

**ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.
(MONOGRAFÍA).**

**Autor:
Camilo Andrés Vargas Bustos
Cód. 121002536**

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS ANIMALES
PRORAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
VILLAVICENCIO – META
2018**

**ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.
(MONOGRAFÍA).**

**Autor:
Camilo Andrés Vargas Bustos
Cod. 121002536**

**Monografía como trabajo de grado para optar por al título de Médico Veterinario
Zootecnista**

Área de profundización: Fisiopatología de la Reproducción

**Director: Dr. Agustín Góngora Orjuela
MV, MSc, PhD**

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS ANIMALES
PRORAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
VILLAVICENCIO – META
2018**

Nota de aceptación.

Dr. Agustín Góngora Orjuela
Director

Dr. Edgar Edilberto Fuentes Reyes
Jurado

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por la paciencia y el apoyo incondicional, por creer en mí y por la confianza que depositaron en este proyecto de vida. Por brindarme la estabilidad emocional ante la dificultad.

A mi compañera de vida Elizabeth por inspirarme y alentarme en momentos difíciles. Por ser testigo de este mutuo proceso de formación tanto personal como profesional.

Al profesor Agustín Góngora Orjuela por darme la oportunidad de materializar esta monografía, por el apoyo y sobre todo la paciencia por el tiempo transcurrido.

A la universidad de los llanos por ser ese claustro académico, cultural y político que me permitió sensibilizar el alma ante las incoherencias de la sociedad.

TABLA DE CONTENIDO

1. Resumen.....	6
2. Abstract.....	7
3. Introducción.....	8
4. Justificación	10
5. Objetivos.....	11
5.1 Objetivo general.....	11
5.2 Objetivos específicos	11
6. Marco Teórico	12
6.1 Historia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR)	12
6.2 Etiología	13
6.3 Clasificación.....	17
6.4 Epidemiología.....	18
6.5 Latencia Viral.....	24
6.6 Coinfecciones entre IBR y otros virus.....	26
6.7 Medidas de Control de IBR y Principales Vacunas.....	28
6.8 Programa de erradicación de IBR.....	33
6.9 Historia y Situación de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Colombia.....	38
7. Conclusiones	41
8. Bibliografía.....	44

LISTA DE FIGURAS

1. Ciclo de replicación del HVB – 1.....	16
2. Modelo de transporte axonal del HVB – 1.	26
3. Uso de una vacuna marcadora <i>DIVA</i> (gE-) para el HVB – 1.....	30

LISTA DE TABLAS

1. Status de IBR en algunos países Europeos.....	34
2. Principales estudios Serológicos para IBR en Colombia.....	40

1. Resumen

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR por su sigla en inglés) es una enfermedad de origen viral conocida clínicamente por el enrojecimiento de la nariz, el lagrimeo de los terneros, la vaginitis vesicular, el exantema coital; es una enfermedad altamente contagiosa que se manifiesta clínicamente de diferentes maneras dependiendo del serotipo implicado y del tejido infectado. La IBR es causada por el Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB-1). Este virus es miembro del género Varicellovirus de la subfamilia Alphaherpesvirinae, que pertenece a la familia Herpesviridae. Siendo un herpesvirus tiene la capacidad de generar latencia en el animal infectado, convirtiéndolo en portador por toda la vida; haciéndolo susceptible a posteriores infecciones bacteriana y virales como ocurre en el complejo respiratorio bovino o “fiebre de embarque”. Es una enfermedad que se ha diseminado a nivel mundial, con reporte en el país desde el año 1972. En Colombia se han llevado a cabo diferentes estudios de seroprevalencia del HVB – 1 que varían entre 20 a 90%, lo que sugiere una presentación endémica de la enfermedad. Su importancia radica en los problemas reproductivos que provoca, entre ellos la repetición de servicios, orquitis, epididimitis, vaginitis, infección fetal, aborto, metritis postparto, anestro y algunos casos de mastitis que se ha asociado a la presencia del virus. Se cataloga como una de las afecciones que más pérdidas económicas genera en la ganadería mundial. Varios países de Europa han optado por el camino de la erradicación sin embargo son muy pocos los que han tenido éxito. La falta de técnicas diagnósticas eficientes y falencias en cuanto a la calidad y el uso de las vacunas han sido unos de los principales obstáculos a superar, además de los altos costos económicos que implica un programa de erradicación. Nuestro país no cuenta con medidas de control claras encaminadas a disminuir la alta seroprevalencia; siendo una de las principales tareas a lograr con el propósito de mitigar el impacto negativo en la ganadería colombiana. Estas estrategias deben abordarse integralmente involucrando a todas las partes implicadas en el proceso.

