

**REPRODUCCION EXPERIMENTAL
DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.
I. INOCULACION DE DOS CEPAS DEL VIRUS HERPES
BOVINO TIPO 1 AISLADAS EN CHILE**

Luis Moraga B. (MV, MS), Eduardo Ruidiaz G. (MV), Livio Zurita A. (MV, MS),
María O. Celedón V. (MV), Patricio Berríos E. (MV, MS, Ph.D.)

**INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS. EXPERIMENTAL INFECTION
OF CALVES BY INOCULATION OF TWO STRAINS OF BHV - 1**

Pathogenicity of two chilean strains of BHV-1 was determined in 7 calves inoculated intranasally. The predominant clinical symptoms observed were dry cough, hypertermia, hyperpnoea, serous nasal discharge, oral pustules and small white plaques on the nasal mucous membranes. After 7 to 12 days all the animals recovered. BHV-1 was isolated from nasal swabs 4 to 15 days after inoculation; viral isolation from ocular swabs was sporadic. Low specific serum neutralization titres were detected until 15 days post inoculation. It is concluded that both strains are able to cause mild respiratory symptoms when inoculated in susceptibles calves.

La Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (RIB) se describió por primera vez como una infección aguda del sistema respiratorio, en predios lecheros y de engorda de ganado (feedlots) en California y Colorado, USA, en el año 1954 (Schroeder y Moys, 1954; Miller, 1955; McKercher y Cols., 1955).

El agente de la RIB es el Virus Herpes Bovino tipo 1 (VHB-1) que se asocia, además de RIB, a numerosos cuadros clínicos, donde sobresale el rol que juega como agente potencial de aborto e infertilidad del ganado bovino (Kahrs, 1977; Gibbs y Rweyamamu, 1977) y como agente causal de encefalitis, provocando alta mortalidad (Beck, 1975; Schifferli y Cols., 1985; Carrillo y Cols., 1985).

Los antecedentes nacionales sobre RIB, datan de 1960 cuando Meléndez y Rodríguez (1960), aislan de mucosa lingual un virus que se comportaba como el causante de RIB; se confirma la presencia del VHB-1 en Chile, cuando Berríos y Cols. (1979) lo aislan y tipifican en exudado nasal de bovinos con síntomas respiratorios; posteriormente se aísla de muestras de lesiones bucales erosivas (Berríos,

1982), de secreción nasal (Reinhardt y Cols., 1984) y desde hígado, bazo y pulmón de un neonato muerto horas después del parto (Berríos y Cols., 1985).

Encuestas serológicas realizadas en Chile, señalan valores de prevalencia que van desde el 21,3% (Casanova y Paredes, 1980) hasta 45,37% con animales positivos, desde la Región Metropolitana hasta la XI Región (Moraga, 1982).

La historia natural de las enfermedades asociadas al VHB-1 y de la rinotraqueítis infecciosa en particular, indica que las manifestaciones clínicas han variado a través del tiempo y la gravedad de los enfermos, cambia de un país a otro; esta dinámica en las enfermedades asociadas al VHB-1, probablemente se deba a factores de manejo animal, patogenicidad de las cepas virales y a la asociación sinérgica con otros agentes infecciosos (Moraga, 1982).

La reproducción experimental de RIB, concuerda con la historia natural de la enfermedad, encontrándose variaciones en la respuesta clínica del huésped (McKercher y Cols., 1963; Smith y Cols., 1980; Schudel y Cols., 1981; Narita y Cols., 1982; Msolla y Cols., 1983a, 1983b; Carrillo y Cols., 1985).

La alta prevalencia de RIB en Chile, la presentación de cuadros clínicos, aparentemente de poca gravedad y los antecedentes históricos de la rinotraqueítis infecciosa bovina, motivaron la ejecución de este trabajo, con el objeto de estudiar la patoge-

Departamento de Ciencias Clínicas y Medicina Preventiva Animal.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15.
Santiago, Chile.
Trabajo financiado por Proyecto A 1648-86 DIB, Universidad de Chile.

nicidad y el efecto de dos cepas de VHB-1, aisladas en Chile, al inocularlas en terneros serológicamente negativos a este agente viral.

