

## CAPÍTULO XVI

### DIFICULTADES EN EL CONTROL DE IBR Y DVB EN LA REPRODUCCIÓN

- I. INTRODUCCIÓN
- II. INMUNOLOGIA PRÁCTICA
- III. DIAGNÓSTICO
- IV. CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS DE DVB e IBR
- V. CALENDARIO DE VACUNACIÓN
- VI. LITERATURA CITADA

## **I. INTRODUCCIÓN**

La vacunación contra las enfermedades virales de los bovinos es ya una práctica regular no sólo en aquellos establecimientos pecuarios que están a la vanguardia en sus procedimientos de diagnóstico y medidas profilácticas sino también en todos aquellos hatos que buscan controlar sus parámetros reproductivos y el estado de salud de sus animales.

Las cuatro principales enfermedades virales de los bovinos que impactan con mayor grado a la economía de esta ganadería son la Diarrea Viral Bovina (DVB), Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Respiratorio Sincitial Bovino (VRSB) y Parainfluenza 3 (PI3) [7, 16]. En el pasado solo se atribuía como causa principal de infecciones respiratorias a los agentes bacterianos, ahora está bien claro que los virus señalados son el factor desencadenante de las enfermedades respiratorias y en algunos casos, la causa única. Lamentablemente los dos primeros virus no sólo afectan el aparato respiratorio, siendo común verlos también implicados como causales de importantes pérdidas económicas al provocar problemas reproductivos como infertilidad, mayor número de días vacíos, abortos, mortinatos, etc. Por si esto fuera poco, si a esas pérdidas relacionadas al aparato respiratorio y reproductor le añadimos las que no solemos ver, como lo que sucede con los iceberg, podríamos observar que el efecto inmunosupresor que genera DVB, predispone al ganado a innumerables problemas como las Neosporosis [3], VRSB, diarreas y mastitis. Todos estos problemas son de igual o mayor importancia económica que los previamente señalados que se manifiestan con signos clínicos más afines a dichas enfermedades.

El propósito de este Capítulo es demasiado ambicioso ya que pretende resumir actividades prácticas, desarrolladas en distintas latitudes y condiciones de campo, así como el apoyo científico que proporciona las suficientes bases que nos permitan diseñar un adecuado calendario de vacunación destinado al control de estas enfermedades virales y que se adapte lo mejor posible a cada condición en particular.

Para lograr este objetivo y llevar a cabo un adecuado programa preventivo contra IBR y DVB, resulta indispensable profundizar en cuatro puntos principales, soportados todos por un inmensurable esfuerzo tecnológico siempre cambiante. Estos aspectos son los relacionados a la inmunología, al diagnóstico, al comportamiento sui géneris de cada una de estas patogenicias virales y al manejo del medio ambiente, aunque éste último punto no será abordado en esta oportunidad.

## **II. INMUNOLOGÍA PRÁCTICA**

Es preciso recordar algunos aspectos de la respuesta inmune, para señalar que en muchas ocasiones una vacunación oportuna en tiempo y forma, puede ser determinante para el éxito de los programas de prevención. Las implicaciones a las que se pueden incurrir cuando los tiempos de vacunación no son los adecuados varían en relación directa con la presencia de anticuerpos circulantes, el momento del desafío, una adecuada secuencia de revacunaciones, con la vacunación de animales estresados o enfermos y con un adecuado antígeno, esto solo por mencionar algunas de las principales causas. Incurrir en la omisión de estos detalles como sería el simple hecho de

vacunar con un mes de diferencia o aplicar una vacuna que se disolvió 3 ó 4 horas antes de su aplicación puede ser causa suficiente para un resultado pobre en la prevención de estas enfermedades.