Palabras clave: Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Vacunas, Erradicación, Monografía.

2. Abstract

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) is a disease of viral origin known clinically for nose reddening, tearing of calves, vesicular vaginitis, coital exanthema; it is a highly contagious disease that manifests clinically in different ways depending on the serotype involved and the infected tissue. IBR is caused by bovine Herpesvirus type 1 (BoHV – 1). This virus is a member of the genus *Varicellovirus* in the subfamily *Alphaherpesvirinae*, which belongs to the Herpesviridae family. Being a herpesvirus has the ability to generate latency in the infected animal, making it a carrier for life; making it susceptible to subsequent bacterial and viral infections such as occurs in the bovine respiratory complex or "boarding fever". It is a disease that has spread worldwide, with a report in the country since 1972. In Colombia, several BoHV-1 seroprevalence studies have been carried out, ranging from 20 to 90%, suggesting an endemic presentation of the disease. Its importance lies in the reproductive problems it causes, including the repetition of services, orchitis, epididymitis, vaginitis, fetal infection, abortion, postpartum metritis, anestrus and some cases of mastitis that has been associated with the presence of the virus. It is cataloged as one of the conditions that generates the most economic losses in the world cattle ranch. Several countries in Europe have chosen the path of eradication, but very few have succeeded. The lack of efficient diagnostic techniques and shortcomings in the quality and use of vaccines have been one of the main obstacles to overcome, in addition to the high economic costs involved in an eradication program. Our country does not have clear control measures aimed at reducing high seroprevalence; being one of the main tasks to achieve in order to mitigate the negative impact on Colombian livestock. These strategies must be comprehensively addressed by involving all parties involved in the process.

Keywords: Infectious Bovine Rhinotracheitis, Vaccine, Eradication, Monograph.

3. Introducción

La Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR por su sigla en inglés) es una enfermedad producida por el Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB – 1), que es un miembro del género *Varicellovirus* de la subfamilia *Alphaherpesvirinae*, dentro de la familia *Herpesviridae* (Nandi *et al.*, 2009). El HVB – 1 es antigenicamente estable y solo existe un serotipo. Se diferencian dos genotipos principales, el HVB – 1.1 y el HVB – 1.2 (Vera *et al.*, 2006). Su virión está formado por un núcleo o core dentro del cual está el ADN viral lineal de doble banda, con una cápside icosaédrica de 100 a 110 nm de diámetro dentro de una cubierta lipídica, rodeada por una envoltura con proyecciones de glicoproteínas que desde la parte interna se proyectan a su superficie (Quinn *et al.*, 2005), reconociéndose 32 proteínas estructurales y 37 no estructurales.