MATERIAL Y METODOS

1. Cepas virales

Se utilizaron dos cepas chilenas de VHB-1. La cepa Puente Alto (PA-1977), aislada de secreción nasal en bovinos con sintomatología respiratoria (Berríos y Cols., 1979) y la cepa Frutillar (FAF-1982), aislada en un neonato muerto dos horas después del nacimiento, en un predio con antecedente de abortos recientes (Berríos y Cols., 1985). Ambas cepas de VHB-1 se mantuvieron en cultivos celulares de riñón fetal bovino y congelados a -70°C en el laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Chile.

2. Animales experimentales

Se utilizaron 11 terneros, cinco hembras y 6 machos de 5 a 8 meses de edad, serológicamente negativos a VHB-1. Los animales se mantuvieron en cuarentena durante 30 días previos a la inoculación experimental y fueron enviados a matadero una vez finalizado el experimento (15 días posinoculación). Durante todo el período, la alimentación consistió en heno de alfalfa "ad libitum".

3. Cultivos celulares

Para la preparación de la suspensión viral, aislamiento viral y seroneutralización, se empleó la línea celular de riñón fetal bovino (MDBK).

4. Controles previos al desafío viral

Se realizaron dos controles serológicos con un intervalo de 15 días y un control bacteriológico de muestras de exudado nasal para pesquisar posibles cambios posinoculación. Se realizaron dos exámenes clínicos al día (a las 9 y 16 horas), durante 5 días preinoculación; se registró temperatura rectal, frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca, frecuencia ruminal, características de mucosas, exudado nasal y ocular, el comportamiento y la actitud de los animales.

5. Diseño experimental

Los animales se dividieron en dos grupos, uno de ellos (grupo A) fue inoculado con la cepa VHB-1 PA-1977 y el otro (grupo B) con la cepa VHB-1 FAF-1982. Dos meses después de finalizar el experimento con el grupo A se inoculó a los terneros del grupo B. Dentro de cada grupo los animales se distribuyeron en igual forma, uno de ellos como control (A_0 y B_0), un segundo ternero para realizar

un pasaje de las cepas virales mantenidas en laboratorio (A_1 y B_1), de éstos se aisló la cepa de VHB-1 correspondiente, para la inoculación posterior en los animales restantes del grupo respectivo (A_2 , A_3 , A_4 , A_5 , B_2 , B_3 y B_4).

La inoculación viral de los terneros se realizó mediante un nebulizador de vidrio, conectado a una bomba de vacío; se generó una nube de aerosol, administrando 5 ml de suspensión viral (título $10^{7.6}$ DICT 50/ml) en cada ollar. Los terneros controles fueron inoculados en igual forma, con el sobrenadante de un cultivo celular no infectado.

6. Controles posinoculación

Se continuó con el examen clínico, iniciado 5 días previos a la inoculación, hasta el día 15 posinoculación (p.i.). Diariamente desde el día 0 hasta el día 15 p.i., se tomaron muestras de secreción nasal y ocular para aislamiento viral. Cada 3 días se tomaron muestras de sangre para control serológico.

El día 7 se hizo un control bacteriológico de las muestras de exudado nasal.

El virus aislado de los animales expuestos, fue identificado por su efecto citopático e índice neutralizante, según técnicas convencionales (Jenney y Wessman, 1976). Para el cálculo del índice neutralizante se usó el método de Reed y Muench (1938).

7. Análisis de resultados

Los síntomas clínicos, aislamiento viral y resultados serológicos, fueron descritos y comparados con los animales controles, antecedentes registrados en los animales desafiados, durante los días previos a la inoculación y la información relacionada con RIB, obtenida en la revisión bibliográfica.

