sido objeto de numerosas publicaciones, dada su distribución universal, y también por las pérdidas económicas que produce en el ganado bovino.

Varios estudios llevados a cabo en los últimos años, han permitido un mejor conocimiento de las propiedades bioquímicas y biológicas del BHV1 (34). Si bien estos estudios no han sido tan exhaustivos como en el caso de los virus herpes que afectan al ser humano, sí nos exponen actualmente un panorama más amplio sobre las dificultades y posibles soluciones que presenta el control de la enfermedad en una área determinada (34).

El presente trabajo tiene como objeto el exponer algunos avances que se han logrado en el conocimiento del BHV1.

II. Propiedades del virus

1. *Propiedades biofísicas*

El virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina con parte las características morfológicas del grupo herpes. Estas características han sido objeto de revisiones bibliográficas muy bien documentadas (15, 35, 36). El tamaño de las partículas completas del *Bovid herpesvirus 1* ha sido estimada en aproximadamente 150 nm (36, 37).

El virus está constituido por un núcleo central que contiene al genoma ligado a ciertas proteínas. El núcleo está rodeado por una cápside icosaédrica de 108 nm de diámetro (38). Esta cápside se compone de 162 capsómeros que tienen un diámetro menor a los 10 nm. Estos capsómeros se encuentran atravesados en su eje longitudinal por un canal de 3.5 a 4 nm de diámetro.

La cápside está rodeada por una envoltura compuesta de dos capas concéntricas: el tegumento y la membrana externa; la cual presenta proyecciones hacia el interior, es decir, hacia el tegumento (15, 39) (Fig. 1).

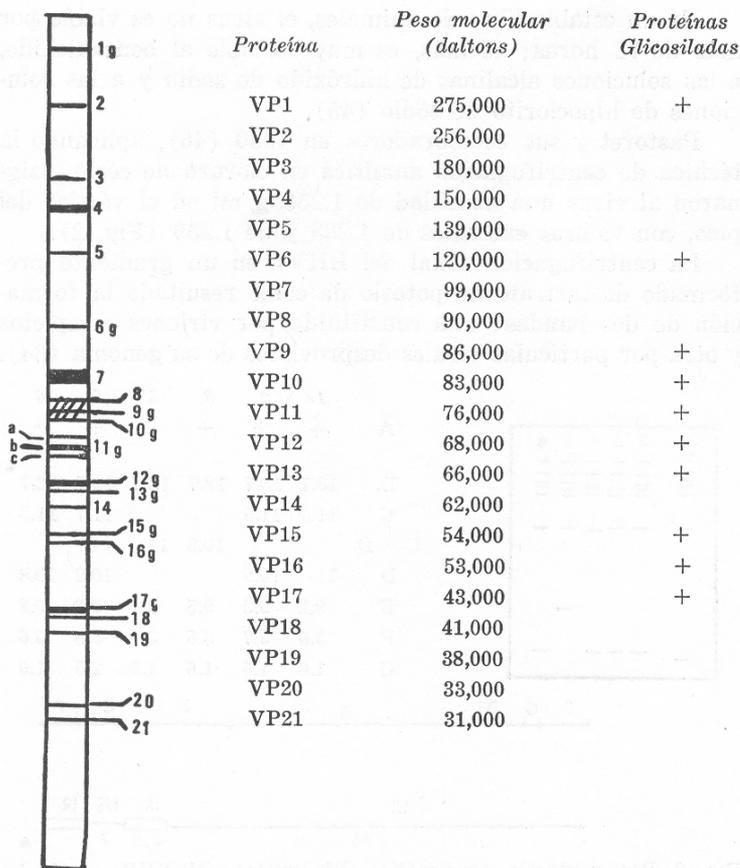


FIG. 1. Representación esquemática y peso molecular (daltons), de los diferentes polipéptidos estructurales del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (BHV1).

El virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina, es sensible al éter, al alcohol y a la acetona (40, 41). Es más estable a un pH igual o un poco superior a la neutralidad (40).

Donaldson y Ferris en 1976 (43), Elazhary y Derbyshire en 1979 (44), estudiaron la viabilidad del virus en aerosoles en relación con la humedad relativa y demostraron su sensibilidad a los efectos de tensión y superficie, concluyendo que el *Bovid herpesvirus* 1, es muy sensible al medio exterior.

En un establo libre de animales, el virus no es viable por más de 72 horas; además, es muy sensible al benzaldehido, a, las soluciones alcalinas de hidróxido de sodio y a sus soluciones de hipoclorito de sodio (45).

Pastoret y sus colaboradores en 1980 (46), aplicando la técnica de centrifugación analítica en cloruro de cesio, asignaron al virus una densidad de 1.250 *g/ml* en el vértice del pico, con valores extremos BHVI en un gradiente preformado de tartrato de potasio da de 1.233 y de 1.259 (Fig.2).

La centrifugación zonal del como resultado la formación de dos bandas: una constituida por viriones completos y otra por partículas virales desprovistas de su genoma (34).

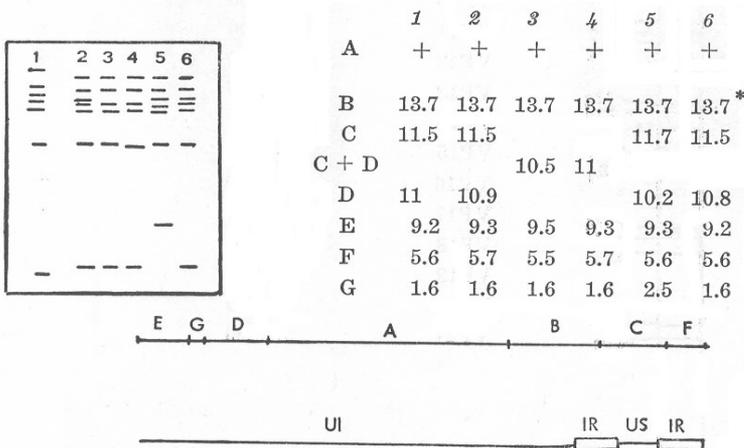


FIG. 2. Representación esquemática del genoma del BHVI y de los fragmentos obtenidos mediante su digestión con la enzima Eco RI (6 cepas).

A, B, C, D, E, F, G, Fragmentos obtenidos.

1. Cepa IBR- Los Ángeles.
2. Cepa IBR- Cu 7
3. Cepa IBR- Cu 5
4. Cepa IBR- Cu 3
5. Cepa IPV - Vacunal Bayer^R
6. Cepa IBR- Mutante termosensible.

* Peso molecular expresado en megadaltons.

UI. Región única larga

U.S. Región única corta

IR. Secuencias repetitivas invertidas

2. Propiedades bioquímicas

a) Proteínas estructurales

La primera descripción de las proteínas estructurales del BHVI fue hecha en 1975 por Pastoret y sus colaboradores (47); posteriormente, en 1979 (48), estos mismos autores establecieron que las partículas virales extracelulares provistas de su envoltura, contienen al menos 21 polipéptidos (10 de ellos glicosilados) cuyo peso molecular se distribuye entre los 31000 y los 275000 daltones (Fig. 3).

Estudios recientes, en los que se han utilizado geles de mejor resolución, se han puesto en evidencia de 25 a 33 polipéptidos que van de los 12000 a los 33000 daltones; 15 de ellos estrechamente ligados a la nucleocápside y 13 a la envoltura viral (49). Dentro de estos últimos, existen dos (VP8 y VPI3) que constituyen los antígenos mayores de superficie y se supone contienen los determinantes reconocidos por los anticuerpos neutralizantes (50). La proteína VP7, de la nomenclatura de Pastoret (Fig. 3), es el componente mayor del virus y representa el 14.21% del conjunto de todas las proteínas.

Hora	Partículas	
	Infeciosas/ml	Físicas/ml
0	10^4	10^7
12	$2.5 \cdot 10^6$	$2.8 \cdot 10^9$
24	$2 \cdot 10^7$	$3.3 \cdot 10^9$
36	$5.5 \cdot 10^7$	10^8
48	$3 \cdot 10^7$	
50	10^6	

FIG. 3. Secuencia de producción de BHVI (Los Ángeles) en células MDBK.

Partículas infecciosas. Titulación por formación de placas.

Partículas físicas. Titulación en microscopio electrónico.

b) Proteínas no estructurales

Se han podido detectar hasta 15 proteínas no estructurales, inducidas por el BHVI, en cultivos de células renales de bovino previamente infectadas (49), Dentro de estas 15 proteínas se ha identificado una timidin-cinasa (TC) de origen viral que difiere de la enzima celular en su especificidad de sustrato, en su termoestabilidad y en su capacidad para utilizar donadores de fosfatos diferentes al ATP (51),

En el caso de los virus herpes, la TC es la proteína extra-estructural de mayor importancia dentro del estudio de los compuestos antivirales, pues se ha encontrado que algunos análogos de la timidina son transformados en monofosfatos exclusivamente por la TC de origen viral

Una vez que el análogo de la timidina ha sido incorporado como nucleótido dentro de la cadena de ADN viral, se bloquea la síntesis ulterior de la cadena por inhibición de la ADN-polimerasa viral.

El "Acyclovir"R (9 - (2-hidroxi-etoximetil) guanina) es un ejemplo de este tipo de compuestos, análogos de la timidina, eficaz contra la replicación del virus *herpes simplex* (52), Sin embargo, este compuesto no es fosforilado por la TC del BHVI, lo que nos hace suponer que esta enzima (la del BHVI) es diferente de la TC inducida por el virus herpes simplex (51, 53),

Por otra parte, cabe mencionar que existen otros análogos de la, timidina que si son fosforilados por la TC BHVI-inducida, como es el bromovinil-desoxiuridina BV dU: E-5 (1-bromovinil-2-desoxiuridina)); el estudio de esta sustancia *in vivo* tal vez nos provea en el futuro de un medicamento capaz de evitar las infecciones provocadas por el BHVI y sus consecuencias (54),

c) El ácido nucleico

El genoma del BHVI está compuesto por ácido desoxirribonucleico (ADN) de doble cadena con polaridad positiva,

Su porcentaje en guanina/citosina es de 71-72% (55, 56), Su peso molecular ha sido calculado en aproximadamente 88 megadaltons (Md) o 142 kilobases (Kb) (57); sin embargo, pueden existir variaciones ligeras de una cepa a otra v, gr, 84,5

Md (136.9 Kb) para la cepa Cooper de rinotraqueítis y 85.5 Md (138.7 Kb), para la cepa K22 de vulvovaginitis (58).

El análisis del genoma del BHV1 mediante cartas de restricción y mediante su observación en el microscopio electrónico, muestra que está constituido de dos partes: una larga (VI, región única larga; 66 Md) y una corta (región corta; 22 Md). La región corta está formada a su vez por una región única corta (*Us*; 7 Md) y dos segmentos de ADN repetitivos (IR), situados en los extremos de la región corta (Fig. 2). Las secuencias de las bases en los segmentos IR, se encuentran invertidas; son complementarias y forman círculos durante la replicación del ADN viral (57, 58, 59).

		Títulos contra el virus de Aujeszky									
Títulos contra el virus IBR	No de sueros	Títulos *	<2	2	8	4	6	8	12	16	16
	65	<2	65								
	19	2	19								
	22	A	22								
	11	8	10	1							
	14	16	2	4	7	1					
	17	32	6	3	2	3	1	1		1	
	6	64	1	1	1			1		1	1
	1	128									1
	*Dilución del suero										

FIG 4. Resultados de las reacciones de seroneutralización contra los virus BHV1 y de la enfermedad de Aujeszky en sueros de bovinos.

Este tipo de arreglo es similar al que se observa en los virus de la enfermedad de Aujeszky y del *Equid herpesvirus 1* (34).

Mediante pruebas de hibridación se ha demostrado que no existe ninguna homología entre el genoma del BHV1 y el de otros virus herpes, como el *Herpes simplex 1 y 2*, el virus de la enfermedad de Aujeszky y el virus de la mamilitis herpética bovina (56, 58, 60).

La digestión del ADN del BHV1 por medio de la endonucleasa de restricción Eco RI, produce 7 segmentos cuyo peso molecular varía entre los 1.6 y 14 o más Md (Fig. 2) (61).

Se han comparado estos segmentos con los obtenidos del citomegalovirus humano y del herpes simplex 1 y 2 tratados con la misma enzima, encontrándose que difieren en su peso molecular y en las cantidades molares obtenidas (62). La digestión del ADN con la enzima Eco RI, ha permitido también la caracterización de diversas cepas del BHV1.