Las principales formas clínicas de esta enfermedad son la respiratoria o IBR y la genital, ya sea Vulvovaginitis Pustular Infecciosa (IPV) en hembras y Balanopostitis Pustular Infecciosa (BPI) en machos; ambas son clínicamente y epidemiológicamente diferentes y rara vez se presentan concurrentemente en un rebaño (Vera *et al.*, 2006). La IBR se reportó por primera vez en ganado lechero de California, EE.UU en el año 1953 (Yates, 1982), con posible procedencia de rebaños europeos (Graham, 2013). Desde entonces ha logrado una distribución geográfica mundial (Straub, 1975). En el año 1993, Suiza se declaró oficialmente libre de la IBR después de 10 años de campaña de erradicación y posteriormente Dinamarca, Suecia, Finlandia Noruega y Austria están declaradas oficialmente libres de la enfermedad (Ackermann y Engels, 2006). La IBR se ha reportado en el país desde el año 1972, siendo objeto de diferentes estudios de seroprevalencia que varían entre 20 a 90%, lo que sugiere una presentación endémica de la enfermedad.

Al ser un herpesvirus tiene la capacidad de generar latencia de por vida en el animal infectado principalmente en el ganglio trigémino (Jones y Chowdhury, 2010). El virus se disemina con rapidez en las poblaciones receptoras que se ponen en contacto con animales con enfermedad aguda o con reactivación de la infección latente, excretando partículas virales en las secreciones respiratorias y/o genitales (Arenas y Moreno, 2015).

Las pérdidas económicas derivan de la inmunosupresión causada por el HVB – 1, la disminución transitoria de la producción láctea durante la infección aguda y problemas reproductivos,

principalmente mortalidad embrionaria, fetal y aborto (Jones y Chowdhury, 2010); sin embargo las principales repercusiones económicas para un país provendrán de las limitaciones de mercado que impongan los países o regiones que se declaren libres de la IBR sobre el tráfico de ganado vacuno y de sus productos (Ackermann y Engels, 2006).

Algunos alfaherpervirus relacionados antigénicamente con el HVB – 1 son el Herpesvirus Bovino tipo 5 (HVB – 5) causante de Meningoencefalitis en terneros, el Herpesvirus Caprino tipo 1 y diversos herpesvirus aislados de bóvidos silvestres (Muylkens *et al.*, 2007). El HVB – 1 hace parte del Complejo Respiratorio y Reproductivo Bovino (BRDC) junto con el virus de la diarrea viral bovina (BVDV), el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV) y el virus de la parainfluenza bovina (PI-3) (Jones y Chowdhury, 2010). Las coinfecciones agudizan los cuadros clínicos y dificultan el diagnóstico (Molina *et al.*, 2013).

Los programas de control y erradicación se basan principalmente en el sacrificio de la población seropositiva, sin embargo este método no es viable en zonas de alta seroprevalencia como lo es en gran parte del mundo (Raaperi *et al.*, 2014). Por lo tanto la vacunación se convierte en una estrategia para estas zonas altamente seropositivas buscando aumentar la inmunidad de la población y disminuir las pérdidas por la enfermedad (Newcomer y Givens, 2016). Se emplean vacunas vivas modificadas (MLV), vacunas muertas (kV) y vacunas marcadoras, estas últimas capacitan la diferenciación de los animales infectados de los vacunados favoreciendo el control de la enfermedad (Walz *et al.*, 2017). Un aspecto clave el cualquier programa de erradicación es la eficacia de las pruebas diagnósticas; los perfiles serológicos hacen parte de la vigilancia y control del virus y determinar el éxito o fracaso del programa. Los resultados de las pruebas deben ser altamente confiables tanto en muestras de sangre con de leche individual o en tanque (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016).

Se hace necesaria la realización de estudios económicos que determinen de manera tangible las pérdidas causadas por el virus, tratando de incentivar a los productores a que se integren en los programas de erradicación que debe ser de carácter obligatorio; además de que estos se apropien del cumplimiento de las actividades de bioseguridad, siendo esta la clave del éxito.

4. Justificación

La producción bovina en Colombia, tanto de leche como de carne, enfrenta retos importantes en pro del mejoramiento de los índices productivos y reproductivos. Dentro de los diferentes problemas que limitan el desarrollo de la producción bovina se encuentra el impacto económico ocasionado por las enfermedades reproductivas de origen viral. La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR por su sigla en inglés), se ha convertido en un importante tema de investigación, que amerita la ejecución de trabajos dirigidos a esclarecer el comportamiento de la enfermedad en las producciones bovinas del país.