RESULTADOS

Los dos grupos de terneros (A y B) inoculados con las cepas de VHB-1, cursaron con síntomas respiratorios que corresponden a una alteración moderada de las vías respiratorias altas, entre el día 2 p.i. y los días 6 a 8 p.i. Los síntomas se caracterizaron por: tos seca, eliminación de exudado nasal seroso a mucoso, taquipnea, hipernea, hipertermia, conjuntivitis leve y congestión moderada de la mucosa nasal, con presencia de pequeñas pústulas que posteriormente formaron placas fibrinonecroticas de pequeño tamaño.

Descripción de los síntomas clínicos

1. Tos. La tos fue seca y persistente, se mantuvo desde el día 2 p.i., hasta el día 7 p.i. en el grupo A y desde el tercero al sexto día en el grupo B.
2. Exudado nasal. La secreción nasal fue seromucosa, y se presentó desde el día 2 p.i. en los

terneros del grupo B, y desde el día 3 en los del grupo A. La secreción se mantuvo seromucosa hasta el día 6 p.i., para luego disminuir (A₅, B₂ y B₄). En el día 8 p.i., la secreción nasal era normal, con la excepción del ternero A₅, en el cual persistió un abundante exudado mucopurulento hasta el día 13 p.i.

3. Taquipnea. La frecuencia respiratoria aumentó en forma importante, sólo en el grupo B, entre los días 2 y 8 p.i. (figura 1 y 2), especialmente en los terneros B₂ y B₄. En el grupo A, la frecuencia respiratoria promedio aumentó en forma leve durante los días 2 y 3 p.i. (figura 1 y 3), y como una consecuencia de la taquipnea del ternero A₄.

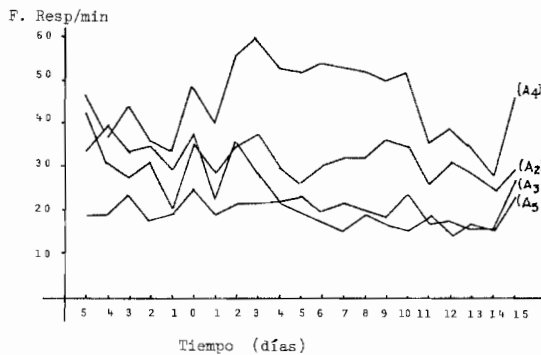


Figura 1. Variación diaria de la frecuencia respiratoria desde 5 días preinoculación hasta 15 días p.i., en los terneros del grupo A. Promedio de los valores registrados a las 9 A.M. y 4 P.M.

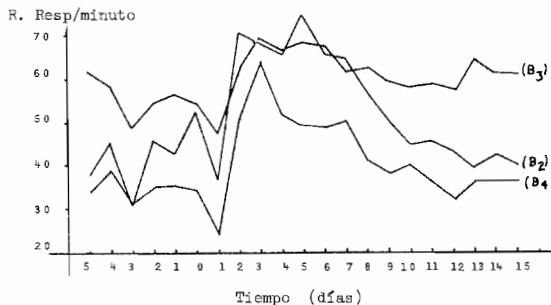


Figura 2. Variaciones diarias de la frecuencia respiratoria desde 5 días preinoculación hasta 15 días p.i., en los terneros del grupo B. Promedio de los valores registrados a las 9 A.M. y 4 P.M.

4. Hipernea. En todos los animales, la intensidad de los movimientos respiratorios y el soplo laríngeo-traqueal, cursó con aumento entre el segundo y sexto día posterior al desafío con las cepas de VHB-1).

5. Hipertermia. La temperatura rectal aumentó por sobre los 39,5°C, desde el día 2 p.i., hasta el cuarto (A₃, A₄, B₄) o quinto p.i. (A₂, B₂ y B₃).

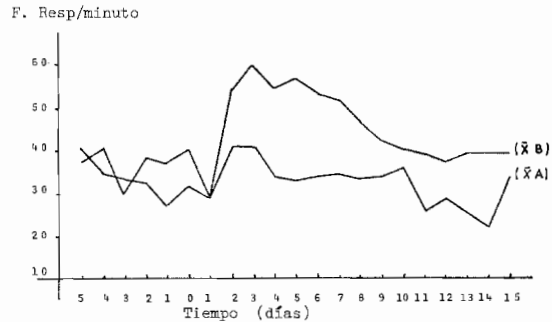


Figura 3. Variaciones diarias de la frecuencia respiratoria. Promedio de los valores registrado en los terneros del grupo A y B. Se excluye el ternero A₅.

