



Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias

<http://rccp.udea.edu.co>

RCCP

Herpes Virus Bovino tipo 1 (BoHV-1) como posible causa de encefalitis en bovinos de la región del Magdalena Medio Colombiano. Estudio serológico y análisis epidemiológico[✉]

Bovine Herpes Virus type 1 (BoHV-1) as a possible cause of encephalitis in cattle of the Colombian Magdalena Medio Region. Serological study and epidemiological analysis

Herpes Vírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) como uma possível causa de encefalite em bovinos da região do Magdalena Medio Colombiano. Estudo sorológico e análise epidemiológico

Luis E Piedrahita¹, MVZ, Luis M Montoya², MVZ, Francisco J Pedraza^{3*}, MV, MSc.

¹Investigador del Grupo de Patología Veterinaria Universidad de Caldas, Manizales-Colombia.

²Estudiante de Maestría en Ciencias Veterinarias de la Universidad de Caldas.

³Profesor Asociado Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Doutorando FCAV-UNESP, Sao Paulo, Brasil.

(Recibido: 14 diciembre, 2009 ;aceptado: 6 mayo, 2010)

Resumen

Los herpesvirus bovino tipo 1 y 5 (BoHV-1 y BoHV-5), causan enfermedades que producen importantes pérdidas económicas en ganaderías de todo el mundo. Ambos afectan el sistema nervioso de los bovinos, aunque ha sido el BoHV-5 más asociado a este tipo de patogénesis. Teniendo en cuenta la muerte de animales con síntomas nerviosos y negativos a rabia en la zona de estudio, el objetivo de esta investigación se centró en la detección de reactores positivos por seroneutralización al herpesvirus bovino, recolectando 518 muestras de sangre en bovinos sin vacuna contra este agente, en los municipios de Caparrapi (Cundinamarca), Cimitarra (Santander), Honda (Tolima) y Victoria (Caldas). Además, información epidemiológica útil para discutir sobre enfermedad neurológica fue recolectada mediante fuentes de información primarias y secundarias. Para el análisis de los datos se utilizó la prueba chi-cuadrado identificando la relación entre la evidencia de infección viral y las variables registradas. Los resultados revelaron que 286 casos fueron positivos a infección con herpesvirus, correspondiendo a una prevalencia de 55.5%, sin embargo, no hubo relación estadística ($p < 0.05$) entre la presencia de anticuerpos y las variables que se analizaron. En conclusión, algunos de los casos de enfermedad neurológica en bovinos del área pudieron deberse a la infección con los herpesvirus y se discute sobre la presencia de ellos en el medio, los planes de diagnóstico y control, así como las pérdidas económicas que puedan causar en ganaderías de la zona.

Palabras clave: encefalitis bovina, herpesvirus, seroneutralización en placa.

✉ Para citar este artículo: Piedrahita LE, Montoya LM, Pedraza FJ. Herpes Virus Bovino tipo 1 (BoHV-1) como posible causa de encefalitis en bovinos de la región del Magdalena Medio Colombiano. Estudio serológico y análisis epidemiológico. Rev Colomb Cienc Pecu 2010; 191-198.

* Autor para correspondencia: Prof. Francisco J Pedraza O. Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Calle 65 No. 26-10, Tel. (57) (6) 8781516 Manizales, Colombia. E-mail: fpedraza@ucaldas.edu.co.

Summary

The bovine Herpesvirus type 1 and type 5 (BoHV-1 and BoHV-5), causing diseases and significant economic losses in farms of worldwide. Both affect the nervous system of cattle, although BoHV-5 has been the most associated with this type of pathogenesis. Given the death of animals with nervous symptoms and negative diagnoses for rabies virus in the area of study, this research focused on the detection of positive reactors to bovine herpes virus serum neutralization. We collected 518 blood samples from animals without Herpesvirus vaccine, in the municipalities of Caparrapi, Cimitarra, Honda and Victoria, in the Middle Magdalena River Region. In addition, epidemiological information useful to discuss neurological disease was collected through primary and secondary sources. For the analysis of data was used chi-square test by identification of relationship between evidence of viral infection and the variables recorded. The results revealed that 286 cases were positive for Herpesvirus infection, corresponding to a prevalence of 55.5%, however, there was no statistical relationship ($p < 0.05$) between the presence of antibodies and the variables analyzed. In conclusion, some cases of neurological disease in cattle in this region could be due to infection with herpes viruses. We discussed about the presence of BoHV-1 and BoHV-5 in the ambient, diagnosis and monitoring plans, as well as economic losses, which may cause in herds in this area.