En Colombia se han llevado a cabo numerosos estudios que reconocen la necesidad del fortalecimiento de líneas de investigación que tengan por objeto el estudio de las enfermedades reproductivas. Dentro del ámbito investigativo, académico y formativo en áreas referentes a la Medicina Veterinaria, se ha hecho evidente la necesidad de recopilar la información generada por los diferentes grupos de investigación y publicada en bases de datos nacionales e internacionales ya que se constituyen en la línea base para emprender nuevos estudios sobre las enfermedades reproductivas de origen viral en Colombia.

De otro lado, el claro conocimiento que se tenga sobre la IBR por parte de los estudiantes y los profesionales de la Medicina Veterinaria sobre el impacto en la salud reproductiva del hato es de vital importancia en el establecimiento de los programas de control y prevención de esta enfermedad.

Un aspecto importante al momento de poner a prueba un esquema de control contra IBR es la decisión de emplear vacunas o no. Se requiere por lo tanto, una claridad sobre el tema, de tal manera que no se cometan errores como la ejecución de planes de vacunación que no sean pertinentes para las diversas situaciones epidemiológicas de las distintas regiones ganaderas del país, lo que podría agravar la situación actual. De otro lado, la selección y escogencia de las técnicas diagnósticas es un aspecto crítico para determinar la presencia del virus, dado los diferentes tipos y características moleculares de los virus.

Finalmente se debe pensar en un futuro no lejano, sin que sea una utopía encaminar todos los esfuerzos hacia la erradicación de esta enfermedad en el país, tal como lo vienen haciendo la comunidad europea lo que sería un paso importante en la incursión a mercados internacionales de

carne y leche, evitando así las barreras en el libre mercado de productos que por su lugar de origen puedan ser una fuente del virus. Este documento recoge además de una amplia revisión sobre el tema, un análisis crítico sobre los diferentes estudios en el país y pretende ser referente para futuros estudios sobre el tema.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General.

- ✓ Conocer el estado actual del conocimiento a nivel nacional, regional y global sobre la Rinotraqueitis infecciosa (IBR) bovina.

5.2 Objetivos Específicos

- ✓ Hacer una revisión de diferentes fuentes bibliográficas que permitan conocer la situación sobre IBR a nivel mundial.
- ✓ Realizar una revisión crítica sobre el estado del conocimiento de IBR a nivel de Colombia enfatizando los diferentes aspectos sobre la prevención y control de la enfermedad.
- ✓ Plantear posibles estudios que se pudiera desarrollar a nivel regional y nacional sobre esta enfermedad

6. Marco Teórico

6.1 Historia de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR)

En el siglo XIX Büchner y Trommsdorf describieron en Alemania una enfermedad, la cual denominaron "Bläschenausschlag" (exantema vesicular coital) y atribuyeron como agente causal al Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB – 1); sin embargo su etiología solo fue demostrada en el año 1928 por Reisinger y Reimann (Muylkens *et al.*, 2007). Inicialmente los cuadros clínicos en las vacas fueron conocidos como "vulvovaginitis pustulosa infecciosa" (IPV) y en los toros como "balanopostitis pustulosa infecciosa" (IPB) (Muylkens *et al.*, 2007; Straub, 2001).