3. *Propiedades biológicas*

a) *Células susceptibles*

El virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina puede replicarse bien en una gran variedad de células provenientes de diversos mamíferos (7, 63, 64, 65, 66). Cabe mencionar que las células provenientes de ciertas especies poco sensibles a la infección con el *Bovid herpesvirus 1*, como son las de gato y borrego (67, 68), las de cerdo (69) y las de una línea continua obtenida del delfín (Dolphin Kidney NBL-10, *Stenella plagiodon*), soportan bien la replicación de este virus (70).

Las células derivadas de bovino como cultivos primarios, líneas diploides, líneas continuas, así como ciertos cultivos de órganos de esta especie, son muy sensibles al virus (71, 72, 73, 74, 75). Por otro lado existe controversia respecto a la sensibilidad de los macrófagos bovinos, siendo los macrófagos fetales más sensibles que los provenientes de animales adultos (75).

En la mayor parte de las investigaciones hechas con el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina, se han utilizado las células MDBK con el objeto de uniformar o estandarizar las condiciones de trabajo. Las células MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) son una línea continua obtenida por Madin y Darby en 1958, proveniente de riñón de bovino adulto (70). Esta línea presenta una gran sensibilidad al virus BHV1 y su cultivo es relativamente sencillo.

En las células MDBK y en otras líneas continuas no fibroblásticas, el virus BHV1 puede formar placas (Fotografía 3) si el monoestrato es cubierto con medio gelificado (76) o con

carboxemietilcelulosa (77), o también si se agrega al medio líquido un suero con anticuerpos contra el virus de la rino-traqueítis infecciosa bovina (78). Las técnicas de producción de placas han permitido la posibilidad de clonar y de titular al virus en forma precisa (48, 79).

b) *Replicación*

El virus BHVI penetra en la célula huésped por fusión o viropexis. La descapsidación se lleva a cabo en el citoplasma, y el ADN es transportado al interior del núcleo celular mediante mecanismos desconocidos a la fecha. Como sucede con las familias virales que forman parte de la clase I de replicación viral (herpesvirus, adenovirus, poxvirus, parapoxvirus), el ADN del BHVI es transcrito directamente en ARN mensajero, y la síntesis de macromoléculas sigue un camino similar al utilizado por la célula huésped (80).

Según y conforme al orden de síntesis, las proteínas del BHVI han sido clasificadas en polipéptidos α , β y δ (34,80).

La transcripción de los genes α es inmediata. Si se detiene la síntesis proteica, mediante la adición de cicloeximida, los ARN mensajeros correspondientes α , se acumulan en la célula. Al permitirse nuevamente la síntesis proteica (mediante la eliminación de la cicloeximida), los polipéptidos α son sintetizados, aun con el bloqueo de la formación de nuevos ARN mensajeros, mediante la adición de actinomicina D.

El tratamiento con cicloeximida de las células infectadas, su lavado y la adición de actinomicina D, ha permitido reconocer 3 polipéptidos α , ninguno de ellos glicosilado (57). Los niveles máximos de concentración de polipéptidos α en la célula se encuentran entre la segunda y cuarta horas posteriores a la infección (80).

La síntesis de proteínas β requiere de la presencia de las proteínas α . Al mismo tiempo, en un fenómeno de retroalimentación, la presencia de las proteínas β bloquea la síntesis de proteínas α . La síntesis de las proteínas β , no requiere de la "novo-síntesis" de ADN viral, pues la adición de la citocina-arabinoside (inhibidor de la síntesis de ADN), no impide la formación de dichas proteínas en la célula infectada. Dentro de las proteínas β se ha podido identificar la

primera glicoproteína codificada por el virus. Esta glicoproteína ha sido objeto de una atención especial, pues por haber sido sintetizada precozmente es, tal vez, el primer antígeno reconocido por el sistema inmune del animal infectado (81). La timidin cinasa, descrita en la parte correspondiente a proteínas no estructurales, pertenece a las proteínas (3, pues su expresión en la célula infectada es independiente de la síntesis de ADN viral (51).

La máxima concentración de proteínas (3 en la célula infectada se encuentra entre la quinta y séptima horas posteriores a la infección (80).

La síntesis de las proteínas δ requiere a su vez de la expresión previa de las proteínas " y (3 y de la "novo-síntesis" del ADN viral.

Como en el caso anterior la presencia de proteínas δ bloquea la síntesis de las proteínas de las clases precedentes.

En las células infectadas con el BI-IV1 en las cuales se ha bloqueado la síntesis de ADN mediante la adición de la citocina-arabinoside, se observa la ausencia de varias proteínas. Estas proteínas faltantes son las verdaderas proteínas δ y son en su mayoría las proteínas estructurales del BHV1 (82).

Entre 7 y 16 horas posteriores a la penetración, el título de virus intracelular, aumenta exponencialmente y las inclusiones Intranucleares crecen hasta ocupar casi completamente el núcleo. Entre 16 y 32 horas posteriores a la penetración, el virus extracelular aumenta exponencialmente. A partir de las 36 horas posteriores a la penetración el virus extracelular decrece (83).

La maduración de las nucleocapsides tiene lugar en el núcleo celular y toman su envoltura a partir de la parte interna de la membrana nuclear, previamente modificada. El virión formado es liberado al exterior, pasando a través del sistema tubular citoplásmico o por exocitosis (84).

Con fines prácticos, la figura 3 muestra la secuencia de producción extracelular del virus BHV1 cepa "Los Ángeles" en células MDBK. En el transcurso de 48 horas se puede observar que el mayor número de partículas virales es liberado entre las 24 y 36 horas después de la inoculación del monoestrato celular (48).

Cuando una suspensión viral ha sido pasada continuamente en cultivos celulares, se acumula un gran número de

partículas interferentes defectivas (PDI). Las partículas defectivas contienen un genoma incompleto y no son viables por si mismas (85). Sin embargo, algunas PDI sí son capaces de replicarse mediante la coinfección de las células con virus que poseen un genoma integro (86). El estudio del genoma de las PID ha mostrado que éste se encuentra generalmente formado por secuencias repetidas en tandem, que representan únicamente el 10% del genoma viral completo (87).

c) *Relaciones antigénicas*

Las relaciones antigénicas dentro de los miembros del grupo herpes son numerosas (88) y el virus BRV1 no es la excepción.

Desde 1961 Carmichael y Barnes (89) demostraron la existencia de reacciones de precipitación cruzadas entre el virus de la rinoneumonía equina y el BHV1; igualmente Ludwig, en 1983 (90), demostró la existencia de relaciones antigénicas entre este último y los virus de la enfermedad de Marek y el herpes caprino.

Por otra parte, se ha demostrado que se obtienen reacciones cruzadas de hipersensibilidad retardada, al aplicar los antígenos del BHV1 y del virus de la enfermedad de Aujeszky a bovinos con anticuerpos contra el primero; pero desprovistos de anticuerpos contra el segundo (91). Se ha observado también que una gran cantidad de bovinos que poseen anticuerpos a títulos altos ($\geq 1:8$), adquiridos en forma natural, contra el BHV1, poseen igualmente anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (Fig. 7) (92, 93). En trabajos subsecuentes, se ha demostrado que la hiperinmunización experimental de bovinos con el BHV1 provoca la aparición de anticuerpos contra el virus de Aujeszky, sin que, por el contrario, la hiperinmunización con este último conlleve a la aparición de anticuerpos contra el BHV1 en esta especie (94). Sin embargo, la vacunación alternada de los bovinos con ambos agentes aumenta los títulos de anticuerpos en forma concomitante hacia ambos agentes (95). Cabe mencionar que en los estudios llevados a cabo en cerdos, no se obtienen reacciones cruzadas entre el virus de Aujeszky y el BHV1 (96).

Estos hallazgos deberán considerarse en los programas de vacunación en aquellos lugares en donde la enfermedad de Aujeszky afecte a los bovinos, así como en los diagnósticos o estudios epizootiológicos que se lleven a cabo en esta especie.

d) *La diferenciación entre cepas*

Se ha mencionado que por su efecto citopático el BHV1 puede formar placas en medio sólido (agarosa) o en medio semisólido (Carboximetil-celulosa). Es bien sabido que las mutaciones pueden modificar las características de las placas que se obtienen con virus de diferentes familias, lo que ha permitido, mediante el análisis de placas, las exploraciones genéticas indirectas de las diferentes cepas.

En el caso del BHV1, se ha encontrado que no existe una gran diferencia entre la distribución del tamaño de las placas producidas por diversas cepas. La excepción son aquellas como la N569 y la 92/2/W que poseen una neurovirulencia extrema, pues se ha demostrado que producen placas netamente más pequeñas que las otras cepas (97, 98) (Fotografía, 3).

Las mutantes termosensibles de los virus herpes han sido muy utilizadas para el estudio de la genética molecular de los mismos y también para la preparación de vacunas (99). La propiedad que tienen estas mutantes de replicarse en las células susceptibles, únicamente a temperaturas inferiores a los 38° C, constituye un marcador para estas cepas (marcador ts).

La electroforesis de las proteínas estructurales del BHV1 en geles de poliacrilamida, nos ha puesto en evidencia la existencia de diferencias menores, a nivel de la proteína VP4 (Fig. 1), entre cepas de rinotraqueítis y cepas de vulvovaginitis (100). No obstante, estas diferencias son mínimas, por lo que consideramos que el análisis de las proteínas estructurales no constituye un método práctico de caracterización de cepas.

El análisis del ADN viral, por medio de las endonucleasas de restricción, es actualmente el medio de caracterización más sensible (Fig. 2) (61). Este método es de gran valor para los estudios epidemiológicos experimentales en los que las cepas utilizadas pueden ser seleccionadas en función de sus

diferencias genotípicas. No obstante, hay que mencionar que en comparación con otros virus, las diferencias genotípicas entre las cepas de BHV1 son bastante limitadas, ya que sólo se han encontrado 3 patrones electroforéticos diferentes que desafortunadamente no pueden relacionarse con el poder patógeno o con las características biológicas de las cepas analizadas (101).

e) La latencia

La latencia puede definirse como la persistencia enmascarada del virus en el huésped. Después de su recuperación, el virus latente es reexcretado en forma intermitente por el portador bajo diversos estímulos endógenos como el estrés o tensión; o exógenos como la aplicación parenteral de dexametasona (102, 103). La reexcreción del virus latente puede llevarse a cabo con o sin la manifestación de signos clínicos por parte del portador, por lo que este puede convertirse en un peligro para los animales susceptibles que lo rodean.

El BHV1 puede ser aislado del ganglio trigémino de animales clínicamente sanos que han padecido la infección (104). Más aún, el ADN de este virus puede ser detectado en el núcleo de las células de este ganglio, mediante una técnica de hibridación *in situ*, con ADN radiactivo extraído del virus cultivado *in vitro* (105). Estos resultados nos permiten afirmar que, al igual que otros virus herpes, el sitio de latencia del BHV1 es el sistema nervioso. Sin embargo, el descubrimiento de las vacunas hechas con mutantes termosensibles (18), incapaces de invadir el sistema nervioso, son por el contrario bien capaces de instalarse en forma latente, nos hace pensar que el BHV1 puede instalarse en otros tipos de células como las epiteliales (106).

Los resultados obtenidos en diversos trabajos (33, 103, 106, 107, 108), en los que se ha seguido la infección y la reactivación de cepas patógenas y vacunales por medio de marcadores bioquímicos y biológicos (análisis del DNA con enzimas de restricción; marcador ts: ver inciso d), nos han conducido a las siguientes conclusiones:

1. Todos los animales se convierten en portadores latentes después de una primoinfección con cepas de campo.

- II. Las vacunas atenuadas, y especialmente las hechas con mutantes termosensibles, infectan en forma latente después de la vacunación.
- III. La vacunación con cualquier tipo de vacuna no previene la instalación de cepas patógenas en forma latente; únicamente previene la manifestación de signos clínicos.

Podemos decir que la latencia constituye el principal mecanismo de perpetuación del BHVI en la naturaleza. Al mismo tiempo, como hemos visto, este fenómeno constituye el principal problema en el control de la enfermedad.

Parece ser que la hiperinmunización es la única medida práctica que se conoce hasta el momento, para reducir o eliminar la reexcreción del virus por parte del portador, pues se ha observado que existe una relación inversa entre el aumento en los índices de inmunidad humoral y celular específicas (obtenido mediante estímulos repetidos con el BHVI) y la cantidad de virus reexcretado (106).