El ternero A₅ permaneció con aumento en la temperatura rectal hasta el día 7 p.i. El valor más alto registrado en este estudio, al promediar las temperaturas rectales de la mañana y tarde, fue de 40,6°C en el ternero A₄ durante el día 3 p.i. Los terneros A₂ y A₃ cursaron con leve aumento en la temperatura el día 12 p.i. y el ternero A₅ durante los días 10, 13 y 14 p.i. (figura 4, 5 y 6).

6. Alteración en mucosas. Las conjuntivas de los animales desafiados con ambas cepas de VHB-1, presentaron una congestión leve; en el grupo A durante los días 3 y 4 p.i. y en el grupo B fue manifiesta, sólo en el día 3 p.i.; en los terneros A₃ y B₂ se observó además, leve epífora durante el día 3.

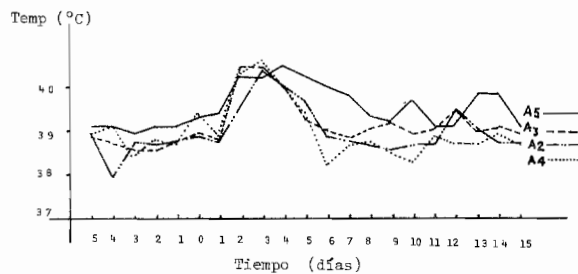


Figura 4. Variaciones diarias de la temperatura rectal desde 5 días preinoculación hasta 15 días p.i., en los terneros del grupo A. Promedio de los valores registrados a las 9 A.M. y 4 P.M.

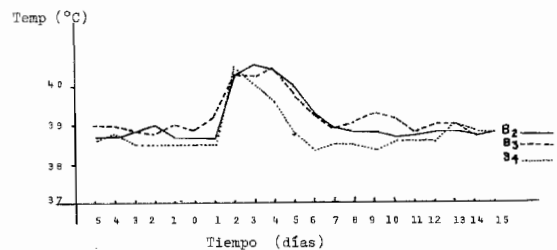


Figura 5. Variaciones diarias de la temperatura rectal desde 5 días preinoculación hasta 15 p.i., en los terneros del grupo B. Promedio de los valores registrados a las 9 A.M. y 4 P.M.

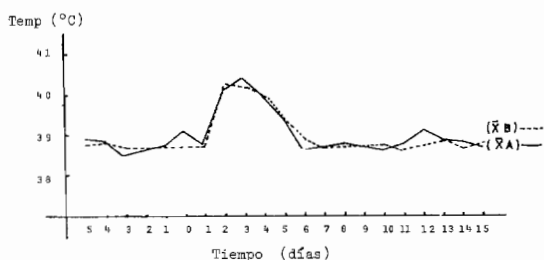


Figura 6. Variaciones diarias de la temperatura rectal. Promedio de los valores registrados en los terneros del grupo A y B. Se excluye el ternero A₅.

En ambos grupos, desde el día 3 p.i., la mucosa nasal se observó con hiperemia moderada y pequeñas pústulas blanquecinas. En los animales del grupo A, éstas aumentaron de tamaño, uniéndose entre sí para formar placas fibrinonecroticas de pequeño tamaño, observándose entre los días 7 y 9 p.i., desapareciendo posteriormente sin dejar secuelas.

En el ternero A₅, las placas fibrinonecroticas, persistieron hasta el día 12 p.i.

De las constantes fisiológicas controladas, la frecuencia cardíaca y la frecuencia ruminal se mantuvieron dentro de los rangos normales para la especie, durante todo el período experimental.

Aislamiento de las cepas de VHB-1 y seroneutralización

El VHB-1 fue aislado e identificado en cultivos de riñón fetal bovino a partir de las muestras obtenidas de secreción nasal y ocular, en los dos grupos de terneros desafiados con VHB-1.