En la actualidad el HVB – 1 se ha diseminado a nivel mundial (Straub, 1975), desde que se reportó en ganado lechero en California, EE.UU en 1953 (Yates, 1982). Luego del caso inicial en octubre de 1953, 51 rebaños adicionales en la misma área se vieron afectados durante los siguientes 4 meses; la morbilidad en estos rebaños fue del 7,6% con una tasa de mortalidad de animales infectados del 3% (Graham, 2013). Se creyó que la etiología era viral, considerando este informe como la primera revisión descriptiva de la Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) en el ganado (Graham, 2013). Se pensaba que la enfermedad afectaba únicamente a animales adultos, hasta que en 1954 se reconoció la enfermedad en terneros de hasta 3 semana de vida (Schroeder y Moys, 1954). Al año siguiente (1955), se publicó un informe en el que se describía una enfermedad respiratoria emergente del ganado de engorde y leche que se denominó rinotraqueítis necrótica infecciosa (Miller, 1955). Se ha planteado la hipótesis de la aparición del HVB – 1 en Europa desde inicios de 1900, principalmente como una infección genital, favorecido por presencia de pequeños rebaños con predominio de servicio natural, con pocas probabilidades de propagación por vías respiratorias. Se propuso además que el virus fue introducido a los Estados Unidos desde Europa antes de 1930 (Graham, 2013), estableciéndose inicialmente en la parte oriental de los EE.UU, en donde las producciones tenían características similares a las europeas con alta diseminación venérea y una limitada transmisión por vías respiratorias. Sin embargo al ingresar el virus a los feedlots occidentales en donde había grandes cantidades de animales susceptibles favoreció la diseminación por vía respiratoria; esto llevo a la presentación clínica en rebaños lecheros californianos en donde hay grandes feedlots y predomina la IA (Graham, 2013). Después de estos sucesos, la IBR

rápidamente se extendió a toda Europa a partir de la importación de ganado lechero desde los EU (Muylkens *et al.*, 2007).

La posibilidad de que la infección por HVB – 1 tenga un impacto negativo en la fertilidad ha sido reconocida por muchos años. Un informe publicado en 1967, describió un estudio experimental para investigar el impacto de la presencia de HVB – 1 en el semen utilizado en la inseminación artificial (AI), (Kendrick y McEntee, 1967). Observando retorno al estro en 3 de los animales inseminados con semen contaminado por el virus, además en estos 3 animales se evidencio lesiones en vulva, vagina y endometrio. Un posterior estudio (Parsonson y Snowdon, 1975), evaluó el efecto del HVB – 1 sobre la concepción tanto por IA como por servicio natural. Independientemente del tipo de servicio todos los animales que recibieron semen infectado desarrollaron IPV con retorno al estro; igualmente los toros desarrollaron IPB.

La capacidad del virus causante de IBR para inducir también abortos se conoce desde hace muchos años (Crane *et al.*, 1964). En América del Norte, la capacidad de las cepas de campo de tipo salvaje y las vacunas vivas tempranas modificadas para inducir el aborto ha sido reconocida con uno de los primeros informes de 1964 (Kennedy y Richards, 1964).

La IBR es una enfermedad de origen viral, con reportes en el país desde el año 1972 (Vera *et al.*, 2006). Su importancia radica en los problemas reproductivos que provoca, entre ellos la repetición de servicios, orquitis, epididimitis, vaginitis, infección fetal, aborto, metritis postparto, anestro y algunos casos de mastitis que se ha asociado a la presencia del virus (Vera *et al.*, 2006).

El HVB-1 ocasiona inmunosupresión a nivel del tracto respiratorio superior lo que favorece el desarrollo de la enfermedad conocida como complejo respiratorio bovino (por su sigla en inglés BRDC); permitiendo de esta manera la posterior entrada y colonización de otros agentes virales y/o bacterianos los cuales van a complicar el cuadro clínico. Además de su efecto en el bovino el HVB-1 es un virus emergente en el Búfalo (Vera *et al.*, 2006).