Key Words: bovine encephalitis, serum neutralization, virus herpes.

Resumo

Os herpesvirus bovino tipo 1 e 5 (BoHV-1 e BoHV-5), causam doenças que produzem importantes perdas econômicas no gado de todo o mundo. Juntos afetam o sistema nervoso dos bovinos, embora tem sido o BoHV-5 mais associado a este tipo de patogênese. Tinindo em conta a morte de animais com sintomas nervosos e negativos à doença da raiva na zona do estudo, objetivo-se esta pesquisa na detecção de reatores positivos pela soro neutralização ao herpesvirus bovino, coletando 518 amostras de sangue em bovinos sem vacina contra este agente, nos municípios de Caparrapi, Cimitarra, Honda e Victoria, zona conhecida como Magdalena Médio Colombiano. Alem disso, informação epidemiológica útil para discutir sobre a doença neurológica foi coletada mediante fontes de informação primarias e secundarias. Para o análise dos dados utilizou-se o teste Ji quadrado, identificando a relação entre a evidencia de infecção viral e as variáveis registradas. Os resultados revelaram que 286 casos foram positivos à infecção com herpesvirus, correspondendo a uma prevalência de 55,5%, embora, não apresentou relação estadística ($p < 0,05$) entre a presença de anticorpos e as variáveis que se analisaram. Em conclusão, alguns dos casos de doença neurológica em bovinos da área poderiam ter sido causados pela infecção com os herpesvirus e se discute sobre a presença no médio, os planos de diagnóstico e controle, assim como, as perdas econômicas na região.

Palabras chave: encefalite bovina, herpes vírus, soroneutralização.

Introducción

Los herpes virus bovinos tipo 1 (BoHV-1) y tipo 5 (BoHV-5), son virus ADN, pertenecientes a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesviridae, género Varicellovirus (Roizman *et al.*, 1992). El BoHV-1 es el más grande patógeno del ganado (Weiblen *et al.*, 1992) produciendo enfermedad respiratoria o reproductiva (Kahrs, 2001, Weiblen *et al.*, 1992, Zapata *et al.*, 2002a). Otros trastornos incluyen conjuntivitis, queratoconjuntivitis, enteritis, muerte embrionaria o fetal y aborto (Takiuchi *et al.*, 2005). El BoHV-1 también causa enfermedad neurológica (Silva

et al., 2007) aunque la afinidad por este sistema se relaciona más con el BoHV-5, que produce meningoencefalitis fatal (Rissi *et al.*, 2007; Meyer *et al.*, 2001).

BoHV-5 y BoHV-1 se parecen en aspectos estructurales, moleculares y antigénicos, se diferencian en la habilidad para invadir y replicarse en el sistema nervioso del bovino (Beltrão, 2000, Freitas *et al.*, 2007). Comparten el 85% de homología de ADN traducida en un alto porcentaje de reacciones cruzadas en pruebas que usan anticuerpos policlonales (Andrade y Barbosa-Stancioli, 2006), dificultando la instauración de

programas específicos de control para cada agente. De la misma forma se explica que la vacunación realizada en zonas endémicas a BoHV-1, confiere protección cruzada contra BoHV-5 (Cascio, 1999; Beltrão, 2000).