Los animales del grupo A, eliminaron virus en la secreción nasal desde el primer día, hasta los días 9 a 11 p.i. El ternero A₅ continuó eliminándolo hasta el día 15 p.i. (cuadro 1).

Los animales del grupo B, también eliminaron virus desde el primer día p.i., permaneciendo positivos por un promedio de 6 días (cuadro 1).

La eliminación de virus en la secreción ocular fue positiva, de manera esporádica, en todos los animales inoculados, a excepción del ternero B₄ que no lo eliminó por dicha vía (cuadro 2).

CUADRO 1
INOCULACION EXPERIMENTAL DEL VHB-1/CEPAS PA-77 Y FAF-82. AISLAMIENTO DE VIRUS EN SECRECION NASAL Y OCULAR POR LOS TERNEROS. GRUPOS A Y B

Terneros y Tipo de Secreción	Días de posinoculación															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Secreción																
Nasal																
A ₂	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A ₃	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
A ₄	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
A ₅	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B ₂	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B ₃	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B ₄	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II Secreción																
Ocular																
A ₂	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₃	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₄	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
B ₂	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B ₃	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B ₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

0 Día en que se inoculó a los animales.
- muestras negativas.
+ muestras positivas.

CUADRO 2
 INOCULACION EXPERIMENTAL DEL VHB-1/CEPA PA-77
 Y FAF-82. RESPUESTA SEROLOGICA DE LOS TERNEROS
 DEL GRUPO A Y DEL GRUPO B

Animales	Días de posinoculación y títulos serológicos*					
	0	3	6	9	12	15
A ₂	< 2	2	4	4	4	4
A ₃	< 2	2	2	4	4	4
A ₄	< 2	3	2	2	4	4
A ₅	< 2	4	4	4	4	4
B ₂	< 2	3	3	8	16	16
B ₃	< 2	2	2	2	2	4
B ₄	< 2	2	2	4	4	4

* Valor recíproco de la mayor dilución de suero que neutraliza 100 DICT₅₀ de virus.

0 Día en que se inoculó a los animales.

DISCUSION

La respuesta clínica que se indujo experimentalmente en terneros, caracterizada por: secreción nasal serosa a mucosa, tos, hipertermia, hipernea y taquipnea, pústulas y placas fibrinonecroticas en la mucosa nasal, concuerda con lo descrito en diversos trabajos de inoculación experimental realizados con diferentes cepas de VHB-1 (Markson y Darbyshire, 1966; Lupton y Reed, 1980; Allan y Msolla, 1980; Edwards y Cols., 1983). En este estudio, no se observó salivación profusa, en ausencia de lesiones orales, síntoma descrito por Smith y Cols. (1980); Msolla y Cols. (1983 a,b).

Los dos grupos de terneros (A y B) presentaron un cuadro clínico similar; aunque los síntomas de los animales inoculados con la cepa PA-1977 (grupo A) pueden calificarse como ligeramente más marcados y con un curso y eliminación viral más prolongado que los expuestos a la cepa FAF-1982 (grupo B). Estas diferencias podrían ser causadas por el origen de las cepas; la primera aislada de un cuadro respiratorio (Berríos y Cols., 1979) y la cepa FAF-82, de diversos órganos de un mortinato (Berríos, 1985). Este resultado concuerda con Gillespie y Cols. (1959), quienes describen mayor patogenicidad sobre el sistema respiratorio de las cepas aisladas de un cuadro de RIB, en comparación a otras aisladas desde el tracto genital; sin embargo, House (1972) no encontró diferencias clínicas al realizar inoculaciones con cepas de distinto origen, Msolla y Cols. (1983b) encuentran diferencias importantes en la patogenicidad de cepas de VHB-1, aisladas en distintos brotes de RIB, que se presentaron en Inglaterra. Es probable que los resultados contradictorios en la patogenicidad de las cepas puede deberse, más que al origen inmediato, al grado de adaptación que haya alcanzado una deter-

minada cepa de VHB-1, al sistema respiratorio del bovino.