Basta recordar que la respuesta inmune se da como un concierto en perfecta armonía en donde tienen que coincidir niveles adecuados de células presentadoras de antígenos (CPA) con la presencia de los antígenos vacunales. Si estos macrófagos (CPA) se encuentran en buen nivel en el momento de la vacunación y el animal vacunado cuenta con un estado de salud óptimo, es casi una garantía que la primera parte del proceso se llevará a cabo. Para procesar la producción de anticuerpos, el organismo requiere de una nueva presencia de estos antígenos algunos días después de la infección original, con el fin de activar con mayor potencia la comunicación entre linfocitos T y B. Esta comunicación la realizan mediante interlucinas producidas principalmente por los linfocitos T ayudadores; si esto no ocurre en la forma adecuada la respuesta será pobre en función de la cantidad de anticuerpos y de células de memoria. Por ello, resulta indispensable asegurarse que si se aplica una vacuna a virus vivo, esta haya sido realmente capaz de replicar y proveer de esa cantidad extra de antígeno para llevar a cabo la respuesta señalada.

Cuando se trata de una vacunación inicial con virus muerto donde no se encuentran células de memoria previamente elaboradas (*i.e.* primovacunación) será indispensable poner una segunda dosis alrededor del día 21 posterior a la primera dosis; su objetivo sería imitar lo que ocurriría en forma natural cuando el organismo está respondiendo eficientemente a un ataque viral. Esta explicación sostiene el hecho de que un animal en buen estado de salud es capaz de responder eficientemente a una vacuna polivalente (con muchos antígenos) si se cuenta con una vacuna en donde la empresa productora ha puesto mucho cuidado en su elaboración, de forma tal que ningún antígeno reduzca o inhiba la respuesta inmune en sí.

Existen formas artificiales para ayudar a que la respuesta inmune se incremente a pesar de emplear vacunas a virus muerto. La manera de imitar una fuerte respuesta vacunal similar a la de algunas vacunas con virus vivos, es mediante la adición de un adecuado adyuvante que tenga la suficiente tecnología para proteger al antígeno y favorecer la actividad de las CPA. Es deseable que estas vacunas contengan una gran cantidad de masa antigénica o un virus muy inmunógeno para generar una fuerte respuesta de anticuerpos. Aún a pesar de cumplir con las premisas anteriores, puede ser insuficiente si estos anticuerpos producidos no coinciden con la estructura (epitopes) del virus de campo, ya que depender de una protección cruzada pone en riesgo la eficacia de esta vacuna.

Otro concepto que abarca la inmunología y que está íntimamente involucrado en la implementación y desarrollo de calendarios de vacunación es el tiempo que perduran los anticuerpos calostrales en los becerros, ya que estos son capaces de neutralizar y opzonizar no solo a los virus de campo sino también a los vacunales. Conocemos que los anticuerpos para estos virus duran alrededor de 28 días de vida media [10], por lo que resultará indispensable vacunar a los becerros (as) lo antes posible, para no dar oportunidad a que los virus infecten al grupo de animales más importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que las crías representan el futuro de un hato sano y productivo. Por otro lado, debemos tener la precaución de no vacunar a una edad muy

temprana, que pueda ocasionar falla vacunal por bloqueo de los anticuerpos calostrales. Esta situación es extrapolable al ganado adulto y puede explicar porque en ocasiones cuando se revacuna con vacunas a virus vivo y los títulos de anticuerpos siguen elevados, puede ocurrir el mismo fenómeno de neutralización. Por ello es que las tasas de seroconversión (aumento de por lo menos 4 veces del título previo) de los becerros seronegativos vacunados son más elevadas que aquellos animales que cuentan con anticuerpos [10].

Una de las formas que se suele emplear para ampliar la protección cruzada en el caso de DVB, es aprovechar la capacidad que tienen los virus vivos de replicar mostrando la mayoría de sus glicoproteínas tanto estructurales como no estructurales, ya que aparentemente esto permite una mayor protección cruzada entre distintos genotipos. Otra forma más lógica para lograr esta protección directa es la de incluir cepas actualizadas en la vacuna, lo cual resulta indispensable en especial en aquellos países donde no se permite por razones de seguridad, el uso de vacunas elaboradas con virus vivos.