En Colombia, el primer aislamiento de BoHV-1 fue en el año 1972 (CIAT) pasando mucho tiempo hasta que pudo aislarse nuevamente en casos naturales (Chaparro *et al.*, 2002, Vera y Betancur, 2008, Zapata *et al.*, 2002b). Las investigaciones de tipo serológico han sido variadas (Arboleda, 1993; Sossa *et al.*, 1982; Zuñiga *et al.*, 1998). En cuanto al BoHV-5, los primeros estudios en Colombia datan del año 2005 (Pedraza *et al.*, 2005; Pedraza *et al.*, 2010a) y aunque su reporte aún no es oficial por parte del gobierno, se conoce sobre su presencia desde hace varios años (Pedraza y Alessi 2007; Pedraza *et al.*, 2010b).

La enfermedad causada por herpesvirus produce importantes pérdidas económicas en ganaderías de todo el mundo (Chowdhury *et al.*, 2000), situación preocupante en Colombia donde existen altas tasas de reactores positivos para BoHV-1 (Betancur *et al.*, 2006; Zapata *et al.*, 2002a). El subdiagnóstico de enfermedades que afectan el sistema nervioso de los bovinos (Montoya y Pedraza, 2009) y el relato de campo sobre la muerte de animales con síntomas nerviosos en la región del Magdalena Medio, motivó esta investigación, buscando aportar información que facilite el establecimiento de un mapa epidemiológico sobre la distribución de estos virus a nivel nacional.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo utilizando fuentes de información primarias y secundarias.

Localización

El estudio fue realizado en municipios pertenecientes a la región del valle del Magdalena medio colombiano, específicamente en Caparrapi (Cundinamarca) Cimitarra (Santander), Honda (Tolima) y Victoria (Caldas), zona comprendida

entre los 5° 12' y 6° 18" de latitud norte, 73° 56' y 74° 55' de longitud al oeste del meridiano de Greenwich, sobre la zona intertropical, en el centro del país, entre las cordilleras central y oriental. La altitud varió entre 200 y 1250 m.s.n.m., caracterizada como un piso térmico cálido de temperatura promedio 26° C.

Animales y muestreo

Se recolectaron en total 518 sueros de igual número de bovinos, de los cuales, 253 fueron donados de un banco de sueros del Comité de Ganaderos de Puerto Boyacá (ASOREGAN) siendo procedentes del municipio de Cimitarra. Las restantes 265 muestras fueron colectadas de manera prospectiva durante el periodo de muestreo entre los meses de octubre y diciembre de 2008, utilizando punción de la vena coccígea de forma aséptica.

El criterio de inclusión de todos los animales consistió en la ausencia de vacunación contra IBR. Todos los animales recibieron vacunación contra fiebre aftosa y ninguno reportaba signos clínicos de alguna enfermedad.

De cada animal se registró información sobre la edad, sexo, raza, procedencia, tipo de explotación y plan sanitario al que fue sometido. Luego de colectar las muestras de sangre en tubos de ensayo fueron centrifugadas a 500 G durante 10 minutos y los sueros almacenados en Eppendorf de 1.5 mL fueron transportados en refrigeración hasta el Laboratorio de Patología de la Universidad de Caldas.

Las muestras fueron congeladas a menos 20 °C y posteriormente se llevaron al Laboratorio de Virología de la UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil, para realizar la prueba de seroneutralización en placa e identificar anticuerpos contra los herpesvirus.

Prueba de seroneutralización

Después de la inactivación de los sueros a 56 °C durante 30 minutos, alíquotas de 50 µL del suero fueron diluidas en medio esencial mínimo (MEM) desde la primera dilución (1:2) hasta la última (1:256) y fueron incubadas por dos horas a 37 °C con una concentración constante de virus (100