Otro factor importante en el efecto de una cepa de VHB-1 sobre el huésped, es la condición individual; en este estudio, además de algunas diferencias de grado en la intensidad de los síntomas, hubo algunos como taquipnea, que no lo presentaron todos los animales de un mismo grupo (figura 1). Donde mejor se manifestó el factor individual, fue en el ternero A₅ (figura 4), el que prolongó el cuadro clínico hasta el día 12 p.i., persistiendo la eliminación viral, en secreción nasal, hasta el día 15 y con eliminación tardía en secreción ocular entre los días 9 y 14 p.i. (cuadro 1), que coincide con un segundo período de alza térmica (figura 4). La respuesta clínica más severa de este ternero podría deberse a fibrosis hepática, comprobada "post mortem", lo cual en alguna medida pudo alterar la respuesta inmunológica. Según House (1972), animales como éste eliminan virus durante tiempo más prolongado, pudiendo presentar períodos de recurrencia en la enfermedad, y por lo tanto, ser una fuente de contagio importante para huéspedes susceptibles.

El aislamiento de virus en secreción nasal (cuadro 1), concuerda con lo descrito por McKercher (1963), quien señala que puede aislarse con seguridad durante 6 a 8 días, siendo raro después del día 12).

El aislamiento de VHB-1 fue más constante y por mayor tiempo, en muestras de secreción nasal que en secreción ocular (cuadro 1), lo cual concuerda con lo obtenido por Msolla y Cols. (1983a), indicando que la muestra de elección, ante sospechas de RIB, sería la secreción nasal.

Los títulos serológicos, obtenidos por seroneutralización, aunque bajos (cuadro 2), son suficien-

tes para afirmar que los terneros inoculados, desarrollaron una seroconversión de negativos a positivos.

Los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que la inoculación experimental con cepas de VHB-1 aisladas en Chile, son capaces de inducir síntomas que corresponden a una alteración de vías respiratorias altas; sin embargo, estos síntomas no son lo suficientemente específicos para diagnosticar con certeza, mediante la observación clínica, que corresponden a RIB, pudiendo en el medio natural, ser atribuidos a otros agentes que participan en la etiología del complejo respiratorio del bovino. Estos resultados, en alguna medida, podrán explicar la alta prevalencia de las enfermedades asociadas al VHB-1 en el país, a pesar de los escasos antecedentes clínicos (Moraga, 1982).

La intensidad de la respuesta clínica, al desafiar animales con el VHB-1, es menor en algunos trabajos (Frank y Cols., 1978) y en otros más marcada que la obtenida en este estudio (Narita y Cols., 1982), aunque resulta difícil realizar comparaciones exactas entre las distintas investigaciones; las cepas de VHB-1 inoculadas en este estudio podrían calificarse, tentativamente, como de patogenicidad moderada.

Los antecedentes bibliográficos sobre RIB, señalan que los signos clínicos y las lesiones patológicas, en la reproducción experimental, resultan similares, pero más benignos que en los cuadros producidos en forma natural (Shroyer y Easterday, 1968; Msolla y Cols., 1983a), de tal manera que de los resultados obtenidos, puede inferirse que las cepas de VHB-1, podrían provocar cuadros clínicos más graves, en el medio natural, dependiendo de factores individuales, del huésped, de condiciones estresantes en el medio ambiente, de factores de manejo animal que conduzcan a una mayor concentración de animales (favoreciendo un pasaje más rápido del agente viral y un eventual aumento en la patogenicidad de las cepas), sinergismo con otros agentes virales, como el virus diarrea viral bovina y por último dependiendo de infección secundaria con agentes bacterianos.

RESUMEN

La patogenicidad y efecto de dos cepas de VHB-1 aisladas en Chile, se evaluó mediante la respuesta clínica y exámenes virológicos de siete terneros inoculados por vía nasal.

Los síntomas clínicos predominantes fueron: tos seca, hipertermia, hipernea, secreción nasal serosa a mucosa y presencia de pústulas y placas fibrino necróticas, de pequeño tamaño, en la mucosa nasal. Todos los animales recuperaron su estado inicial, entre los 7 a 12 días posinoculación (p.i.).