### III. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de estas enfermedades es también un pilar en la decisión para implantar o corregir un protocolo de vacunación. Para llevar a cabo una vacunación también se sugiere que se conozca la situación actual del ganado para detectar la presencia de animales infectados o la distribución de la enfermedad, tarea que se dificulta particularmente con DVB, si no se cuenta con medios diagnósticos actualizados o con reactivos afines a los virus de campo o virus vacunales, que se desean evaluar. La misma dificultad que tienen los anticuerpos generados por una vacuna para proteger al virus de campo cuando no comparten las mismas características (glicoproteínas), le ocurre a los kits de diagnóstico. Adicionalmente a esta problemática, los laboratorios de diagnóstico convencionales no cuentan con los procesos para la identificación del antígeno (virus) como es el caso del aislamiento viral (la mejor opción si la muestra se toma oportunamente). Tampoco utilizan la Reacción de Cadena de la peroxidasa (PCR) que permite reconocer partes del genoma, la Inmunofluorescencia (FA) del antígeno en tejidos (preferentemente tejido linfático) o pruebas Inmunohistoquímicas (IHC) que superan a la anterior porque amplifican la señal antigénica mediante una reacción enzimática [5]. En algunos países donde PCR es ya una prueba rutinaria se lleva a cabo en forma colectiva (de 15 a 20 sueros) con el fin de detectar a los animales PI [1].

El no contar con estos procedimientos y debido a las dificultades que nos representan las serologías para detección de anticuerpos, tenemos que emplear una interpretación cuidadosa de los resultados que estas últimas pruebas arrojan, ya que con mucha frecuencia nos dan resultados falsos negativos. Se considera que los anticuerpos obtenidos por Suero Neutralización ofrecen un menor margen de error que lo que pudiera obtenerse con los kits de ELISA, pero esta prueba también demanda mayor preparación de la gente de laboratorio, ya que tiene la desventaja de ser susceptible a contaminación de las muestras y a fallas en los reactivos o cepas de referencia [1].

Para ilustrar la dificultad del diagnóstico, tenemos como ejemplo algunas situaciones donde hay que aplicar nuestro criterio y experiencia y tomar con reserva los resultados. Ello ocurre con los animales persistentemente infectados (PI) que nunca

mostrarán anticuerpos a la cepa del virus que los infectó, también en la interpretación de los niveles de anticuerpos en una vaca que acaba de abortar, porque el feto pudo haber muerto hace un par de meses y haber arrojado el producto recientemente. Lo mismo sucede cuando la lectura de las muestras pareadas (muestras de sangre que se deben tomar al inicio de la enfermedad y 15 a 21 días después) no se efectuaron en forma simultánea o cuando se considera libre de IBR a un animal infectado hace mucho tiempo y que ya no tiene título de anticuerpos elevados en el momento de la toma de la muestra. Si encontramos cierta homogeneidad dentro de las muestras podemos pensar que se trata de anticuerpos vacunales, mas aún si coincide con una vacunación reciente. Esto no siempre ocurre con VRSB, ya que este virus no suele marcar adecuados niveles de anticuerpos ni siquiera con vacunas elaboradas con virus vivos [7].

#### IV. CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS DE DVB e IBR

Tal parece que el comportamiento de los virus fuera un tanto racional, ya que resultan muy elusivos y muy hábiles para asegurar su persistencia, como es el caso de DVB e IBR entre otros. Cuando pensamos en establecer programas de vacunación es recomendable tener siempre en mente el comportamiento de cada uno de estos patógenos si queremos tener éxito en su control y eventual erradicación.