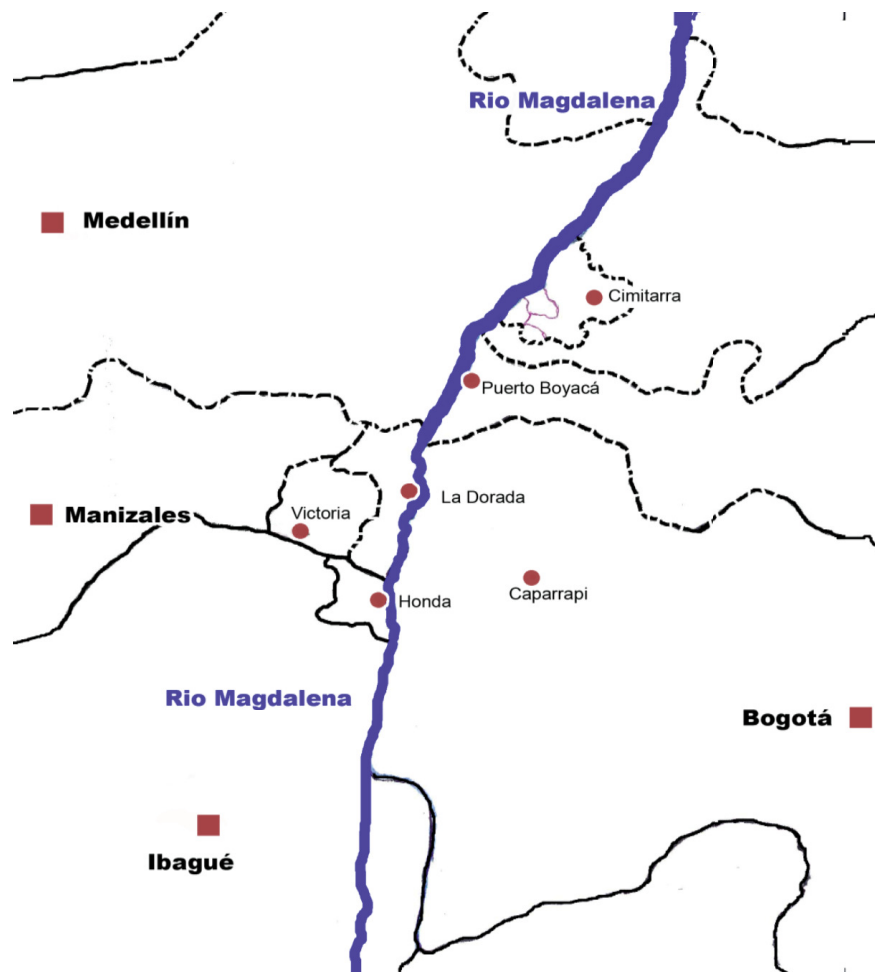


Figura 1. Mapa de la zona de muestreo, se observan las distancias relativas entre los municipios muestreados y las capitales más cercanas.

TCDI₅₀ [dosis infectivas en cultivo celular] de la cepa Cooper del BoHV-1 en placas de polietileno de 96 pozos. Terminado el tiempo de incubación, una suspensión de 4×10^6 células MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) en MEM fue adicionada en cada uno de las cavidades de la placa. Posteriormente, el complejo fue incubado en una cámara de CO₂ al 5% y a 37 °C durante tres días. Al concluir este tiempo, se realizó la respectiva lectura, en la cual se consideró como positivos a los sueros que inhibieran el 100% del efecto citopático (ECP) causado por el virus (un suero negativo no tiene anticuerpos contra el virus y por lo tanto las células MDBK son destruidas en el momento de adicionar la cepa viral), teniendo como punto de corte la dilución 1:4. El punto de corte fue establecido durante la estandarización de la técnica en el Sector de Virología de la UFSM.

Análisis estadístico

Para el análisis se utilizó la prueba chi-cuadrado (X^2) con un nivel de significancia de $\alpha < 5\%$ ($p < 0.05$) para identificar relaciones entre las variables edad, sexo, raza, procedencia, tipo de explotación, plan sanitario y la presencia de anticuerpos contra agentes herpéticos.

Resultados

Mostrando los datos generales de la serología se encontró que de 518 bovinos analizados, el 55.5% (correspondientes a 286 muestras) fueron positivos para el BoHV-1, mientras que el 35.3% (182 muestras) estuvieron negativos en el momento del análisis. Las restantes 50 muestras que corresponden a un 9.12% presentaron citotoxicidad,

es decir, el suero generó un deterioro del cultivo celular, lo cual probablemente ocurrió por la presencia de eritrocitos o alguna otra sustancia que inhibe el crecimiento de las células.