Estudios recientes nos informan que el transporte y las infestaciones con *Dictiocaulus viviparus*, conducen generalmente a la reactivación del BHVI en los bovinos pre-infectados (109). Es por tanto conveniente poner una atención particular a estas circunstancias.

Por otro lado, se tienen evidencias de que el 3-metil indol, que es un producto de la fermentación ruminal del L-triptofano y que en grandes dosis resulta un potente tóxico pulmonar, es también capaz de reactivar el BHVI (110).

4. Aspectos clínicos y epizootiológicos

a) Susceptibilidad

Aunque el virus BHVI ataca básicamente a los bovinos, existen reportes que indican que otras especies son también receptivas. Según Van Houveling (111), las cabras padecen la enfermedad en forma muy atenuada. Diversos autores han logrado reproducir la vulvovaginitis en esta especie (111, 112, 113, 114, 115). En lo que respecta a la presencia natural de la infección en cabras, en una encuesta serológica llevada a

cabo en Kenia en 1975, Jesset y Rampton (116) encontraron anticuerpos contra el BHVI en la mencionada especie, mientras que Kokles, en 1977 (177) en Europa, no encuentra más que resultados negativos.

Por otro lado, parece ser que el borrego es también sensible a la inoculación experimental del BHVI por vía genital (112). En lo que respecta a la presencia de la infección, en este caso también existen resultados contradictorios, pues mientras que Trueblood y sus colaboradores (118) han logrado aislar el virus a partir de ovinos, Kokles (117) no encuentra anticuerpos en sus encuestas serológicas llevadas a cabo en esta especie.

La susceptibilidad del cerdo al virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina es muy discutida. Los experimentos encaminados a la propagación del virus en esta especie fracasan regularmente (112, 113, 119) y las encuestas serológicas llevadas a cabo pueden considerarse negativas (117, 120, 121, 122). De hecho, también en las encuestas hechas en diversas especies cercanas al cerdo doméstico, como el jabalí (*Sus scrofa*), el patomocero (*Potamochoerus porcus*) y el hilocero (*Hylochoerens meinertzhageni*) no se encuentran anticuerpos contra el virus (117, 123).

Se ha dicho que el exantema coital de los equinos es provocado por cepas de BHV1 que producen IPV (124). Sin embargo, actualmente se sabe que el exantema coital de los equinos es provocado por el *Equid herpesvirus 3* (125, 126, 127, 128). La contaminación natural de los equinos con el BHV1, no se ha señalado jamás. Si bien, en este sentido, Afshar y Tadjbakhsh (120) reportan la presencia de anticuerpos precipitantes del virus IBR en sueros de algunos caballos, el hallazgo debe ser interpretado con cierta prudencia pues, como se ha mencionado, el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina BHV1 y el virus de la rinoneumonitis equina (*Equid herpesvirus 1*) presentan similitudes antigénicas, que pueden manifestarse mediante reacciones de inmunoprecipitación o de fijación de complemento (89), mientras que la reacción de seroneutralización demuestra que se trata de entidades completamente distintas. De hecho KokJes (117) no encuentra anticuerpos neutralizantes contra el BHV1, en 586 sueros de caballos examinados.

El perro y el gato y los animales de laboratorio parecen ser refractarios a la enfermedad (124, 129). Casos excepcionales se dan el del conejo y el del ratón, los cuales en condiciones especiales, pueden ser infectados experimentalmente con el BHVI (129, 130, 131, 132, 133).

En lo que se refiere a carnívoros peleteros, el virus BHVI ha sido aislado de visones (*Mustela vison*) y de hurones (*Mustela furo*), que probablemente se contaminan con la carne de bovino que ingieren (134). Apoyando la receptividad de estos animales, Smith en 1978 (135) reporta que la transmisión experimental al hurón es fácilmente realizable.

En una encuesta serológica hecha en una gran variedad de especies salvajes, Kokles (117) reporta la existencia de títulos significativos de anticuerpos específicos en el ciervo (*Cervus elaphus*) y en el corzo (*Capreolus capreolus*) mientras que el reno (*Rangifer tarandus*), el alce (*Alce alces*) y el gamo (*Dama dama*), resultaron negativos en este trabajo. Este mismo trabajo nos indica que si bien la infección con el BHVI existe en forma natural en el ciervo y en el corzo, su incidencia es muy baja en estas especies, lo que hace suponer que en Europa los animales salvajes no constituyen en si mismos un reservorio importante de esta enfermedad. Según Kahars (23), esta misma situación prevalece en América del Norte; no obstante que en este país se informa de la existencia de una alta prevalencia de anticuerpos en el venado mular (*Odocoileus hemionus hemionus*), especie que ha sido posible infectar experimentalmente (136).

En el Continente Africano, los animales salvajes probablemente tienen un papel muy importante en la epizootiología de la enfermedad, ya que se ha reportado una prevalencia muy grande en el búfalo (*Syncerus cafer*), el elan del cabo (*Taurotragus oryx*), el ñú (*Connchaetes taurinus*) y una prevalencia menor pero siempre positiva en otros bóvidos (*Tragelaphus strepsiceros*; *Kobus ellipsiprymnus*; *Kobus leche*; *Kobus kob*; *Redunca arundinum*; *Hippotragus niger*; *Hippotragus equinas*; *Gazella thomsoni*). Curiosamente el hipopótamo (*Hippopotamus amphibius*) presenta también frecuentemente anticuerpos contra la enfermedad (137, 138, 139, 140).

El hombre es refractario a la enfermedad (117); el hecho

de que existan informes de la existencia de anticuerpos precipitantes en ciertos individuos (120), pueden ser debido a las relaciones antigénicas existentes entre los virus de la familia *Herpetoviridae*.

En resumen, podemos decir que la presencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus BHV1, esta limitada a las especies que pertenecen a la familia *Bovidae*, y a familias cercanas a ésta, como los *Cervidae*. La susceptibilidad a la rinotraqueítis infecciosa bovina parece, por consiguiente, estar limitada al orden de los artiodáctilos con afinidad especial hacia la tribu de los bovinos (141).

Se ha demostrado que el virus BHV1 puede infectar al menos dos especies (al ganado doméstico: *Bos taurus*, y al ñú: *Connochaetes taurinus*), en condiciones naturales en forma latente (142, 143) ; sin embargo, a la fecha no se sabe si el fenómeno de latencia podría repetirse en otras especies domésticas o salvajes. En este sentido, se han hecho experimentos con el fin de reactivar el virus BHV1 de cabras previamente infectadas, obteniéndose siempre resultados negativos (Aguilar-Setien, resultados no publicados).

Se debe considerar que la transmisión del BHV1 es horizontal; la transmisión vertical *stricto-sensu* no se lleva a cabo, pues, como veremos posteriormente, la contaminación fetal aún con cepas vacunales, provoca siempre el aborto. Fuera del Continente Africano, el ganado bovino doméstico parece ser, si no el único, si el principal reservorio. La transmisión por medio de vectores mecánicos, que no sean el semen congelado (109), tiene en realidad poca importancia, dada la alta susceptibilidad del virus al medio externo.

La velocidad de propagación de la enfermedad depende de la posibilidad de contacto entre los animales, por lo que la prevalencia de ésta es siempre menor en explotaciones extensivas (v. gr. ganado de lidia, explotaciones de regiones tropicales) y mayor en las intensivas (v. gr. corrales de engorda, producción intensiva de leche) (109).

b) *Formas clínicas*

Las diversas formas clínicas que el BHV1 puede producir en su huésped natural son: rinotraqueítis, vulvovaginitis y

balanopostitis, conjuntivitis, abortos, encefalitis, enteritis e infecciones generalizadas en becerros.

Existen obras de gran calidad consagradas a describir la enfermedad desde un punto de vista clínico; los lectores que deseen encontrar un compendio de lesiones y signos deberán dirigirse a los siguientes trabajos (22, 23, 124). En el presente trabajo nos limitaremos a describir las diferentes formas clínicas brevemente, haciendo hincapié en que la manifestación de cada una de ellas depende de la edad, el estado inmune de los animales, la cepa viral, la dosis y la vía de exposición.

i) *El feto*

Una de las características de los virus herpes que pertenecen a la subfamilia *alphavirinae* es la de ser extremadamente patógenos para el feto y el neonato y menos patógenos para el adulto (v. gr. Varicela-Zoster, enfermedad de Aujeszky, rinoneumonía equina, herpes canino) (35).

El BHVI produce en el feto una infección aguda y generalizada que desemboca en el aborto (144). La inoculación intrauterina a un feto, con cualquier cepa de campo o con la mayoría de las cepas vacunales, es siempre mortal (145). En los bovinos los abortos pueden presentarse con cualquier forma clínica de la enfermedad, lo mismo cuando se utilizan vacunas insuficientemente atenuadas; en consecuencia, la cepa viral no es importante en este caso (23). Sin embargo, la frecuencia de abortos, en el caso de la enfermedad natural, depende de varios factores, siendo el más importante el estado inmune de las madres, las cuales deben estar libres de anticuerpos para que éstos ocurran (142).

El aborto puede sobrevenir en cualquier tercio de la gestación. El intervalo entre la infección de las madres y el aborto, varía entre los 15 y 36 días. Los fetos abortados están edematosos y en los órganos viscerales como el hígado, hay focos pálidos de necrosis (necrosis focal). Se ha observado que la necrosis y el edema son graves en el feto y mínimos en la placenta (146).

Es bien sabido que en los bovinos no existe un pasaje de inmunoglobulinas de la madre al feto. Sin embargo, en algunos fetos es posible encontrar determinada cantidad de

gamaglobulina en su suero, indicando que éstos son inmunocompetentes (147). No obstante esto último, es muy raro encontrar en el suero fetal bovino, anticuerpos contra el BHVI (148) y esto puede explicarse, en parte, por una incapacidad del sistema inmune fetal de responder al virus (149).

Se sabe, por otro lado, que los macrófagos de origen fetal son más susceptibles al BHVI, que los provenientes de animales adultos (75).

Esta situación contrasta con lo observado en otras enfermedades virales de los bovinos como la diarrea viral o enfermedad de las mucosas (BVD), provocada por un togavirus, en la cual se reporta que en los surcos fetales existe una prevalencia muy alta de anticuerpos dirigidos contra dicho agente (150).

Esta prevalencia se explica por la patogenicidad tan variable que tiene el virus BVD, según sea el estado de desarrollo fetal; ya que, dependiendo de este, la infección de una vaca gestante puede desembocar en un parto normal, un aborto, un mortinato, momificación fetal o provocar anomalías congénitas (151).

ii) *El recién nacido y los animales jóvenes*

Si el recién nacido no se encuentra protegido por el calostro materno, las cepas patógenas del BHVI, desencadenan una infección aguda y generalizada, altamente fatal en estos animales. La inmunidad pasiva conferida al becerro, permite prevenir una infección mortal; sin embargo, dosis altas de virus pueden sobrepasar esta barrera inmunitaria, provocando lesiones severas (152, 153). La encefalitis es una manifestación que se observa casi exclusivamente en becerros y frecuentemente esta forma puede confundirse con la enfermedad de Aujeszky (154). Si bien la encefalitis puede presentarse consecuente a la aparición de la forma respiratoria, se ha demostrado que existen cepas como la N546 y la 92/2/W que poseen un neurotropismo acentuado (97, 98).

Otra forma de la enfermedad que se presenta casi exclusivamente en becerros, es la forma digestiva; aunque no debe ser muy común, pues los reportes que asocian al BHVI a ciertas porciones del tracto digestivo no son muy numerosas (21, 48).

Entre los diversos brotes de la enfermedad que hemos tenido la oportunidad de observar, cabe mencionar uno en el cual se presentó la forma respiratoria típica en algunas vacas del hato. No se tenían antecedentes de la existencia previa de la enfermedad, ni de vacunación en el establo, y parece que los animales fueron contaminados mediante la introducción de un bovino adulto extranjero.

Todos los becerros que nacieron en aquel momento, murieron; unos presentando infecciones generalizadas, y otros lesiones en el tracto respiratorio acompañadas de equimosis en la parte anterior del tubo digestivo.

Este brote nos muestra la, alta susceptibilidad de los neonatos al BHV1 y la variabilidad de signos que pueden presentarse en los animales jóvenes.

iii) *La rinotraqueítis*

Como ya se mencionó, la rinotraqueítis es una de las formas más comunes de la enfermedad y es provocada, por cepas específicas que afectan a animales de cualquier edad.