##### 1. Diarrea Viral Bovina (DVB)

Es curioso observar como el impacto de la moda también afecta la perspectiva de estas enfermedades de acuerdo al país en que uno se encuentre. Este comentario aplica a DVB ya que en aquellos países donde los medios diagnósticos se encuentran muy desarrollados, esta enfermedad suele llamar más la atención que inclusive IBR. Por ejemplo en USA y Japón los veterinarios se desgastan más tratando de proteger al ganado en contra de DVB que de IBR [15], enfocando sus actividades de las siguientes maneras:

- a. Uno de los objetivos principales en el control de DVB es el de reducir el número de animales persistentemente infectados (PI) ya que estos animales están diseminando virus en forma constante, a diferencia de lo que ocurre en un brote agudo, en el cual la diseminación suele circunscribirse a unos cuantos días. Si además recordamos que estos animales PI se originan en la edad fetal, entre los 40 y 120 días de gestación [13] resulta evidente que debemos lograr un alto nivel de protección en las hembras que están en etapa reproductiva.
- b. También se ha puesto mucho énfasis en la importancia de vacunar a los futuros reemplazos, ya que este grupo de animales también juegan un papel importante en la diseminación de la enfermedad, además de poner en riesgo su propio desarrollo, estado de salud y el futuro de la finca.
- c. Dentro de las prácticas reproductivas rutinarias se encuentra la verificación del semen empleado en la inseminación artificial o las pruebas que se realizan a los toros empleados en monta natural, ya sea mediante anticuerpos circulantes por medio de suero neutralización o buscando el antígeno (virus) mediante PCR, IHC o FA, debido a que este virus para diseminarse infecta los testículos de los toros y

los anticuerpos contra DVB no logran llegar fácilmente a este tejido, de ahí que un semental puede estar eliminando virus por un periodo de 7 o hasta inclusive 20 semanas en forma continua.

- d. Debe controlarse el contacto con otras especies animales (pequeños rumiantes y cerdos) o fomites que representan otra forma de contagio, siendo evidente que la bioseguridad no sólo resulta importante en la industria avícola o porcina. El virus de DVB es una enfermedad de alta prevalencia pero que rara vez causa importantes brotes con signos clínicos marcados. Esto es debido a que la diseminación se da por contacto directo y regularmente los animales transmisores conviven con sólo cierto número de animales en el hato. Además, con cierta frecuencia se tiene una cierta protección natural a nivel de hato. Este fenómeno también se está incrementando por las buenas prácticas de vacunación.
- e. Debido a lo mencionado es que tanto ganaderos como veterinarios están implementando medidas de bioseguridad en apoyo al manejo profiláctico. El hecho de no manifestarse en forma de brote hace que los propietarios al no ver un problema agudo, resten importancia al impacto económico que genera esta enfermedad, sin mencionar la importancia de su efecto inmunosupresor en todo el hato.
- f. Otro aspecto importante relacionado a las características evasivas de este virus es su gran capacidad de mutar con facilidad, lo que ha generado un cambio en su genotipo a través del tiempo. Ello se ha podido demostrar en latitudes tan variadas como puede ser Japón [14], Estados Unidos o Latino América, donde observamos que la población viral está cambiando de ser DVB Tipo Ia y Ib hacia DVB Tipo II, como sucede también en Venezuela [13], donde ya se han tipificado cepas nuevas de DVB y seroprevalencias del 42% por medio de ELISA.

Ciento cuarenta aislamientos clasificados en los expedientes del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), desde 1960 a 1993 fueron analizados por Ridpath y Bolin, siendo 76 clasificados como tipo II y 64 como tipo I, lo que significa que el tipo II ya existía pero dado a que la protección vacunal ha estado dirigida a DVB tipo I se presupone que esto también ha contribuido al cambio y prevalencia de la cepa del tipo II. Esto impone un reto constante a las casas elaboradoras de biológicos no sólo en la especie bovina.

A pesar de todas las consideraciones anteriores y a la aparente labilidad de DVB al medio ambiente, no han sido suficientes para evitar que la enfermedad de DVB haya logrado una distribución mundial. Es por ello que la práctica de la vacunación debe ser una actividad altamente recomendada por todos los expertos en la materia.