Respecto a la procedencia de los animales muestreados, la seropositividad proporcional más alta correspondió a los bovinos de Cimitarra, con un 60,4% de prevalencia puntual (153 casos de un total de 253), mientras que en Caparrapi el dato de prevalencia correspondió a un 55,2% (69 casos de 125) y en último lugar, las prevalencias en Honda con 45,8% (27 casos de 59) y Victoria con 45,7 % (37 casos de 81). Estos resultados se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Bovinos seropositivos a BoHV-1 en algunos municipios del Magdalena Medio Colombiano.

Municipio	Seroneutralización en placa para BoHV-1				Total
	Positivas No. %	Negativas No. %	Toxicas * No. %	Total	
Caparrapi	69 55.2	39 31.2	17 13.6	125	
Cimitarra	153 60.4	92 36.4	8 3.2	253	
Honda	27 45.8	19 32.2	13 22.0	59	
Victoria	37 45.7	32 39.5	12 14.8	81	

* Se refiere a la presencia de eritrocitos o alguna sustancia inhibidora del crecimiento celular.

Respecto a la edad y teniendo en cuenta la posible inmunidad pasiva a través del calostro, se registró que todos los animales seropositivos fueron mayores de dos años. De acuerdo al sexo, aunque debido al tipo de explotación se encontraron pocos machos, estos tuvieron una prevalencia proporcional del 67% (6/9) mientras que en las hembras correspondió al 55% (280/509).

Los resultados por sistema utilizado para producción indicaron que las ganaderías dedicadas a la cría y ceba tuvieron el 59 % de positivos (222/378) mientras las ganaderías de doble propósito presentaron un 46% de prevalencia puntual (64/140). Estos resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Seropositividad para BoHV-1 según el tipo de explotación pecuaria.

Tipo de explotación	Seroneutralización en placa para BoHV-1				Total
	Positivas No. %	Negativas No. %	Toxicas * No. %	Total	
Cria - Ceba	222 58.7	131 34.7	25 6.6	378	
Doble Prop.	64 45.7	51 36.4	25 17.9	140	

* Se refiere a la presencia de eritrocitos o alguna sustancia inhibidora del crecimiento celular.

Así mismo, se pudo observar respecto de la raza, que los animales mestizos y de la raza cebú comercial tuvieron un nivel de seropositividad proporcional de 56% cada uno, (186 casos en los mestizos de un total de 334 y 70 casos en los cebú de un total de 126), mientras que los animales de la raza Lucerna presentaron un 52% de prevalencia puntual (30 casos de 58). Estos resultados se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Seropositividad para BoHV-1 de acuerdo a la raza de bovinos.

Razas	Seroneutralización en placa para BoHV-1				Total
	Positivas No. %	Negativas No. %	Toxicas * No. %	Total	
Brahman	70 55.6	38 30.2	18 14.3	126	
ucerna	30 51.7	19 32.8	9 15.5	58	
Mestizo	186 55.7	125 37.4	23 6.9	334	

* Se refiere a la presencia de eritrocitos o alguna sustancia inhibidora del crecimiento celular

El criterio para definir los individuos positivos correspondió a la inhibición del efecto citopático en la dilución 1:4 teniendo en cuenta que eran animales que no recibieron vacuna previa contra herpes. Se realizó el modelo estadístico prueba de Chi-cuadrado ($p > 0.05$) concluyendo que no hubo relación estadística significativa entre la presencia de anticuerpos contra herpesvirus y las variables edad, sexo, raza, procedencia y tipo de explotación.