Se cree que las cepas de rinotraqueítis "clásica" (IBR), aparecieron debido a las modificaciones en los sistemas de explotación bovina, desarrollados en Estados Unidos durante las primeras décadas del siglo (v. gr. engorda intensiva (20).

En el animal adulto, las lesiones se encuentran generalmente circunscritas a la región anterior del tracto respiratorio, observándose abundante exudado nasal y traqueítis. No obstante, cuando existen complicaciones bacterianas, la enfermedad puede involucrar al tracto respiratorio posterior, produciendo bronquitis y neumonía. La replicación viral produce lisis de las células epiteliales, conduciendo a la destrucción de los epitelios y formación de inclusiones intranucleares. Las inclusiones aparecen a partir de las 36 horas posteriores a la infección y persisten durante 60 horas, aproximadamente (155).

El inicio de la enfermedad se caracteriza por la aparición de zonas localizadas o difusas de hiperemia en la mucosa nasal, que posteriormente toman una coloración roja oscura.

En seguida, se puede constatar la formación de úlceras, pústulas y finalmente la formación de falsas membranas que presentan una coloración grisásea y una consistencia sero-

fibrinosa. Se puede manifestar inflamación a nivel de los ollares y del morro. Al finalizar la evolución de la enfermedad, se puede constatar la formación de granulomas. El conjunto de estos signos es precedido y acompañado por hipertermia, algunas veces muy intensa y con una duración variable (124).

iv) *Formas localizadas*

La forma genital conocida desde hace mucho tiempo, puede ser considerada, como una forma localizada de la enfermedad, y al igual que la rinotraqueítis es provocada por cepas características que afectan al macho o a la hembra, provocando vulvovaginitis o balanopostitis. En condiciones naturales, la infección se lleva a cabo mediante el coito, o el semen contaminado y las lesiones van a quedar circunscritas y localizadas en los órganos genitales externos (vulva, vagina, pene), sin que se vean afectadas otras parte del sistema reproductor. No obstante esto último, el BHV1, puede provocar endometritis cuando es inoculado en grandes dosis en el útero, mediante semen contaminado, impidiendo temporalmente la concepción (156). Cabe mencionar que se han reportado varios casos de metritis provocados por cepas de vulvovaginitis, después de una operación cesárea (157).

Es necesario aclarar que si bien en el animal adulto es posible la replicación de cepas de vulvovaginitis (IPV) en el tracto respiratorio y viceversa (la replicación de cepas de rinotraqueítis en tracto genital), en ambos casos se provocan lesiones atenuadas y el virus se recupera a títulos bajos (18).

La conjuntivitis es otra forma localizada de la, enfermedad que puede existir sola (en uno o ambos ojos del animal), o asociada a la forma respiratoria o genital, y es seguida frecuentemente, por un brote de abortos en la explotación (158, 159); cualquier cepa de rinotraqueítis o de vulvovaginitis es capaz de provocar esta afección cuando se inocula experimentalmente en el ojo.

III. La vacunación

1. *Antecedentes*

La vacunación es la única forma de prevenir las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Los primeros ensayos

de inmunización de los animales contra la rinotraqueítis infecciosa bovina se llevaron a cabo muy temprano en la historia de esta enfermedad; la literatura existente al respecto es muy abundante, por lo que en esta sección trataremos de presentar un resumen de lo esencial.

Ciertos virus herpes tienen un poder oncogénico que ha sido ya demostrado (160). Este riesgo potencial nos explica la prohibición existente, en medicina humana, de vacunas antiherpéticas que no hayan sido desprovistas de sus ácidos nucleicos (161).

El costo tan alto de una vacuna viral subunitaria, hace que su utilización en medicina veterinaria sea casi una utopía. Sin embargo, en el caso de la rinotraqueítis infecciosa bovina, se hicieron en 1978, algunos experimentos al respecto (162).

Los estudios del genoma del virus *Herpes simplex* y del virus de la enfermedad de Aujeszky, han mostrado que el gene que codifica para la timidin cinasa viral (TC), tiene un papel importante en la patogenia de estos agentes, pues se ha demostrado que aquellas cepas incapaces de inducir su propia TC tienen una virulencia reducida (163, 164).

En el caso del *Herpes simplex*, se ha identificado también un gene relacionado con neurovirulencia (165). Actualmente los genes TC y neurovirulencia han podido ser eliminados del *Herpes simplex*, mediante técnicas de ingeniería genética, ya que su sitio dentro del genoma viral se conoce con precisión (161). Estas manipulaciones presuponen un gran avance en cuanto a la producción de vacunas antiherpéticas.

En el caso del BHV1, si bien aún no se han hecho estudios exhaustivos en este sentido, pensamos que los resultados obtenidos con otros virus pueden servir de base para la obtención de vacunas por medio de la ingeniería genética.

No obstante, aún en nuestra época, la mayoría de los esfuerzos han sido encaminados a la producción de vacunas clásicas, eficaces y seguras, menos caras que las subunitarias o las obtenidas mediante manipulaciones genéticas.

La vacuna ideal contra la rinotraqueítis infecciosa bovina debe llenar una serie de requisitos, entre los cuales los más importantes son:

1. Ser de bajo costo.

2. Ser inocua para el animal.
3. No infectar en forma latente a los animales.
4. Prevenir la infección de cepas de campo en forma latente en los animales.
5. No diseminarse entre los animales de hato.

Actualmente ninguna vacuna existente en el mercado cumple completamente con los requisitos mencionados, aunque algunas de ellas presentan ventajas en un sentido o en otro. A continuación haremos un resumen de las ventajas y desventajas de las principales vacunas existentes.

2. Vacunas inactivadas no adyuvadas

Estas vacunas están disponibles desde hace mucho tiempo, a veces en forma polivalente junto con otro tipo de virus como: parainfluenza 3 (PI3) y diarrea viral bovina (BVD), aunque son poco eficaces por su pobreza antigénica. Esto se debe principalmente a que en su elaboración no se utiliza ningún procedimiento de concentración viral por resultar antieconómico (166). De hecho, este tipo de vacunas ha caído en desuso en la mayoría de los países. Las ventajas de las vacunas inactivadas en general, son las de no provocar abortos ni excreción de virus vacunal; por otro lado, si no se instalan en el animal vacunado en forma latente, no impiden hacerlo posteriormente a cualquier cepa de campo.

3. Vacunas atenuadas de aplicación intramuscular

Las primeras vacunas atenuadas que aparecieron en el mercado fueron producidas por medio de pases sucesivos en células de origen bovino, o de células heterólogas, principalmente de cerdo (167, 168). Estas primeras vacunas vivas atenuadas eran aplicadas por vía intramuscular. Algunas de las principales ventajas que se les atribuían eran las de ser fácilmente aplicables y la de no propiciar, mediante esta vía de inoculación, la diseminación de la

cepa vacunal. Además este tipo de vacunas, a diferencia de las vacunas inactivadas no adyuvadas, inducen a una mejor respuesta inmune en los animales. Esto último sin la necesidad de recurrir a los diversos procedimientos de concentración viral antieconómicos en medicina veterinaria, pues la replicación del virus en el animal confiere a este tipo de vacunas una antigenicidad satisfactoria.

La principal desventaja de estas vacunas es la de provocar abortos en los animales gestantes (23). En efecto, en el caso de la rinotraqueítis infecciosa bovina, la atenuación de una cepa para el animal adulto mediante pases sucesivos en cultivos celulares, no conlleva a la atenuación de esta misma cepa para el feto. Además, la aplicación intramuscular parece favorecer el acceso del virus al producto. Estas dificultades llevaron al equipo de la Universidad de Cornell (E. V.) a desarrollar una prueba llamada "Cornell Fetal test", con el fin de poder juzgar la inocuidad de las vacunas vivas contra la rinotraqueítis infecciosa hacia el feto (169). Esta prueba se basa en la inoculación de la cepa vacunal directamente *in utero*, al feto. Con estas técnicas se demostró que generalmente las cepas atenuadas que se administraban por vía intramuscular, al igual que las cepas patógenas, provocaban la muerte y la expulsión del feto (96).

Este tipo de vacunas administradas a las vaquillas antes de su vida reproductora, o a las reproductoras antes de la inseminación, parecen ser de alguna utilidad, pues se ha demostrado que en estas circunstancias se previene a los animales contra abortos ulteriores. Sin embargo, hay que considerar que el animal vacunado va a convertirse en portador y diseminador de una cepa viral que si bien es inocua para los animales adultos, es por otro lado sumamente letal para el feto, lo que constituye en sí un problema epizootiológico considerable.

4. Vacunas "vivas" de mutantes termosensibles, de aplicación intranasal

Las dificultades inherentes a las vacunas de aplicación intramuscular descritas anteriormente y la esperanza de propiciar una mejor estimulación de la inmunidad local, condu-

jeron a los investigadores a buscar nuevas soluciones en el empleo de vacunas de aplicación intranasal.

En el caso de rinotraqueítis infecciosa bovina, la aplicación de una mutante termosensible del BHV1, por vía intranasal con fines vacunales, presenta una serie de ventajas que a continuación se describen.

En primer término, estas cepas no pueden aplicarse en el interior del cuerpo de los animales por ser susceptibles a temperaturas superiores a los 38⁰ C, de tal manera que su replicación queda circunscrita al área de inoculación (mucosas de los ollares y del cornete nasal); consecuentemente su acceso al feto queda eliminada y con ello el peligro de provocar abortos (99). Otra de sus ventajas sería la de inducir una protección rápida, atribuible a la producción de interferón y de anticuerpos locales en la superficie de las mucosas (170).

Los avances descritos hicieron que las vacunas hechas con cepas mutantes termosensibles tuvieran un éxito considerable aún en nuestros días. De hecho en Estados Unidos y Canadá, esta vacuna es la más utilizada, y en México es la única autorizada por la Dirección de Sanidad Animal. Sin embargo, una de las principales desventajas de las vacunas administradas por vía nasal, es la gran dispersión de la cepa por excreción; lo que podría ocasionar un regreso a la virulencia o recombinaciones con cepas de campo. Por otro lado, tampoco este tipo de vacunas previene la instalación de cepas patógenas al estado latente (106).

5. Vacunas inactivadas con adyuvante oleoso

En los párrafos precedentes hemos dicho que uno de los principales defectos de las vacunas preparadas con virus vivo es el de propiciar la difusión viral y con ello el peligro de un revertimiento de las cepas hacia la patogenicidad, o la aparición de recombinantes entre cepas vacunales y cepas patógenas.

Por otro lado, como también ya hemos mencionado, las tendencias actuales en medicina humana, en cuanto a la producción de vacunas antiherpéticas, es la de elaborar antígenos virales desprovistos de ácido nucleico. Con este tipo de va-

cunas fraccionadas se piensa eliminar totalmente el poder oncogénico potencial del virus activo, los problemas epidemiológicos inherentes al fenómeno de latencia, y la diseminación de cepas vacunales (161).

Con esta filosofía, y ante la imposibilidad existente hasta el momento en medicina veterinaria (por razones de orden económico), de producir vacunas fraccionarias, varios países europeos y principalmente Francia, han encaminado sus esfuerzos a la obtención de vacunas inactivadas eficaces. Esto último tal vez como un paso precedente a la futura elaboración de vacunas fraccionarias, ya que los avances tan importantes obtenidos en nuestros días en la biotecnología, nos permiten predecir un abatimiento en los costos de producción de este tipo de biológicos.

El inconveniente que presentaron las primeras vacunas inactivadas --de ser poco antigénicas- ha sido solucionado en parte mediante la adición de adyuvantes (generalmente de tipo oleoso) que exacerban la respuesta inmune hacia los antígenos deseados, sin necesidad de recurrir a los procedimientos de concentración antigénica bastante costosos.

La vía de inoculación de las vacunas inactivadas adyuvadas es generalmente subcutánea; recomendándose una segunda vacunación siete días después de la primera, con el fin de provocar un estímulo secundario que conlleve a un alto nivel de protección tanto local como general (171, 172).

No obstante la necesidad de aplicar dos estímulos antigénicos, se ha comprobado que después del primero ya existe una protección relativamente rápida (a los cuatro días), por supuesto no comparable a la inmediata que se obtiene con las vacunas vivas de aplicación intranasal que inducen la formación del interferón (173).