6.2 Etiología

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) se reconoce clínicamente por el enrojecimiento de la nariz, el lagrimeo de los terneros, la vaginitis vesicular, el exantema coital; es una enfermedad altamente contagiosa que se manifiesta clínicamente de diferentes maneras dependiendo del serotipo

implicado y del tejido infectado (Vera *et al.*, 2006; Ruiz, 1977). BoHV-1 es uno de los ocho herpesvirus aislados hasta ahora de ganado infectado naturalmente (Muylkens *et al.*, 2007). Las diferentes formas clínicas de la enfermedad se clasifican como: (i) las enfermedades respiratorias, (ii) conjuntivitis, (iii), abortos, (v) enfermedades genitales, y (vi) las infecciones generalizadas de los terneros recién nacidos. En raras ocasiones, el virus puede causar encefalitis (Vera *et al.*, 2006).

El prototipo de este virus es el Herpes Simplex (Vera *et al.*, 2000). El virus del herpes bovino tipo 1 (HVB – 1) es un herpesvirus específico de la especie que está estrechamente relacionado con el virus humano herpes simplex tipo 1 (HSV-1). Aunque el HVB – 1 no se replica de manera eficiente, afecta la viabilidad celular de las células humanas normales, por lo que es capaz de infectar y matar a diversos tipos de células humanas inmortalizadas y transformadas (Cuddington y Mossman, 2015), característica por las que ha sido seleccionado como modelo de virus oncolítico en la terapia contra el cáncer en humanos.

El HVB – 1 es responsable de afecciones respiratorias y genitales y ocasionalmente ha sido reportado como causante de encefalitis. Sin embargo en un reciente estudio en terneros inoculados con la cepa Los Ángeles y Cooper se pudo demostrar la capacidad de ambas cepas de replicarse y diseminarse en el tejido nervioso (Marin *et al.*, 2016).

En otros estudios realizados en Brasil se comprobó la presencia del HVB – 1 en cerebro mediante aislamiento viral y PCR en animales con sintomatología de enfermedad neurológica (Rissi *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2007). Estos hallazgos cuestionan una de las principales características biológicas hasta ahora utilizada para distinguir entre HVB – 1 y HVB – 5, siendo la capacidad para producir enfermedad neurológica en bovinos propia del HVB – 5 y el cuadro clínico respiratorio y reproductivo correspondiente al HVB – 1 (Silva *et al.*, 2007).

El virión de los *Herpesviridae* está formado por un núcleo o core dentro del cual está el ADN viral lineal de doble banda, con una cápside icosaédrica de 100 a 110 nm de diámetro dentro de una cubierta lipídica y está rodeada por una envoltura con proyecciones de glicoproteínas que desde la parte interna se proyectan a su superficie (Quinn, 2005). En el HVB – 1 se reconocen 32 proteínas estructurales y 37 no estructurales (Frizzo da Silva, 2012); que consisten en glicoproteínas principales (glicoproteínas B (gB), gC y gD), glicoproteínas adicionales (gE, g1, gH, gL, gG, gK y gM), timidina quinasa (TK) (UL23) , un número de enzimas tales como UL2, UL12, UL40 (ribonucleótido reductasa), UL42 (ADN polimerasa), UL50 (dUTPasa), UL52 (helicasa), US3 (proteína quinasa) y un grupo de proteínas reguladoras (BICP0, BICP4 , BICP22 y BICP27, un TIF) (Nandi *et al.*, 2009). Cuatro

glicoproteínas: gI (A), gII (B), gIII (C), gIV (D) han sido identificadas en la envoltura y en la membrana plasmática de células infectadas con HVB – 1, sugiriéndose que estas glicoproteínas participan en el proceso de entrada del virus a la célula (Frizzo da Silva, 2012). Dichas glicoproteínas son reconocidas como antígenos virales mayores por el sistema inmune del huésped. Los HVB-1.1 y HVB-1.2 difieren en algunos epítopes de la gC; dichos cambios pueden alterar la adhesión viral y pueden ocasionar diferencias en la virulencia del subtipo viral (Ruiz *et al.*, 2008).