## 2. Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR)

El virus de IBR no se queda atrás respecto a los diferentes medios para perdurar en los bovinos, resaltando una característica peculiar de los virus Herpes, es decir, su capacidad de permanecer en estado de latencia una vez que ha logrado infectar. Esto le permite pasar desapercibido ante los anticuerpos circulantes y permanecer oculto por varios meses hasta que el huésped entra en un periodo de inmunosupresión o estrés, de tal manera que favorezca la replicación del virus generando un nuevo brote. Lo curioso es que normalmente estos animales no son los más afectados en este nuevo brote,

por lo que se considera que cualquier animal que haya sido expuesto o que tenga anticuerpos a IBR puede ser un portador en latencia. Esto dificulta no sólo la toma de decisiones respecto al futuro de los animales que han estado presentes en un brote de IBR si no también a la decisión sobre que vacuna deberemos de utilizar. Algunos países de Europa (Alemania y Bélgica) debido a un gran apoyo económico y por razones geográficas, se encuentran en un avanzado proceso de control y erradicación de esta enfermedad pudiendo inclusive no vacunar o emplear una vacuna que se comercializa en esas latitudes que tiene la posibilidad de diferenciar sus anticuerpos de los producidos por el virus de campo, al no tener un gen (glicoproteína E); sin embargo, su capacidad de protección ante desafíos verdaderos es cuestionable ya que su prevalencia es escasa. Ante un escaso desafío de campo, las instituciones reguladoras de salud se dirigen a las pruebas de seguridad y reducen sus exigencias de eficacia.

Al igual que en el caso de DVB el uso de vacunas vivas de IBR ha generado muchas controversias debido a sus grandes desventajas, lo que al poner en la balanza nos hace pensar que los beneficios son superados por las desventajas, como lo demuestran muchos trabajos de vacunaciones comparando vacunas vivas y muertas [6, 8]. Las respuestas de los animales que recibieron vacunas con virus vivo de IBR fueron más erráticas o no se mostraron incrementos de anticuerpos en revacunaciones comparado con los resultados que dan los virus vivos de DVB. Otra gran desventaja que limita a estas vacunas de virus vivos de IBR son los problemas de inmunosupresión, infertilidad y abortos [4, 6, 11, 12]. Los abortos o reabsorciones pueden llegar a representar en aquellos animales vacunados con vacunas de IBR vivas y con niveles bajos de anticuerpos hasta niveles de 47.7, con medias de 20.5% [14] cuando se vacunan animales que conviven con hembras gestantes también con títulos de anticuerpos bajos. Estas vacunas han mostrado generar infertilidad por un periodo hasta 2 ó 3 meses post vacunación, ya que si el virus logra replicar lo hace en una de sus células preferidas (blanco) como son los ovarios, generando una lesión denominada oöforitis necrótica [14].

Los beneficios de utilizar una vacuna viva residen en una respuesta inmune celular (CIM) pero como ya se mencionó, los resultados no son los que la teoría presupone. Potencialmente se desea la producción de Linfocitos T citotóxicos que eventualmente logren eliminar aquellas células infectadas que contienen virus latentes debido a que los anticuerpos circulantes no son capaces de eliminar a estas células.

## V. CALENDARIO DE VACUNACIÓN

Ahora que sabemos un poco más respecto a los factores involucrados en estas enfermedades y que deben ser considerados en el diseño de un calendario de vacunación destinado a la protección del ganado bovino contra las enfermedades de DVB e IBR, podemos hacer y/o modificar estos protocolos para adaptarlos a nuestras necesidades. Es interesante destacar algunas propuestas con los calendarios de barrido, vacunación por etapas productivas y los calendarios estratégicos o adecuaciones a los calendarios ya establecidos. Estas propuestas no son normas rígidas e inamovibles, pero a partir de ellas se puede tener una mejor idea para comenzar o adaptar los programas de vacunación. Cabe aclarar que es común encontrar vacunas polivalentes, donde además de tener DVB e IBR se incluyen las otras 2 enfermedades virales del

aparato respiratorio de los bovinos, VRSB y PI3, por lo que es muy aconsejable emplearlas en forma conjunta sin que esto modifique el criterio de su uso. Es interesante mencionar que en Europa la vacuna más vendida de este segmento es una vacuna monovalente de virus vivo para la prevención de VRSB.