Es interesante señalar que en los establecimientos de engorda intensiva, la aplicación de este tipo de biológicos a los becerros, induce un incremento de peso mas rápido que el que se obtiene en animales no vacunados o vacunados con otro tipo de vacunas, bajo las mismas circunstancias (Aguilar Setién, resultados no publicados). Esto puede ser debido a la estimulación no específica de la inmunidad que se obtiene con los adyuvantes utilizados en su fabricación. De hecho, este fenómeno ya ha sido observado en lechones a los cuales

se les aplica adyuvante completo de Freund, sin ningún otro tipo de antígeno (172).

Como conclusión podemos decir que las vacunas inactivadas adyuvadas confieren una inmunidad satisfactoria, tanto a nivel local como general, equiparable a la que producen las vacunas vivas, sin que existan los riesgos de diseminación viral y abortos inherentes a estas últimas.

El hecho de tener que aplicar dos inyecciones a los animales, dificulta la utilización de estos productos en las explotaciones extensivas, en las cuales es problemático el reagrupamiento de los animales a intervalos cortos.

6. La vacunación como medida profiláctica

Antes de establecer un programa de vacunación en un hato, hay que considerar que el beneficio económico que se va a obtener, será netamente superior al costo de este programa. De hecho no todo el ganado vacunado contra cierta enfermedad estará expuesto a ella. La incidencia de la enfermedad es la que dicta la necesidad de vacunar, y la eficacia de una vacuna determinada. Podemos considerar en este sentido que, en forma general, una incidencia de 10 a 15 % justifica plenamente el uso de una vacuna eficaz.

Pueden existir tantos programas de vacunación como tipos de explotación y de vacunas. Sin embargo, podemos hacer un resumen de los lineamientos generales a seguir para evitar epizootias y mantener el hato en buena salud en una zona contaminada:

1. Vacunar a todos los becerros mayores de 5 meses de edad evitando que esta vacunación se lleve a cabo en el mes de empadre o en el período de partos, sobre todo cuando se utilizan las vacunas que pueden ser patógenas para el feto.
2. En un hato con problemas, debe vacunarse a los terneros al mes de nacidos y nuevamente al cumplir los 4-5 meses.
3. Si los animales van a ser trasladados, se recomienda la vacunación en su lugar de origen, 30 días antes del transporte.

4. Vacunar a todo el ganado de cría anualmente, v. gr. un mes antes del empadre.
5. Facilitar el acceso al calostro materno a los animales recién nacidos.
6. No vacunar a las vacas preñadas; de ser necesario hacerlo, utilizar las vacunas intranasales hechas con mutantes termosensibles o vacunas inactivadas adyuvadas.
7. Todos los animales de reemplazo que ingresen a un hato deben ser de procedencia conocida y venir acompañados de un certificado de vacunación. Si no están vacunados, habrá que vacunarlos en el momento de su arribo. Además todo reemplazo deberá ser cuarentenado durante un período de dos semanas a partir del momento de su arribo. Evitar en estos animales el estrés o tensiones prolongadas.
8. Los sementales de los centros de inseminación artificial que se haya comprobado son portadores del virus, deberán someterse a vacunaciones más seguidas con intervalos de 3 a 5 meses (hiperinmunización).
9. Controlar las infestaciones con *Dictiocaulus viviparus* en el hato, ya que se ha demostrado que este parásito puede reactivar al BHV1, latente.

REFERENCIAS

1. Schoeder, R. J. and Moys, M. D.: An acute respiratory infection of dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 125:471-472, 1954.
2. Mc. Kercher, D. G., Moulton, J. E. and Jasper, D. E.: Virus and virus-like cattle disease entities new to California *Proc. 58th Annual Meeting U. S. Livestock Sanit. Assn.*, 260, 1954.
3. Jesen, R., Griner, L. A., Chow, T. L. and Brown, W. W.: Infectious rhinotracheitis in feedlot cattle. I. Pathology and Symptoms. *Proc. U. S. Livestock Sah. Assn.* v89:199, 1955.
4. Mc. Intyre, R. W.: Experimental studies of acute respiratory infection in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 125:473-474, 1954.
5. Chow, T. L., Deem, A. W. and Jesen, R.: Infectious rhinotracheitis in cattle. II. Experimental reproduction, *Proc. U. S. Livestock San. Assn.* 168-172, 1955.
6. Madin, S. H. York, C. J. and Me. Kercher, D. G.: Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus. *Science.* 124.721, 1956.
7. York, C. J., Schwarz, A. J. F. and Estela, L. A.: The isolation

- and identification of infectious bovine rhinotracheitis virus in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 94:740-744, 1957.
8. Kendrick, J. W., York, C. J. and Mc. Kercher, D. G.: A controlled field trial of a vaccine for infectious bovine rhinotracheitis. *Proc. U. S. Livestock Sanit. Assn.* 60:155-158, 1956.
 9. York, C. J. and Schwarz, A. J. F.: Immunological studies on infectious bovine rhinotracheitis. *Proc. U. S. Livestock Sanit. Assn.* 60:149-154, 1956.
 10. Brown, R. G. and Cabasso, V. J.: Studies on infections bovine rhinotracheitis (IBR). II. Experimental transmission to cattle. *Vet. Med.* 52:321-326, 1957.
 11. Baker, J. A., Gillespie, J. A., Sheffy, B. E. and Marshall, V.: Simultaneous immunization of cattle against leptospirosis, virus diarrhoea and infectious bovine rhino tracheitis. *Cornell Vet.* 48: 207,213, 1958.
 12. Chow, T. L.: Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 160:51-54, 1972.
 13. Armstrong, J. A., Pereira, H. G. and Andrewes, C. H.: Observations on the virus of infectious bovine rhinotracheitis and its affinity with the herpesvirus group. *Virology.* 14:276-285, 1961.
 14. Wildy, P., Russel, W. C. and Home, R. W.: The morphology of herpesvirus. *Virology.* 12:204-222, 1960.
 15. Roizman, B., Carmichael, L. E., De The G., Nahmias, A. J., Plowright, W., Rapp, F., Scheldrick, P., Takahaschi, M. and Wolf, K.: *Herpesviridae*, definition, provisional nomenclature and taxonomy. *Intervirology.* 16:201-207, 1981.
 16. Kokles, R.: Die infectiose Rhinotracheitis und das Coitalexanthem des Rindes. In: *Handbuch der Virusinfektion bei Tieren.* Band II, Edite par Heinz Rohrer, Veb Gustav Fischer Verlag, Jeana, paginas, 901 a 960, 1967.
 17. Reisinger, L. und Reimann, H.: Beitrag zur Aetiologie des Blasen-ausschlags des Rindes. *Wien. Tierarztl. Mschr.* 15:249-261, 1928.
 18. Gillespie, J. H., Mc. Entee, F., Kendrick, J. W. and Wegner" W. C.: Comparison of infectious pustular vulvovaginitis virus with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Cornell Vet.* 49: 288-297, 1959.
 19. Mc. Kercher, D. G., Straub, O. C., Saito, J. K. and Wada, E. M.: Comparative studies of the etiological agents of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis. *Can. J. Compo Med.* 23:320-328, 1959.
 20. Van Kruiningen, H. J. and Bartholomew, R. L.: Infectious bovine rhinotracheitis diagnosed by lesions in calf. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 144:1008-1012, 1964.
 21. Wellemans, G. et Leunen, J.: Le tropsime digestif du virus IBR. *Ann. MM. Vet.* 118:243-251, 1974.
 22. Mc. Kercher, D. G.: Viruses of others vertebrates. In: *The Her-*

- pesviruses*. chapter 14. Edited by A. S. Kaplan, Academic Press inc. N. Y., London, 427-493, 1973.
23. Kahrs, R. F.: Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 171:1055-1064, 1977.
 24. Gibbs, E. P. J. and Rweyemamu, M. M.: Bovine herpes viruses. Part. II. Bovine herpes viruses 2 and 3. *The Veterinary Bulletin.* 47:411-425, 1977.
 25. Hazrati, A. and Amjadi, A. R.: The isolation and identification of infectious bovine rhinotracheitis virus in Iran. *Arch. Inst. Razi.* 27:21-35, 1975.
 26. Fernández, C. L. Narváes, O. C. y Terry, E. T.: Rinotraqueítis infecciosa de los bovinos: Informe de los primeros casos detectados en el Perú. *Revista del Centro Nacional de Patología Animal.* 7:39-50, 1967.
 27. Marsolais, G. A. N., Gagnon, R., Assaf, A., Lavallee, A. et Marsolais, P.: La Rinotracheite Infectieuse au Quebec: Enquette Serologique Chez les bovines Laetiers. *Can. Vet. Jour.* 15:168 170, 1974.
 28. Rweyemamu, M. M. and Staak, G.: Isolation of infectious Bovine Rhinotracheites Virus in Tanzania. *Trop. Anim. Health. Prod.* 3: 156-158, 1977.
 29. Newberne, J. W., Robinson, V. B. and Alter, M. L.: Incidence of Infectious Bovine Rhinotracheitis an Bovine Viral Diarrhea. *Vet. Med.* 56: 395-398, 1961.
 30. Ruiz, D. R. y Cuevas, F. R.: Rinotraqueítis Infecciosa bovina como causa de aborto en México. *Téc. Pec. Méx.* 15-16; 51-52, 1971.
 31. Martell, M., Soto I., Castellanos, L., Mc. Cauley, H. H. and Johnson, D. W.: IBR Virus isolated from two epizootics in mexican dairy cattle, Agri practice. *Vet. Med./Small. Anim. Clin.*, August. 1045-1048, 1974.
 32. Vilchis, C., Susan, V., Rosales, C., Aguilar Setien, A., Vargas, V., Pena, I., Jorge, J. y Batalla, D.: Estudio epizootiológico de la rinotraqueítis infecciosa bovina en ganado productor de leche y productor de carne. *Téc. Pec. Méx.* 49:106-115, 1985.
 33. Pastoret, P. P., Thiry, E., Brochier, B. and Derboven, G.: Bovid herpesvirus 1 infection of cattle pathogenesis, latency, consequences of latency. *Ann. Reck. vet.* 13:221-235, 1982.
 34. Thiry, E. et Pastoret, P. P.: Le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine: Aspects biochimiques. *Ann. Reck. Vit.* 15:455-465, 1984.
 35. Watson: Morfology-Chapter 2. In: The herpesviruses. Edited by: A. S. Kaplan., Academic Press, Inc., New-York, London, 27-43, 1973.
 36. Almeida, J., Lang, D. and Talbot, P.: Herpesvirus morphology: visualization of a structural subunit. *Intervirology.* 10:318-320, 1978.
 37. Tousims, A. J., Howells, W. V., Griffin, T. P" Porter, P. P.,

- Cheatham, W. J. and Maurer, F. D.: Biophysical Characterization of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99:614-616, 1958.
38. Cruchshank, J. G. and Berry, D. M.: Morphology of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Virology*. 25:481-482, 1965.
 39. Smid, B., Valicer, L. and Necas, O.: Freeze-Etching observations on infectious bovine rhinotracheitis virus in the nucleus of bovine kidney cells. *Archiv Virol.* 12:919-930, 1977.
 40. Griffin, T. P., Howells, W. V., Crandell, R. A. and Maurer, F. D.: Stability of the virus of infectious bovine rhinotracheitis. *Am. J. Vet. Res.* 19:990-992, 1958.
 41. Feldman, H. A. and Wang, S. S.: Sensitivity of various viruses to chloroform. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 106:736-738, 1961.
 42. Bartha, A., Belak, S. and Benyeda, J.: Trypsin and heat-resistance of some strains of the herpesvirus group. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae.* 19:98-99, 1969.
 43. Donaldson, A. I. and Ferris, N. P.: The survival of some airborne animal viruses in relation to relative humidity. *Vet. Microbiol.* 1:413-420, 1976.
 44. Elazhary, M. A. S. and Derbyshire, J. B.: Effect of temperature relative humidity and medium on the aerosol stability of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Can. V. Compo Med.* 43:158167, 1979.
 45. Fox, B. W.: Chemistry of some inhibitors of herpes replication. *J. Antimicrob. Chem.* 3 (Suppl A): 23.. 32, 1977.
 46. Pastoret, P. P., Aguilar-Setien, A. et Schoengers, F.: Le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine (*Rovid herpesvirus 1*). *Ann. MM. Vet.* 122:371-391, 1978.
 47. Pastoret, P. P., Burtonboy, G., Lamy, M. E. and Schoenaers, F.: Structural proteins of enveloped infectious bovine rhinotracheitis virus. *Abstracts of the 3th International Congress for Virology, Madrid, 10-17 september, C.:* 270, 248, 1975.
 48. Pastoret, P. P.: Le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine: Aspects biologiques et moleculaires. *These presentee en vue de l'obtention du grade d'agregé de l'enseignement superieur.* Universite de Liege. 72-73, 1979.
 49. Misra, V., Blumenthal, R. M. and Babiuk, L. A.: Proteins specified by bovine herpes virus 1 (infectious bovine rhinotracheitis virus). *J. Virol.* 40:367-378, 1981.
 50. Bolton, D. C., Zee, Y. C. and Ardans, A. A.: Identification of envelope and nucleocapsid proteins of infectious bovine rhinotracheitis virus per SDS-polyacrilamide gel electrophoresis. *Vet. Microbiol.* 8 :57-68, 1983.
 51. Weinmaster, G. A., Misra, V., Me. Guire, R., Babiur, L. A. and DeClerq, E.: Bovid herpesvirus type 1 (infectious bovine rhinotracheitis virus)-induced thymidine kinase. *Virology.* 118:191120.
 52. Elion, G. B., Furman, P. A., Fyfe, J. A., De Miranda, P., Beau-