Discusión

Si bien el cuadro neurológico en bovinos está mas asociado con el BoHV-5, está completamente definido que el BoHV-1 también puede causar este tipo de enfermedad. En este estudio se utilizó la cepa Cooper del BoHV-1 para hacer las pruebas serológicas debido a la facilidad económica y por considerar innecesario probar para BoHV-5 basados en los resultados obtenidos previamente por los mismos investigadores en animales procedentes de los Llanos Orientales (datos en vía de publicación) en los que pudo comprobarse que tanto para uno u otro de los virus, los animales reaccionan de manera similar. La explicación para este efecto es la estrecha relación en aspectos estructurales, biológicos, antigénicos y moleculares que comparten los dos virus (Beltrão, 2000; Flores et al., 2009) y de esta forma es posible asumir que los

anticuerpos presentes en los sueros, son el producto de la presencia de cualquiera de ellos en el campo.

Las serologías para BoHV-1 en bovinos de diferentes regiones de Colombia indican prevalencias que varían entre el 0.75% (Zapata *et al.*, 2002a) hasta el 74% (Betancur *et al.*, 2006), mientras que para BoHV-5, en bovinos de la región de los Llanos orientales, este dato correspondió a un 7.7% (utilizando una dilución de 1:64) y a un 58.4% (utilizando una dilución 1:2) en los animales que se muestrearon. En el mismo trabajo se encontró que un 55% de las muestras fueron positivas para ambos virus (Pedraza *et al.*, 2010b). El verdadero impacto de las pérdidas económicas causadas por estos virus en el país aun se desconoce.

El alto porcentaje de reactores positivos encontrados en esta investigación permite afirmar, que los bovinos en algún momento de su vida, se expusieron a los antígenos virales, ya sea a través del contacto con cepas de campo, o con animales vacunados. Existe la posibilidad de que sean portadores de uno o ambos virus, porque cuando se infectan, el ADN viral, persiste de por vida (Zacaría *et al.*, 2002). Durante la fase de latencia, el virus puede reactivarse bajo condiciones de estrés, con presentación usualmente subclínica de la enfermedad y puede excretarse de forma intermitente al ambiente, lo que constituye una fuente de infección para animales susceptibles (Ávila, 2003). En ninguno de los bovinos de esta investigación, se reportaron signos clínicos de enfermedades respiratoria, reproductiva o nerviosa, pudiendo entonces tratarse de animales portadores asintomáticos.

Teniendo en cuenta que en las fincas seleccionadas para el muestreo no se realizan vacunaciones contra estos virus, a partir de los resultados pueden plantearse preguntas como el porqué, estos virus no desencadenan enfermedad clínica? Intentando responder, podría tratarse de la posibilidad que las cepas de campo en estas zonas tengan baja patogenicidad o que existan factores epidemiológicos en la zona, relacionados con la baja presencia de signos clínicos o simplemente, en el caso de la enfermedad neurológica, el subdiagnóstico de estos problemas.

En este sentido, algunos autores proponen que las cepas de BoHV-1 que circulan en Colombia pueden ser diferentes a las que circulan en aquellos países donde la IBR constituye un serio problema de salud animal, sugiriendo la realización de investigaciones para probar esta hipótesis y determinar si los planes sanitarios actuales se desarrollan de acuerdo a las necesidades del medio (Zapata *et al.* 2002a; Chaparro *et al.*, 2003).

En cuanto a la encefalitis producida por los herpesvirus hay varios aspectos para analizar, en primer lugar, la carencia de diagnósticos de laboratorio para varios agentes que afectan el sistema nervioso de los bovinos los cuales incluyen bacterias, virus y parásitos que desde el punto de vista clínico son casi imposibles de diferenciar. Lo inespecífico de los síntomas nerviosos y los esfuerzos gubernamentales para controlar enfermedades zoonóticas como la rabia han permitido que se enmascaren otras causas de encefalitis bovina y en este caso, aquella producida por el BoHV-5. Estudios preliminares en la misma zona de trabajo revelaron la existencia de un subdiagnóstico de enfermedades del sistema nervioso (Montoya y Pedraza, 2009) debido a múltiples factores entre los que se pueden citar el afán de diagnóstico del virus de la rabia que a pesar de su carácter enzoótico, no es el mayor causante de los síndromes nerviosos de acuerdo al alto porcentaje de casos negativos registrados y de los cuales no se conoce su verdadera causa. De acuerdo a los resultados de la presente investigación se propone a los herpesvirus como posibles causas de síndromes neurológicos en bovinos de la zona de estudio y se expresa la necesidad de instaurar técnicas de laboratorio específicas para detectar BoHV-1 y BoHV-5 en animales muertos con sintomatología nerviosa y a manera de vigilancia pasiva en animales destinados al sacrificio.