### 1. Calendario de Barrido

Consiste en vacunar a todos los animales del hato en una misma fecha, con excepción de aquellos becerros que tengan menos de 2-2 ½ meses de edad, de preferencia antes de cada cambio de estación. Recordar que si se está comenzando a vacunar a algún animal por primera vez, se debe evitar caer en uno de los errores más frecuentes cuando se utilizan vacunas elaboradas con virus muertos, es decir, a no considerar la revacunación 21 días después. Aquellos animales vacunados con esta técnica y que tengan entre 2 ½ y 6 meses de edad deberán ser revacunados entre los 6 y 8 meses de edad (ver calendario por etapa productiva). Posteriormente se puede hacer una segunda revacunación de barrido 6 meses después, con todos aquellos animales que no entraron en el primer periodo, o bien se puede vacunar a todo el hato nuevamente, de acuerdo a los niveles de desafío dentro y fuera de la finca. La gran ventaja del uso de un calendario de este tipo, es que se adapta muy bien a las condiciones de pastoreo o a aquellas fincas que no cuentan con la posibilidad de manejar individualmente al ganado o que carecen de registros reproductivos y sanitarios. Los inconvenientes de esta práctica son la variedad de resultados por las distintas situaciones de edad, salud, niveles de anticuerpos, cantidad de células de memoria y otras. Existen muchos ejemplos de errores vacunales como la subdosificación, inducción de estrés y mal manejo de la vacuna (particularmente con vacunas a virus vivos) que suelen agravarse cuando se asocian a vacunaciones masivas.

### 2. Vacunación por etapas productivas

Esta es una buena opción para reemplazar a la vacunación de barrido, ya que se puede instituir de manera relativamente fácil y sin un manejo extremo que dificulte su aplicación. Se pueden sugerir las siguientes divisiones:

- a. **Becerras:** Se vacunarán todos aquellos becerros que tengan entre 2 a 2 ½ meses de edad ya que los anticuerpos calostrales duran este tiempo [10]. La segunda dosis se aplicará 21 días después.
- b. **Animales destetados o entre 6 y 8 meses de edad:** Si se aplicó la primovacuna cuando eran becerros solo se pondrá un refuerzo en esta etapa. Recordar que en aquellos animales de menos de 6 meses de edad, debido a su inmadurez inmunológica, no se asegura que sus anticuerpos y células de memoria duren todo un año, por lo que se deberá vacunar en esta edad. Algunos veterinarios suelen recomendar que se comience a vacunar por vez primera en esta etapa, pero si conocemos el comportamiento de IBR no nos podemos permitir correr riesgos de infección en los becerros.
- c. **Vacas adultas:** Si se comenzó con la primovacuna en forma adecuada ya sea desde becerro o desde el destete, sólo se le aplicará un refuerzo. Si se trata de novillas de primer servicio o monta es aconsejable emplear la vacunación estratégica descrita a continuación.

### 3. Vacunaciones Estratégicas

Este tipo de vacunaciones demanda más trabajo y mejores controles del ganado pero aseguran mejores resultados. Existen 3 principales subdivisiones de esta técnica:

- a. Vacunación antes de la inseminación o monta. Se sugiere vacunar un mes antes con virus muerto o 2 a 3 meses antes con virus vivos en aquellos países donde se tengan virus vivos que repliquen. Cuando se pretenda evitar la causa número uno de contagio de DVB, la cual se refiere a los animales persistentemente infectados, se empleará esta vacunación ya que el objetivo es tener altos títulos de anticuerpos en el primer tercio de la gestación. Bolin ha comentado que títulos por Suero Neutralización menores a 1:64 pueden poner en riesgo la protección de la vaca, mientras que según Vanderfech (comunicación personal) si queremos evitar que el virus cruce la barrera transplacentaria e infecte al feto debemos buscar tener niveles de anticuerpos de 1:256.
- b. Para mejorar la calidad del calostro. Es muy común que los problemas respiratorios en los becerros mermen su salud e inclusive generen una importante tasa de mortalidad. Una de las maneras que se emplean para prevenir estos problemas es la vacunación de vacas gestantes en el momento del secado, para que de esa forma los becerros reciban mejor protección a través del calostro. Esta vacunación se lleva a cabo con vacunas elaboradas con virus muerto y se aplica las vacas con 7 meses de gestación [2]. Con esta actividad no sólo se reducen sus problemas respiratorios, sino también aquellos asociados a la inmunodepresión que genera DVB en los becerros.
- c. Vacunaciones previas a desafíos. Estas vacunaciones están encaminadas a reforzar calendarios ya establecidos o no, con el fin de prevenir situaciones especiales de riesgo, como son el transporte, movilización de ganado, agrupación de nuevos animales, ferias y otros.

## VI. LITERATURA CITADA

- [1] Arias, P., Alvarez, M. 2000. Pruebas de campo con una vacuna tetravalente viva atenuada en terneros. V Congreso Internacional de Virología Veterinaria. Brescia, Italia pp. 27-30.
- [2] Barringer, L.S., Rosenberg, J. B. 1995. Better colostrum. *Large Animal Veterinarian*.
- [3] California Animal Health and Food Safety Laboratory System. 2002. Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Testing. University of California, Davis. <http://cahfs.ucdavis.edu/diseaseinfo/bvd2fina.pdf>
- [4] Donkersgoed, J., Babiuk, L.A. 1991. Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Medicine* 86 (1): 86-94.
- [5] Dubovi, E.J. 1996. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. *Veterinary Medicine* 91 (9): 867-872.
- [6] Dubovi, E.J., Grohn, Y.T., Brunner, M.A., Herlt, J.A. 2000. Respond to modified live and kill multivalent viral vaccine in regularly vaccinated, fresh dairy cows. *Veterinary Therapeutics* 1: 49-58.
- [7] Grooms, D.L., Coe, P. 2002. Neutralizing Antibody Responses in Preconditioned Calves Following Vaccination for Respiratory Viruses. *Veterinary Therapeutics* 3 (2): 119-127.

- [8] Kaerberle, M., Maxwell, D., Sealock, R. 1999. Prebreeding Immunization of beef Cows, 1999 Beef Research Report-Iowa State University. R1647.
- [9] Larson, B.L. 1996. Diagnosing the cause of bovine abortions and other perinatal deaths. *Veterinary Medicine* 91(9): 478-486.
- [10] Mechor, G.D., Virtala, A.M.K., Dubovi, E.J., Gröhn, Y.T.. 2001. The Half-life for Maternally derived Immunoglobulin G Anti-viral Antibodies in data from an observational field Study. *The Bovine Practitioner* 35 (2): 131:136.
- [11] Miller, J.M. 1991. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. *Veterinary Medicine* 86 (1): 95-98.
- [12] Miller, J.M., Van Der Maaten, M.J., Whetstone, C.A. 1989. Infertility in heifers inoculated with modified-live bovine herpesvirus-1 vaccinal strain against infectious bovine rhinotracheitis on postbreeding day 14. *Amer J Vet Res.* 50 (4): 551-554.
- [13] Obando, C. 1999. Seroprevalencia en Venezuela Tesis Ms. Sc.
- [14] Smith, P.C., Nusbaum, K.E., Kwapien, R.P., Stringfellow, D.A., Driggers, K. 1991. Necrotic oophoritis in heifers vaccinated intravenously with infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine during estrus. *Amer J Vet Res.* 51 (7): 969-972.
- [15] Tajima, M. 2002. Prospective study of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) infection in Japan based on the phylogenetic analysis of the viral gene. *Proceedings XXII World Buiatric Congress* pp 52. Abstract.
- [16] Wittum, T.E., Salman, M.D., Odde K.G. 1993. Causes and cost of calf mortality in Colorado beef herds participating in the National Animal Health monitoring System. *JAVMA* 203: 232-236.