- champ, L. and Schaffer, H. J.: Selectivity of action of an antiherpetic agent 9 - (2- hy- droxyethoximethyl) guanine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74:5116-5120, 1977.
53. Thiry, E., Leroy, P., Pastoret, P. P., Schwers, A., Brochier, B., Anciaux, Y. and Hoyois, P.: *In vivo* and *in vitro* effect of acyclovir on pseudorabies virus, infectious bovine rhinotracheitis virus and pigeon herpesvirus. *Ann. Reck. Vet.* 14:239-245, 1983.
 54. Babiuk, L. A., Acres, S. D., Misra, V., Stokdale, P. H. G. and De Clercq E.: Susceptibility of *Bavid herpesvirus* 1 to antiviral drugs: *in vitro* efficacy of (E) -5- (2-bromovinyl 1-2-deoxyuridine). *Antimicrob. Agents Chemother.* 23:715-720, 1983.
 55. Plummer, G., Goodheart, C. R., Henson, D. and Bowling, C. P.: A comparative study of the DNA density and behavior in tissue cultures of fourteen different herpesviruses. *Virology.* 39:134137, 1969.
 56. Ludwig, H.: Untersuchungen am genetischen material von Herpesviren. II *Med. Microbiol. Immunol.* 157:212-238, 1972.
 57. Farley, J. E., Grave, I. B. and Skare, J.: Inverted repeat sequences in infectious bovine rhinotracheitis virus DNA. In: *The human herpesviruses, an interdisciplinary perspective.* Ed. by: Nahmias, A. J., Dowdle, W. R., Schinazi, R. F., Elsevier. New York. 590, 1981.
 58. Mayfield, J. E., Good, P. J., Van Oort, H. J., Campbell, A. R. and Reed, D. E.: Cloning and cleavage site in mapping of DNA from bovine herpesvirus 1 Kooper strain). *J. Virol.* 47 :259-264, 1983.
 59. Ludwig, H.: Untersuchungen am genetischen material von Herpesviren. I. *Med. Microbiol. Immunol.* 157:186-211, 1972.
 60. Sterz, H., Ludwig, H. and Root, R.: Immunologic and genetic relationship between herpes simplex virus and bovine herpes mammilitis virus. *Intervirology.* 2:1-13, 1974.
 61. Thiry, E., Pastoret, P. P., Brochier, B., Kettmann, R. et Burny, A.: Differentiation de souches du virus de la rhinotracheite infectieuse bovine par l'analyse du DNA viral apres digestion par l'endocuclease de restriction Eco R1. *Ann. Med. Vet.* 127:29-36, 1983.
 62. Geder, L., Hyman, R. W., Figueroa, M., Oares, J. E., ntis, J. P., Dawson, M. S. and Rapp, F.: Identification of a herpesvirus isolated from cytomegalovirus-transformed human cells *J. Virol.* 27:713-724, 1978.
 63. Cabasso, V. J., Brown, R. G. and Cox, H. R.: Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) 1. Propagation of virus in cancer cells of human origin (Hela). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 95:471-476, 1957.
 64. Orsi, E. V. and Cabasso, V. J.: Infectious fovine rhinotracheitis (IBR). IV. Cytological changes in infected bovine kidney and Hela cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98:637-639, 1958.
 65. Rouhandeh, H.: Propagation of infectious bovine rhinotracheitis

- virus in monkey kidney tissue culture cells. *Nature*. 200:386-387, 1963.
66. Michalski, F. J., Dietz, A. and Tsiung, G. D.: Growth characteristics of bovine herpesvirus 1 (infectious bovine rhinotracheitis) in human diploid cell strain WI-38. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151:407-410, 1976.
 67. Ba-vy Nguyen and Peneau, P.: Culture du virus de la rhinotracheite infectieuse des bovins sur les cellules testiculaires d'embyon de mouton. *Rev. Elev. Me-d. Vet. Pays Trap.* 17:197203, 1964.
 68. Crandell, R. A. Fabricant, C. G. and Nelson-Rees, W. A.: Development, characterization, and viral susceptibility of a feline (*Felis catus*) renal cell line (CRFK). *In Vitro*. 9: 176-185, 1973.
 69. Kasza, L., Shaddock, J. A. and Christofins, G. J.: Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Reseach in Veterinary Science*. 13:46-51, 1972.
 70. American Type Culture Collection. *Registry of animal cell lines*, 1972.
 71. Mirchamsy, H., Bahrami, S., Ramali, M., Hazrati, A. and Shafy, I.: Development of a diploid cell line from fetal calf lung for virus vaccine production. *Develop. Biol. Standatrd.* 37:53-57, 1977.
 72. Shroyer, E. L. and Esterday, B. C.: Growth og infectious bovine rhinotracheitis virus in organ cultures. *Am. J. Vet. Res.* 29: 1355-1362, 1968.
 73. Nelson, R. D.: Effects of infectious bovine rhinotracheitis virus on bovine tracheal epithelium a scanning electron microscopic study. *Am. J. Vet. Res.* 35:831-833, 1974.
 74. Pospil, Z., Machatrova, M., Rozkosny, V. and Mensir, J.: Demonstration of parainfluenza -3 virus and infectious bovine rhinotracheitis virus in bovine foetal organ cultures by immunofluorescence and horseradish peroxidase techniques. *Acta. Vet. Brno.* 44:189-195, 1975.
 75. Rossi, C. R. and Kiesel, G. K.: Susceptibility of bovine macrophage and tracheal-ring cultures to bovine viruses. *Am. J. Vet. Res.* 38:1705-1708, 1977.
 76. Pastoret, P. P., Jetteur, P. et Aguilar-Setien, A.: Effet de la dexamethasone sur le titre et la taille des plages du virus de la rhinotracheite infectieuse bovine. *Ann. Méd. Vet.* 123:597-402, 1979.
 77. Modino, G., Cupi, R. M. and Orfei, Z.: The use of methylcellulose in the production of plaques by the virus of infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Ital.* 15:671-676, 1964.
 78. Zuffa, A., Chumchal, R. and Grunert, Z.: Mikroepidemiologie und mikropaquetitration des virus des infektiösen rhinotracheitis des rindes auf primareess kalberniereez ellen mittels immunofluoreizenz. *Arch. Exper. Vet. Med.* 30:441-457, 1976.
 79. Stevens, J. G. and Groman, N. E.: Properties of infectious bovine

- rhinotracheitis virus in a quantitated virus-cell culture system. *Am. J. Vet. Res.* 24:1158-1163, 1963.
80. Krutera, L. S. and Myrvik, Q. N.: *Fundamentals of medical virology*. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 3:27-49, 1985.
 81. Misra, V., Gilchrist, J. E., Weinmaster, G., Qualtiere, I., Van Den Hurk, S. and Babiuk, L. A.: Herpesvirus induced "early" glycoprotein: characterization and possible role in immune cytolysis. *J. Virol.* 43:1046-1054, 1982.
 82. Roizman, B. and Batterson, R.: Herpesviruses and their replication. In: *Fielas B. N., Virology*, Ed. Roven Press, New York. 1-50, 1981.
 83. Depauli, F. J. and Sabina, L. R.: Studies of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Archiv. F. Ges. Virusforschung.* 36:380-390, 1972.
 84. Jasty, V., Chang, P. W., Goertmiller, C. C. and Yates, V. J.: Infectious bovine rhinotracheitis virus on bovine kidney cells. II. Virus development and ultrastructural alteration in cultured cells. *Experimental and Molecular pathology.* 16:124-137, 1972.
 85. Luifo, D. M. and Hayward, G. S.: Tandem repeat defective DNA from the L segment of the HVS genome, in: Becker Y., *Herpesvirus DNA, Developments in molecular virology*. Ed. Martinus Nijhoff, The Hague, Vol. 1, Chapter 8, 107-128, 1981.
 86. Porteous, S. T., Skare, J. and Skare, I. B.: Analysis of defective interfering particles of bovine herpesvirus-i. Abstract Sixth, *Cold Spring Harbor meeting on herpesviruses*, New York, U.S.A., August, 31-September, 5, 35, 1982.
 87. Skare, J., Sullivan, N. and Skare, I. B.: Cloning of bovine herpesvirus-1 DNA and localization of sequences in defective genome. Abstract Sixth. *Cold Spring Harbor meeting on herpesviruses*, New York, U.S.A., August, 31-September, 5, 35, 1982.
 88. Honess, R. \V. and Warson, D. H.: Unity and diversity in the herpesviruses. *J. Gen. Virol.* 37:15-37, 1977.
 89. Carmichael, L. E. and Barnes, F. D.: The relationship of infectious bovine rhinotracheitis virus to equine rhinopneumonitis virus. *Report of the Annual meeting U.S. Livestock sanitary association.* 384-388, 1961.
 90. Ludwing, H.: Bovine herpesviruses. In: *The herpesviruses*, Vol. 2 Chapter 4. Ed by Roizman B. Plenum Press., N. Y. 135-214, 1983.
 91. Aguilar-Setién, A., Pastoret, P. P., Burtonboy, G., Goignoul, F., Jetteur, P., Vandeputte, J. et Schoenaers, F.: Communauté antigenique entre le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine et le virus de la maladie d' Aujeszky demontree, chez le bovin, par un test d'hypersensibilite retardee. *Ann. Mid. Vet.* 123:55-61. 1979.
 92. Aguilar-Setién, A., Vandeputte, J., Pastoret, P. P., Michaux, C., Pensaert, M. B. et Schoenaers, F.: Presence concomittante chez les bovins et les pores, d'anticorps neutralisant le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine et celui de la maladie d'Aujeszky,

- apres contact avec le virus homologue. *Ann. Méd. Vet.* 123:275-284, 1979.
93. Aguilar-Setién, A., Pastoret, P. P., Vandeputte, J., Pérez, J. y Gutiérrez, F.: Antigenicidad cruzada entre el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina y el virus de la enfermedad de Aujeszky en bovinos. En: *Memorias de La XV Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias*, México, D. F., 419-430, diciembre de 1981.
 94. Aguilar-Setién, A." Pastoret, P. P. and Schwers, A.: Etude chez le bovin, par neutralization et immunoprecipitation, des reactions serologiques croisees entre le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine et celui de la maladie d'Aujeszky. *Ann. Méd. vet.* 124: 199-209, 1980.
 95. Aguilar-Setién, A., Pastoret, P. P., Toma, B., Joubert, L., Michaux, C., et Schoenaers, F.: Reponse inmunitaire de type anamnestic envers le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine, chez les bovins, apres exposition a desantigenes du virus de la maladie d' Aujeszky. *Ann. Med. Vet.* 123 :429-434, 1979.
 96. Aguilar-Setién, A.: La rhinotracheite infectieuse bovine: aspects immunologiques et detection des porteurs latents. *These redigee en une de l'obtention du titre de docteur special*, Universite de Liege, 102-104, 1980.
 97. Bagust, T. J.: Comparison of the biological, biophysical and antigenic properties of four strains of infectious bovine rhinotracheitis herpesvirus. *J. Compo Path.* 82:365-374, 1972.
 98. Jetteur, P., Pastoret, P. P., Aguilar-SeHen, A., Leroy, P. et Schoenaers, F.: Differentiacion de souches du virus de la rhinotracheite infectieuse bovine (*Bovid herpesvirus 1*) fondee sur la dimension moyenne des plages.
 99. Zygraich, N., Lobmann, M., Peetermans, J., Vascoboinic, E. and Huygelen, C.: Local and systemic response after simultaneous intranasal inoculation of temperature-sensitive mutants of P13, IBR and bovine adenovirus 3. *Develop. Biol. Stand.* 28:482-488, 1975.
 100. Pastoret, P. P., Aguilar-Setiin, A., Godart, M., Lamy, M. E. and Schoenaers, F.: Comparison between strains of infections bovine rhinotracheitis virus from respiratory and genital origins, using polyacrylamide gel electrophoresis of structural proteins. *Vet. Microbiol.* 5:187-194, 1980.
 101. Misra, V., Babiuk, L. A. and Le Q. Darcel, C.: Analysis of bovine herpesvirus-type and by restriction endonucleases fingerprinting. *Arch. Virol.* 76:341-354, 1983.
 102. Davies, D. H. and Carmichael, L. E.: Role of cell-mediated immunity in recovery of cattle from primary and recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Infect. Immun.* 8:510- 518, 1973.
 103. Pastoret, P. P., Aguilar-Setién, A., Burtonboy, G. et Schoenaers, F.: Mesure de la reexcretion du virus de la rhinotracheite in-