De acuerdo con los resultados, es importante revisar las medidas de prevención y control que existen en el medio, debido a que en los municipios que se evaluaron, existen vías que hacen parte de un paso obligatorio para transportar animales a otros lugares del país y específicamente como eje vial principal entre Bogotá, Medellín, Bucaramanga, Manizales, Ibagué, la Costa Atlántica y los Llanos Orientales.

Se recomienda, realizar nuevas investigaciones en las que se utilicen anticuerpos monoclonales para diferenciar los herpesvirus, e inclusive para hacer comparacion entre cepas. En cuanto a los tejidos procedentes de animales muertos con síntomas nerviosos es necesario realizar pruebas de inmunohistoquímica con anticuerpos específicos para la identificación de herpesvirus, rabia, clostridium y neospora, entre otros agentes.

Referencias

Andrade GI, Barbosa-Stancioli EF. Diagnóstico Sorológico de Herpesvirus bovino 1 e 5: Proteínas Virais, Recombinantes e Peptídeos Sintéticos em suportes sólidos comerciais e modificados por engenharia de superficie. Tesis de doctorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, Brasil, 2006. 134 p.

Arboleda JJ, Bedoya DA, Rodas JD, Acevedo L, Ossa JE. Estudio virológico y epidemiológico de la RIB en un hato lechero en Antioquia. Rev Acovez 1993; 34-35.

Ávila SM, Rodríguez MM, Díaz H, Barrera VM. Diagnóstico Viroológico de Herpesvirus Bovino tipo-1. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 2003 .Vol. IX N° 3.

Beltrao N, Roehe PM, Flores EF, Irigoyen LF, Silva AM, Weiblen Rudi. Infecção aguda e enfermidade neurológica pelo herpesvirus bovino tipo 5 (BHV-5): coelhos como modelo experimental. Pesq Vet Bras 2000; 20:144-150.

Betancur HC, González TM, Reza GL. Seroepidemiología de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el municipio de Montería, Colombia. Rev MVZ Córdoba 2006; 11:830-836.

Cascio, KE, Belknap EB, Schultheiss PC, Ames AD, Collins JK. Encephalitis induced by bovine herpesvirus 5 and protection by prior vaccination or infection with bovine herpesvirus 1. J Vet Diagn Invest 1999; 11:134-139.

CIAT. *Reportes Anuales*. 1972, 1973, 1974, 1975. 39-40 p.

Chaparro J, Ramírez G, Vera V, Góngora A, Villamil L. Aislamiento de una cepa de campo del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina de una explotación de ganado de carne en el Departamento del Meta. Orinoquía 2002; 6:100-107

Chaparro JJ, Ramírez GC, Vera VJ, Villamil LC. Evaluación de la actividad patogénica de una cepa de campo del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en terneros. En: Congreso Internacional. Viña del Mar, Chile. 2003. ISVEE 10-memorias.

Chowdhury SI, Lee BJ, Ozkul A, Weiss ML. Bovine Herpesvirus 5 Glycoprotein E is Important for Neuroinvasiveness and Neurovirulence in the Olfactory Pathway of the Rabbit. J Virol 2000; 74:2094-2106.

Agradecimientos

Al Dr. Eduardo Furtado Flores del Sector de Virología de la Universidad Federal de Santa María en Brasil, por su ayuda técnica en la realización e interpretación de la prueba de seroneutralización y al Dr. Andres Mauricio Arcila Torres por su colaboración en la obtención de muestras de bovinos de Cimitarra.

Flores EF, Weiblen R, Vogel FSF, Dezengrini R, Almeida SR, Spilki FR & Roehe PM. Neuropatogênese experimental da infecção pelo herpesvirus bovino tipo 5 em coelhos. Pesq Vet Bras 2009; 29:1-16.