El agente viral se aisló, desde secreciones nasales, entre 4 a 15 días p.i.; el aislamiento de secreción ocular fue esporádico. Los títulos seroneutralizantes que se obtuvieron hasta el día 15 p.i. fueron bajos, comprobándose en todos los terneros seroconversión de negativos a positivos.

Mediante este experimento se demostró que las cepas de VHB-1 inoculadas, son capaces de causar alteraciones moderadas en las vías respiratorias altas de los bovinos.

REFERENCIAS

- ALLAN, E.M., P.M. MSOLLA. Scanning electron microscopy of the tracheal epithelium of calves inoculated with bovine herpes virus 1. *Res. Vet. Sci.* 29: 325-327, 1980.
- BECK, B.E. Infectious Bovine Rhinotracheitis Encephalomyelitis in cattle its differential diagnosis. *Can Vet. J.* 16: 269-271, 1975.
- BERRÍOS, P. Rinotraqueítis infecciosa bovina. Monografías de Méd. Vet., Depto. Cs. Clínicas Fac. Cs. Agr. Vet. y Forestales. U. de Chile (Santiago). 4: 60-83, 1982.
- BERRÍOS, P., M.O. CELEDÓN, F. CORTÉS, M. LUENGO. Aislamiento del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina en un brote de aborto en la zona sur de Chile. *Arch. Med. Vet. (Valdivia, Chile)*. 12: 49-52, 1985.
- BERRÍOS, P., M. JARPA, S. HERRERA. Aislamiento y tipificación del virus de la rinotraqueítis infecciosa de bovinos con sintomatología respiratoria. *Arch. Med. Vet. (Valdivia, Chile)*. Suplem. 1: 140-141, 1979.
- CARRILLO, B.J., F.J. BLANCO VIERA, M.E. BARRANDEGUY, J.J. PEREIRA, N. FONDEVILLA, S.J. DUFFY, D. GAVIER, G. BERRA, A., BOLONDI, I.A. LAGER. Patología y Patogenia de encefalitis vírica experimental (HVB-1) en terneros. Xº Cong. Panam. de Vet. y Zootec. Buenos Aires, Argentina, 1985, 085.
- CASANOVA, A., A. PAREDES. Rinotraqueítis infecciosa bovina. Encuesta Serológica en VII y VIII Regiones de Chile. III Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Santiago, Chile, 1980.
- EDWARDS, S., D. CHASEY, H. WHITE. Experimental infectious bovine rhinotracheitis: Comparison of four antigen detection methods. *Res. Vet. Sci.* 34: 42-45, 1983.
- FRANK, G.H., R.G. MARSHALL, P.C. SMITH. Clinical and immunologic responses of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus after infection by viral aerosol or intramuscular inoculation. *Am. J. Vet. Res.* 38: 1497-1502, 1978.
- GIBBS, E.P., M.M. RWEYEMAMU. Bovine herpes viruses. Part I. Bovine herpes virus 1. *Vet. Bull.* 47: 317-338, 1977.
- GILLESPIE, J.H., K. MCENTEE, J.W. KENDRICK, W.C. WAGNER. Comparison of infectious pustular vulvovaginitis virus with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Cornell Vet.* 49: 288-297, 1959.
- HOUSE, J.A. Bovine herpes virus IBR - IPV. Strain differences. *Cornell Vet.* 62: 431-453, 1972.
- JENNEY, E.W., S.J. WESSMAN. Serologic microtiter technique for diagnostic virology. Diagnostic Virologic Section. Veterinary Services Diagnostic Laboratory. Animal, Plant and Health Inspection Service. Iowa, USA., 1976.
- KAHRS, R.F. Infectious bovine rhinotracheitis: A review and update. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 171: 1055-1064, 1977.
- LUPTON, H.W., D.E. REED. Clearance and shedding of infectious bovine rhinotracheitis virus from the nasal mucosa of immune and nonimmune calves. *Am. J. Vet. Res.* 41: 117-119, 1980.