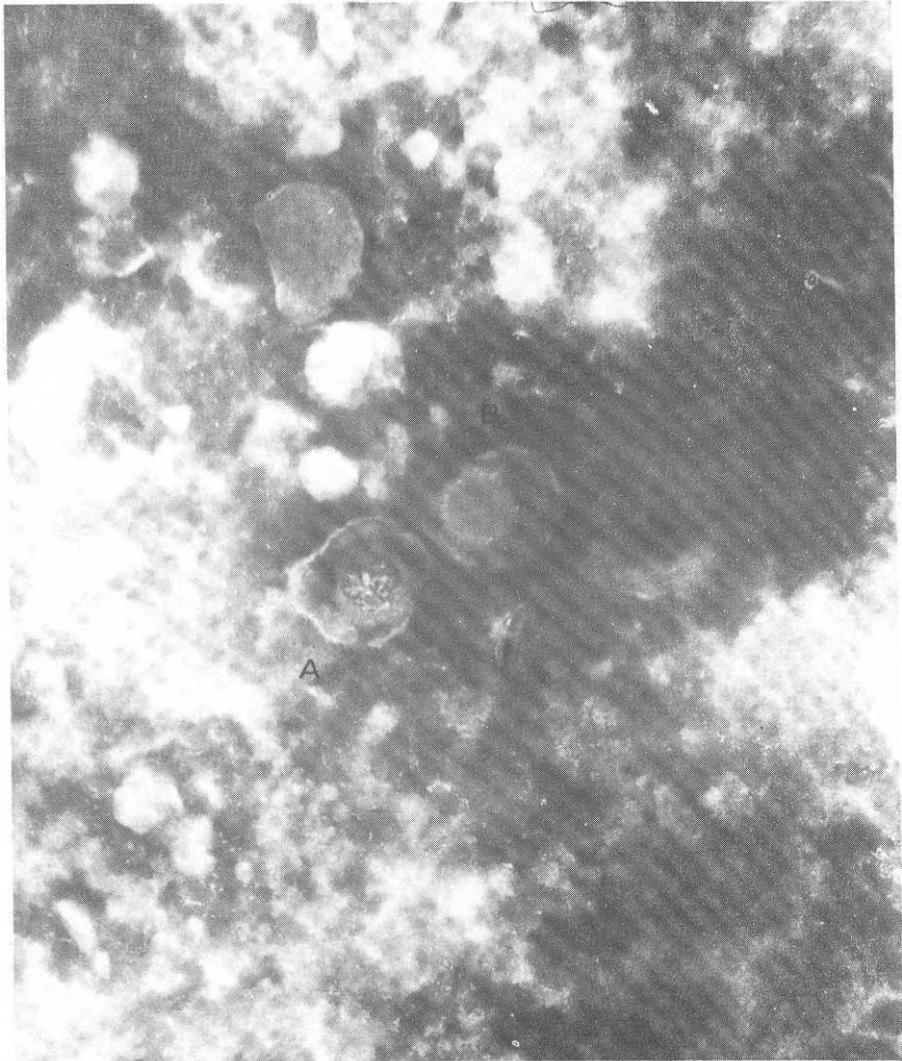
- fectieuse bovine apres injection de dexamethasona. *Ann. Med. Vet.* 122:449-456, 1978.
104. Homan, E. J. and Esterday, B. C.: Isolation of bovine herpesvirus-1 from trigeminal ganglia of clinically normal cattle. *Am. J. Vet. Res.* 41:1212-1213, 1980.
 105. Ackermann, M., Peterhans, E. and Wyler, R.: DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *Am. J. Vet. Res.* 43:36-40, 1982.
 106. Pastoret, P. P., Aguilar-Setien, A., Burtonboy, G., Mager, J., Jetteur, P. and Schoenaers, F.: Effect of repeated treatment with dexamethasone on the reexcretion pattern of infectious bovine rhinotracheitis virus and humoral immune response. *Vet. Microbiol.* 4:149-158, 1979.
 107. Pastoret, P. P., Babiuk, L. A., Mirsa, V. and Griebel, P.: Reactivation of temperature sensitive and non temperature-sensitive infectious bovine rhinotracheitis vaccine virus with dexamethasone. *Infect. Immun.* 29 :483-488, 1980.
 108. Thiry, E., Brochier, B., Cansival, R., Hanton, G., Derboven, G., Pastoret, P. P. et Antoine, H.: Etude sur recretion et la reexcretion spontanee de deux souches vaccinales du virus de la rhinotracheite infectieuse bovine par des veaux sein maintenus en station de selection. *Ann. Med. Vet.* 127:625-634, 1983.
 109. Thiry, E., Saliki, J., Lambert, A. F., Bublot, M., Pouplard, L. and Pastoret, P. P.: Studies on conditions necessary for bovine herpesvirus 1 reactivation. In: Pastoret, P. P., Thiry, E., Saliki, J., *Immunity to herpesvirus infections of domestic animals*. Ed. Commision of the European Communities, Brussels. 209-222, 1985.
 110. Espinasse, J., Viso, M. and Kerdougli, Y.: Bovine herpesvirus 1: Reactivation by 3-Methylindole, In: Pastoret, P. P., Thiry, E., Saliki, J., *Immunity to herpesvirus infections of domestic animals*. Ed. Commission of the European Communities, Brussels. 223-228, 1985.
 111. Van Houweling, C. D.: Susceptibility of goats to infectious bovine rhinotracheitis. *Cornell. Vet.* 56: 38-41, 1966.
 112. Zwick, B. und Gminder, A.: Untersuchungen uber den bleschen-ausschlag (exanthema vesuculosum coitale) des rindes. *Berl. Tierartl. Wschr.* 29:637-640, 1913.
 113. Witte, J.: Untersuchungen uber den bläschenausschlag (Exanthema pustulosum coitale) des rindes. *Z. Inf. Krankhs. paras. Krankh., Hyg. Haustiere.* 44 :163-191, 1933.
 114. Mc Kercher, D. G., Saito, J. K., Wada, E. M. and Staub, O.: Current status of newer virus diseases of cattle. *Proc. U. S. Livestock Sanit. Assn.* 62 :136-158, 1958.
 115. Mohanty, S. B., Lille, M. G., Corselius, N. P. and Beck, J. D.: Natural infection with infectious bovine rhinotracheitis in goats. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 160:879-880, 1972.
 116. Jessett, D. M. and Rampton, C. S.: The incidence of antibody to

- infectious bovine rhinotracheitis virus in Kenyan cattle. *Res. Vet. Sci.* 18:225-226, 1975.
117. Kokles, R.: Untersuchungen zuiu nachmei8 von IBR/IPV antikörpern bei verschiedenen hant-unct wildtier en sowie bejns menschen. *Mh. Vet. Med.* 32:170-171, 1977.
 118. Trueblood, M. S., Swift, B. L. and Me. Holland, R. L.: A bovine herpesvirus isolated from sheep. *Can. J. Compo Med.* 42:97-99, 1978.
 119. Me. Kercher, D. G.: Comments on infectious bovine rhinotracheitis. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 152:760-761, 1968.
 120. Afshar, A. and Tadjbakhsh, H.: Occurrence of precipitating antibodies to bovine herpesvirus (Infectious Bovine Rhinotracheitis) in sera of farm animals and man in han. *J. Compo Path.* 80; 307-310, 1970.
 121. Nelson, D. R., Mare, C. J. and Glock, R. D.: Infectious bovine rhinotracheitis (herpesvirus bovis) infection in swine. *Am. J. Vet. Res.* 33:1209-1215, 1972.
 122. Dedek, J. und Ludwig, C.: Untersuchungen zur Infektion des Schweines mit dem IBR/IPV virus. *Mh. Vet. Med.* 32:172-174, 1977.
 123. Hedger, R. S. and Hamblin, C.: Neutralizing antibodies to bovid herpesvirus 1 (infectious bovine rhinotracheitis, infectious pustular vulvovaginitis) in african life with special reference to the cape buffalo (*Syncerus caffer*). *J. Camp. Path.* 88:211-218, 1978.
 124. Gilbert, Y. et Saurat, P.: Le complex rhinotracheite infectieuse des bovins. Monographie: *Les maladies a virus*, l'expansion Editeur, Paris, 1970.
 125. Ludwig, H., Beiswal, N., Bryans, J. T. and Mc Combs, R. M.: Some properties of the DNA from a new equine herpesvirus. *Virology.* 45:534-537, 1971.
 126. Plummer, G., Hollingsworth, D. C., Phungsab, A. and Bowling, C. P.: Chronic infections by herpes simplex viruses and by the horse and cat herpesviruses. *Infect. Immun.* 1:351-355, 1970.
 127. Burki, F. and Sibalín, M.: Equine herpesvirus classification. *Abstracts of the Srd International Congress for Virology.* Madrid, 10-17 september W56, 1975.
 128. Flammini, C. F., Allegri, G. and Scatozza, F.: Studies on some biological characters of equine herpesviruses. *Veterinaria Italiana.* XXVI: 217-224, 1975.
26:217-224, 1975.
 129. Persechino, A., Merucci, P. and Orfei, Z.: Patogenicita del virus della rinotracheite infettiva del bovino (IBR) su animali de laboratorio. *La Nuova Veterinaria.* 17:116-124, 1965
 130. Bwangamoi, A. and Kaminjolo, J. S.: Observations on experimental infection with infectious bovine rhinotracheitis virus in rabbits. *Bull. epizoot. Vis. Afr.* 21:357-361, 1973.
 131. Faye, P., Charton, A. et Le Layec, Cl.: Etude sérologique chez lapin expérimentalement infecte par la virus de la "Rhinotrachéite

- infectieuse des bovins" (virus I.E.R.-I.P.V.). *Bull. Acad. Vet.* XLVIII: 67-70, 1975.
132. Kelly, D. F.: Experimental infection of rabbits with the virus of infectious bovine rhinotracheitis. *Br. J. expo Path.* 58:168, 1977.
 133. Geder, L., Lee, K. J., Daeson, M. S., Engler, R., Malinaik, R. M. and Lang, C. M.: Induction of persistent infection in mice and oncogenic transformation of mouse macro phages with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res.* 42:300-307, 1981.
 134. Porter, D. D., Larsen, A. E. and Cox, N. A.: Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from mustelidae. *J. Glin. Microbiol.* 1:112-113, 1975.
 135. Smith, P. C.: Experimental infectious bovine rhinotracheitis virus infections of English Ferrets (*Mustela fura*). *Am. J. Vet. Res.* 39: 1369-1372, 1978.
 136. Stauber, E. H., Nellis, C. H., Magonigle, R. A. and Vaughn, H. W.: Prevalence of reactors to selected livestock pathogen in Idaho mule deer. *J. Wildl. Mgmt.* 41:515-519, 1977.
 137. Kaminjlo, J. S. and Paulsen, J.: The occurrence of virus-neutralizing antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus in sera from hippopotami and buffaloes. *Zbl. Vet. Med. B.* 17:864-868, 1970.
 138. Rweyemamu, M. M.: The incidence of infectious bovine rhinotracheitis antibody in tanzanian game animals and cattle. *Bulletin des epizootics en Afrique.* 122: 19-22, 1974.
 139. Rampton, C. S. and Jessett, D. M.: The prevalence of antibody to infections bovine rhinotracheitis virus in some game animals of East Africa. *J. Wildl. Dis.* 12:2-6, 1976.
 140. Rweyemamu, M. M.: Pobable occurrence of infectious bovine rhinotracheitis virus in Tanzania in wildlife and cattle. *Nature.* 225: 738-739, 1970.
 141. Grasse, P. P. et Devillers, Ch.: *Précis de Zoologic II.* Vertébrés. Masson et Cie, Paris, 1965.
 142. Karstad, L., Jessct, D. M., Otema, J. C. and Drevemos: Vulvovaginitis in wildebeest caused by the virus of infectious bovine rhinotracheitis. *J. Wildl. Dis.* 10 :392-396, 1974.
 143. Nahmias, A. J.: The evolution of herpesviruses. In: *Viruses, Evolution and Cancer.* Ed. by Krusta, K. E., Maramorsch, K. Academic Press, Inc., N. Y., San Francinco, London, 605-624, 1974.
 144. Molello, J. A., Chow, T. L., Owen, N. and Jensen, R.: Placental pathology: V. placental lesions of cattle experimentally infected with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res.* 27: 907-915, 1966.
 145. Miller, R. B. and Quinn, P. J.: Observations on abotions in cattle: a comparison of pathological, microbiological and immunological findings in aborted foetuses and foetuses collected at abattoirs. *Can. J. Compo Med.* 39:270-290, 1975.