La capacidad hemaglutinante del virus, la cumple la glicoproteína gIII. Los anticuerpos monoclonales contra la gIV (D) presentan altos títulos neutralizantes; en ausencia del complemento, los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el dominio I de la gIV neutralizan el virus después de la adsorción, sugiriéndose que la glicoproteína puede estar involucrada en la penetración del virus al interior celular (Vera *et al.*, 2006). El HVB – 1 codifica al menos 3 proteínas que pueden inhibir armas específicas del sistema inmune: 1). la proteína UL49.5, 2). bICP0, y 3). la glucoproteína G. Además, el BHV-1 puede infectar e inducir altos niveles de la apoptosis de las células CD41 T, que también inhiben una respuesta inmune eficaz (Jones y Chowdhury, 2010).

La síntesis del ADN viral y el ensamblaje de la cápside ocurren en el núcleo celular. La producción de progenie viral infectiva esta invariablemente acompañada por una irreversible destrucción de la célula infectada. La replicación del ADN vírico ocurre dentro del núcleo celular, utilizando parte del ADN celular para este proceso (Ruiz *et al.*, 2008). La expresión génica del HVB-1 está regulada temporalmente a lo largo de tres fases: (i) temprana inmediato (IE), (ii) temprana (E) y (iii) la fase tardía. Los genes IE se expresan en primer lugar y no requieren nueva síntesis de proteínas (Ruiz *et al.*, 2008). Estos genes son esenciales para el crecimiento del virus, ya que regulan la expresión de genes virales. En particular el gen bICP0 es importante para la infección productiva, debido que activa todas las clases de promotores virales y se expresa en altos niveles de la infección (Frizzo da Silva, 2012).

El HVB-1 entra a las células por fusión de su envoltura con la membrana plasmática celular, en un proceso independiente de pH y dependiente de la unión de glicoproteínas virales presentes en la envoltura del virus con los receptores en la membrana celular (Ruiz *et al.*, 2008). Se ha establecido que el virus se une a las partículas de heparán sulfato presentes en la membrana celular a través de las glicoproteínas virales gD y gC. Después de la entrada a las células del hospedero, el HVB-1 es transportado a través de los microtúbulos hasta el núcleo; donde de manera ordenada y secuencial replica su genoma usando proteínas virales y celulares; dependiendo del momento en que los genes

virales son expresados durante la replicación son clasificados en tres clases: inmediatos tempranos, tempranos y tardíos (Ruiz *et al.*, 2008). En un reciente estudio concluyeron que la entrada del HVB-1 a la célula ocasiona un daño mitocondrial específicamente por el aumento en la producción de radicales libres de oxígeno (ROS) generando un ambiente adecuado para la síntesis de las nuevas proteínas virales y la replicación viral, consecuencia de ello hay una disminución en la producción de energía (ATP) (Zhu *et al.*, 2016). Estos hallazgos podrían ser de utilidad en el abordaje clínico de animales con infección aguda por IBR, teniendo en cuenta que hay una respuesta positiva a la administración de antioxidantes como la N – acetil cisteína (Zhu *et al.*, 2016).

Luego del ensamblaje, los viriones abandonan el núcleo y se dirigen hacia la membrana citoplasmática externa por procesos de gemación a partir de membranas intracitoplasmáticas, adquiriendo su envoltura y tegumento. Luego son transportados dentro de vesículas intracelulares a la membrana citoplasmática para su posterior liberación de la célula (Frizzo da Silva, 2012). Durante la infección aguda, aproximadamente 73 genes virales se expresan en una cascada bien definida (Frizzo da Silva, 2012). Figura 1.