- MARKSON, L.M., J.H. DARBYSHIRE. The reaction of calves to experimental infection with the Oxford strain of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Br. Vet. J.* 122: 522-543, 1966.
- McKERCHER, D.G. Studies of the etiologic agents of infectious bovine rhinotracheitis and Bläschenausschlag (coital vesicular exanthema). *Am. J. Vet. Res.* 24: 501-509, 1963.
- McKERCHER, D.G., J.E. MOULTON, J.W. KENDRICK, J.K. SAITO. Recent developments in upper respiratory disease of cattle. *Proc. U.S. Livestock. Sanit. Ass.* 59: 151-172, 1955.
- McKERCHER, D.G., E.M. WADA, O.C. STRAUB. Distribution and persistence of infectious bovine rhinotracheitis virus in experimentally infected cattle. *Am. J. Vet. Res.* 24: 510-514, 1963.
- MELÉNDEZ, L., R. RODRÍGUEZ. Aislamiento en cultivo de células de un agente infeccioso que se comporta in vitro como el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina. *Rev. Soc. Med. Vet. (Chile)* 10: 3-6, 1960.
- MILLER, N.J. Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 126: 463-467, 1955.
- MORAGA, L. Primeros antecedentes poblacionales sobre el complejo Rinotraqueítis Infecciosa Bovina-Vulvovaginitis Pustular Infecciosa (BIB/VPI) en Chile. Tesis. Santiago. Escuela de Post-Grado. Fac. Cs. Agrarias, Veterinarias y Forestales, Universidad de Chile, 1982.
- MSOLLA, P.M., A. WISEMAN, E.M. ALLAN, I.E. SELMAN. Experimental infection of cattle of different ages with infectious bovine rhinotracheitis virus (Strichen strain). *J. Comp. Path.* 93: 205-210, 1983 a.
- MSOLLA, P.M., A. WISEMAN, E.M. ALLAN, I.E. SELMAN. A comparison of the virulence of three strains of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Vet. Microbiol.* 8: 129-134, 1983 b.
- NARITA, M., S. INVI, K. NAMBA, Y. SHIMIZU. Pathological changes in young and adult cattle after intranasal inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Comp. Path.* 92: 41-49, 1982.
- REED, L.J., H.A. MÜNCH. A simple method of estimating fifty-percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497, 1938.
- REINHARDT, G., V. HOCHSTEIN-MINTZEL, M. NIEDDA, M. AGUILAR, O. ILLANES, S. RIEDEMANN. Aislamiento del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina en Valdivia. *Arch. Med. Vet. (Valdivia-Chile)*. Número Extraordinario: Resúmenes de trabajos del V Congreso de Med. Vet. 1-018, 1984.
- SCHIFFERLI, C.A., J.A. GIRAUDO, H. GONZÁLEZ. Comunicación clínico-patológica de dos brotes encefalíticos de rinotraqueítis bovina infecciosa. Xº Con. Panam. de Vet. y Zootec. Buenos Aires, Argentina, 1985, 189.
- SCHROEDER, R.J., M.D. MOYS. An acute upper respiratory infection of dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 125: 471-472, 1954.
- SCHUDEL, A.A., I.A. LAGER, N. FONDEVILA, A.M. SADIR, F. FERNÁNDEZ, J. MIQUET, F.J. BLANCO VIERA, S.J. DUFFI, C.N. CORBELLINI, B.J. CARRILLO. Rinotraqueítis infecciosa bovina (HVB-I). IV: Patogenicidad experimental de la Cepa L-114. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 62: 464-472, 1981.
- SHROYER, E.L., B.C. EASTERDAY. Studies on the pathogenesis of infectious bovine rhinotracheitis following aerosol exposure. *Cornell Vet.* 58: 442-461, 1968.
- SMITH, V.W., W. COACKLEY, D. MAKER. Transmission of a genital isolate of bovine herpesvirus 1 to calves by the respiratory route. *Aust. Vet. J.* 56: 302-303, 1980.

Recibido agosto 1986, aprobado octubre 1986.