146. Kendrik, J. W.: Effects of the infectious bovine rhinotracheitis virus on the foetus. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 163:852-878, 1973.
147. Osburn, B. I.: Immune responsiveness of the foetus and neonate. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 163:801-817, 1973.
148. Solberg, I. M.: Neutralizing antibody to infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus in foetal calf serum. *Acta. Vet. Scand.* 16:549-560, 1975.
149. Gilbson, C. D. and Zemjanis, R.: Immune response of the bovine foetus to several antigens. *Am. J. Vet. Res.* 34:1277-1286, 1973.
150. Pastoret, P. P. et Schoenaers, F.: Les diarrhees neonatales d'origine vira le chez le veau. *Ann. Med. Vet.* 121:81-90, 1977.
151. Kahrs, R. F.: Effects of bovine viral diarrhea on the developing foetus. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 163:877-879, 1973.
152. Aguilar-Setién, A., Pastoret, P. P. et Schoenaers, F.: L'immunité envers le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine. *Ann. Med. Vet.* 124:103-122, 1980.
153. Brar, J. S., Johnson, P. W., Muscoplat, C. C., Shope, R. E. and Meiske, J. C.: Maternal immunity to infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea viruses: duration and effect on vaccination in young calves. *Am. J. Vet. Res.* 89:241-244, 1978.
154. Wellemans, G. et Pastoret, P. P., Gouffaux, M.: Maladie d'Aujeszky dans un rassemblement de jeunes bovins. *Ann. Med. Vet.* 120: 196-198, 1976.
155. Nelson, R. D.: Effects of infectious bovine rhinotracheitis virus on bovine tracheal epithelium: a scanning electron microscopic study. *Am. J. Vet. Res.* 35:831-833, 1974.
156. Parsonson, I. M. and Snowdon, W. A.: The effect of natural and artificial breeding using bulls infected with, or semen contaminated with IBR virus. *Aust. Vet. J.* 51:365-369, 1975.
157. Wellemans, G.: La rhinotracheite infectieuse (IBR) en Belgique. *Bull. Off. into Epiz.* 84:9-15, 1975.
158. Rebhun, W. C., Smith, J. S., Post, J. E. and Holden, H. R.: An outbreak of the conjunctival form on infectious bovine rhinotracheitis. *Cornell Vet.* 68:297-307, 1978.
159. Nayar, P. S. G. and Sraunders, J. R.: Infections bovine keratoconjunctivitis. **II.** *Con. J. Compo Med.* 89:32-40, 1975.
160. Long, D., Madara, T. J., Ponce de León, M., Cohen, G. H., Montgomery, P. L. and Eisenberg, R. J.: Glycoprotein D protects mice against lethal challenge with herpes simplex virus types 1 and 2. *Infect. Immun.* 37:761-764, 1984.
161. Becker, Y., Ben-Hur, T., Tabor, E. and Asher, Y.: Approaches to vaccination against herpes viruses: From attenuation of viruses to recombinant and synthetic subunit virus vaccines. In: Pastoret, P. P., Thiry, E., Saliki, J., *Immunity to herpesvirus infections of domestic animals.* Ed. Commission of the European Communities, Brussels, 253,272, 1985.

162. Darcel, C. Le Q., Bradley, J. A. and Mitchell, D.: Immune response of cattle to antigens obtained from bovine herpes 1 infected tissue cultures. *International Virology IV*, abstracts, The Hague, The Netherlands, August, 3D-September 6, 1978.
163. Lomniczi, E., Ben-Porat, T. and Kaplan, A. S.: Virulence of pseudorabies virus is controlled at a multigenic level. *Abstract from the Eighth International Herpesvirus Workshop*, Oxford. 122, 1983.
164. Ben-Hur, T., Hadar, J., Shtram, y" Gilden, D. H. and Becker, Y.: Neurovirulence of *herpes simplex* virus type 1 depends on age in mice and thymidine Kinase expression. *Arch. Virol.* 78:303308, 1983.
165. Thompson, R. L., Wagner, E. K. and Stevens, J. G.: Physical location of a herpes simplex virus type 1 gene fuction (s) specifically associated with a 10 million-fold increase in HSV neurovirulence. *Virology.* 131:180-192, 1983.
166. Schipper, I. A. and Kelling, C. L.: Evaluation of inactivated infectious bovine rhinotracheitis vaccine. *Can. J. Comp. Med.* 39: 402-405, 1975.
167. Schwartz, A. J. F., York, C. J., Zirbel, L. W. and Estela, L. A.: Modification of infectious bovine rhinotracheitis virus in tissue culture and development of a vaccine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 96:453-458, 1967.
168. Schwartz, A. J. F., Zirbel, L. W., Estela, L. A. and York, C. J.: Propagation and modifications of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in porcine kidney tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 97: 680-683, 1958.
169. Schwltz, R. D., Hall, C. E., Sheffy, B. E., Khars, R. F. and Bean, B. H.: Current status of IBR/IPV virus infection in bulls. *United states animal health association's 80th Annual Meeting*. Miami Beach. Florida, 1976.
170. Straub, O. C. und Ahl, R.: Lokale Interferonbildung beim rind nach intranasaler infection mit avirulentem IBR-IPV-virus und deren Wirkung auf line anschiebende. *Zbl. Vet. Med. B.* 23:470482, 1976.
171. Soulebot, J. P., Brun. A. et Dubourget, P.: Vaccins et vaccinatoire contre la rhinotracheite infectieuse bovine. *Develop. Biol. Standard.* 52:415-427, 1982.
172. Soulebot, J. P., Guillemin, F., Brun, A., Dubourget, P., Espinasse, J. and Terre, J.: Infectious bovine rhinotracheitis: Study on the experimentally induced disease and its prevention using an inactivated, adjuvated vaccine. *Develop. Biol. Standard.* 52: 463-483, 1982.
173. Zigraich, N., Lobmann, M., Vascoboinic, E., Berge, E. and Huygelen, C.: *In vivo* and *in vitro* properties of a temperature sensitive mutant of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Res. Vet. Sci.* 16:328-335, 1974.



FOTOGRAFÍA 1. Aspectos morfológicos del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (BHV1) en coloración negativa (100,000 X).

- A) Virión envuelto con la cápside parcialmente destruida. Puede observarse el canal de algunos capsómeros y el genoma viral.

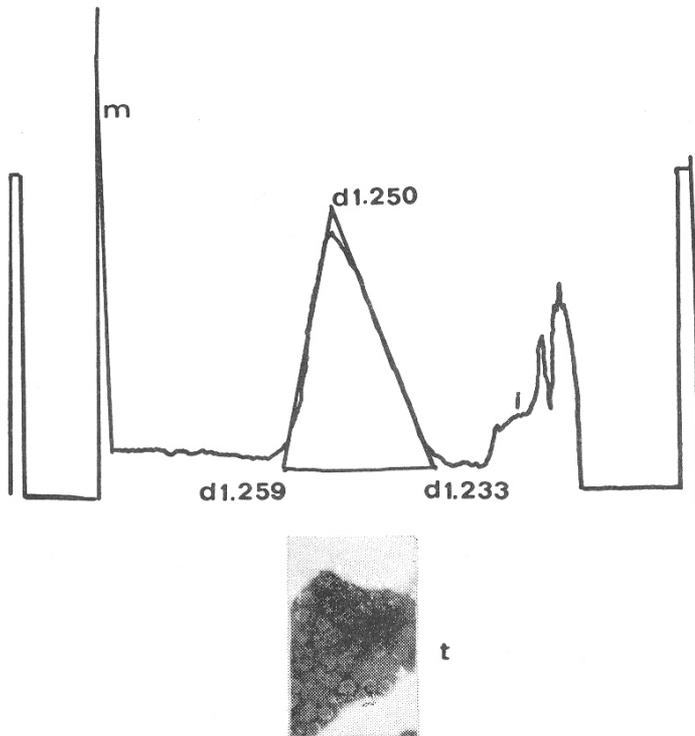
IBRV: Propiedades y Vacunación



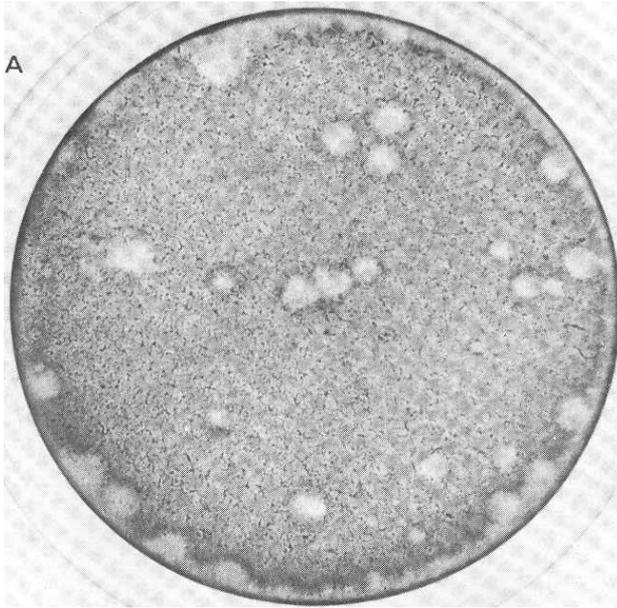
Virión envuelto completo.

FOTOGRAFÍA 2. Centrifugación analítica del virus de la **IBR** en cloruro de cesio (d-1.26 g/cm^2 , 100000 g, 30 horas).

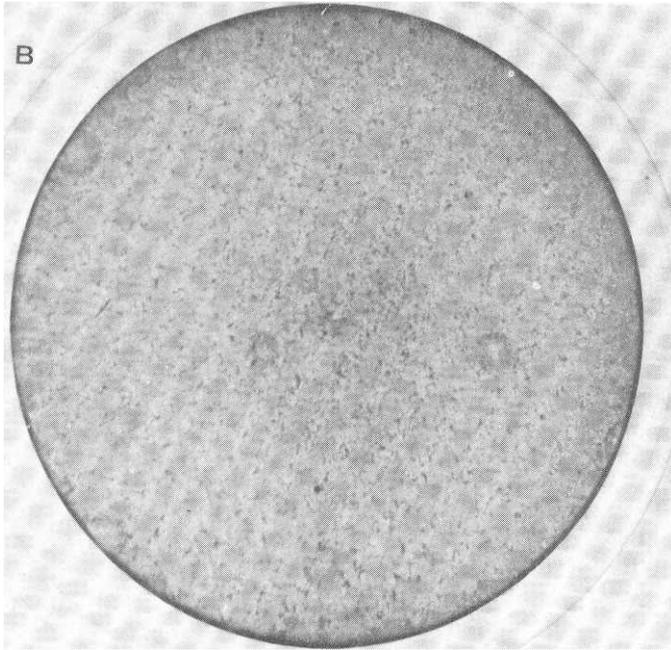
- i) Impurezas.
- j) Tinción negativa de la banda de mayor concentración viral (18000 X).
- m) Menisco.



IBRV: Propiedades y Vacunación



FOTOGRAFÍA 3. Placas del virus de la **IBR** bovina en células MDBK.
A) Ceba **IBR**. Los Ángeles.



FOTOGRAFÍA 3. B) Cepa 92/2/W de Encefalitis (nótese el tamaño reducido de éstas).