Freitas DA, Ortega LS, Fernández RA, Trindade G. Characterization of field Bovine Herpesvirus samples using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). J Virol Meth. 2007; 140:200-205.

Kahrs, RF. Infectious bovine rhinotracheitis an infectious Vulvovaginitis. In: Viral diseases of cattle. 2 Ed Ames: Iowa state University, 2001.p 159-170.

Meyer G, Lemaire M, Ros C, Belak K, Gabriel A, Cassart D, Coignoul F, Belak S, Thiry E. Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with bovine herpes virus type 1 and 5. Arch Virol 2001; 146:633-652.

Montoya LM y Pedraza FJ. Revisión histopatológica de las enfermedades del sistema nervioso en bovinos de la región del Magdalena Medio Colombiano. Rev Colomb Cienc Pecu 2009; 22:3, p. 427.

Pedraza FJ, Alessi AC, Rivera JF, Sánchez JA, Bauerman L, Flores EF. Utilización de anticuerpos monoclonales para el diagnóstico de Herpes Virus Bovino tipo 5 (HVB-5) en casos naturales de encefalitis bovina en Colombia. Rev Colomb Cienc Pecu 2005; 18:383.

Pedraza FJ y Alessi AC. Encefalitis bovina por herpes virus bovino tipo 5 (HVB-5). Una revisión. Rev Colomb Cienc Pecu 2004; 17:148-155.

Pedraza FJ, Alessi AC, and Barbosa-Stancioli E. Detection of bovine Herpesvirus type 5 in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by PCR in Colombia. *Datos sin publicar* Rev Colomb Cienc Pecu 2010a.

Pedraza FJ, López JP, Ávila JA, Alessi AC and Flores EF. Serological evidence of bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) in cattle at the Llanos Orientales region in Colombia. *Datos sin publicar* Rev Científica del Zulia 2010b.

Rissi DR, Rench RR, Flores EF, Kommers GD, Barros CS. Meningoencefalitis por herpes bovino 5. Pesq Vet Bras 2007; 27:251-260.

Roizman B, Desrosiers RC, Fleckenstein B, López C, Minson AC, Studdert MJ. The family herpesviridae on update. Arch virol 1992; 123:425-499.

- Silva MS, Brum MCS, Loreto ELS, Weiblen R, Flores EF. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. *Virus Research* 2007; 129:191-199.
- Sossa C, Flórez L, Arango H. Estudio serológico de la RIB en hatos lecheros del Altiplano Norte y del Oriente de Antioquia. Trabajo de grado Medicina Veterinaria. Universidad de Antioquia. 1982. 46p.
- Takiuchi E., Medici KC, Alfieri AF. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi-nested PCR in Brazilian cattle herds. *Res Vet Sci* 2005; 79:85-88.
- Vera V y Betancur C. Aislamiento del virus herpes bovino tipo 1 en bovinos del departamento de Córdoba, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 2008; 13:1495-1503.
- Weiblen R. Doenças víricas que interferem na produção leiteira, In: Charles TP & Furlong J. (ed.) *Doenças dos Bovinos de Leite Adultos*. Embrapa-CNPGL; Coronel Pacheco, MG. 1992 p. 45-62.
- Zacarias REA., Benito ZA, Rivera GH, Seroprevalencia del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Perinacochas, Ayacucho. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria. 2002. 2-35.
- Zapata JC, Ossa JE, Zuluaga FN. Actualización de los viejos enigmas y visión de futuro de la RIB en Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2002a; 15:155-159.
- Zapata JC, Ossa JE, Bedoya G, Zuluaga FN. Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (RIB). Caracterización Molecular de una cepa Colombiana de Herpesvirus Bovino tipo 1. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2002b; 15:92-99.
- Zuñiga L, Ossa JE, Hincapie O. Prevalencia de IBR en reproductores del Urabá antioqueño para 1997. *Rev Colomb Cienc Pecu* 1998; 1:135-148.