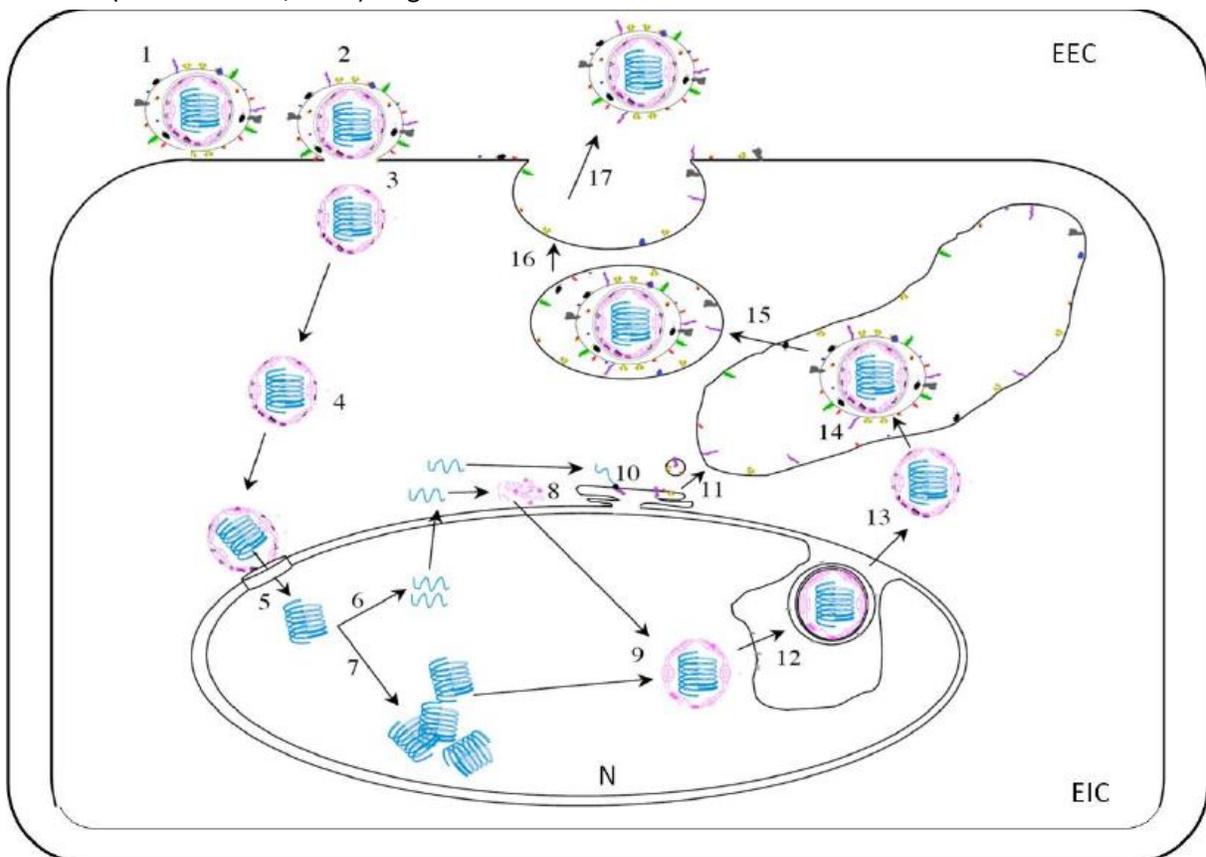


Figura 1. Ciclo de replicación del HVB-1. Adhesión de los viriones del HVB-1 a la membrana celular (1); Fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática (2); Liberación de la nucleocápside en el citoplasma (3);

transporte de la nucleocápside hacia el núcleo e interacción con la membrana nuclear (4); Internalización del genoma en el núcleo celular (5); Transcripción del DNA (6); Replicación secuencial del genoma viral (7); Transporte del RNA viral al citoplasma para ser traducido (8); Las proteínas estructurales son redirigidas al núcleo para la encapsidación (9); Las proteínas de la envoltura son transportadas al retículo endoplasmático (10) y son subsiguientemente incorporadas en diferentes membranas celulares, y direccionadas a través de la vía secretoria (11, 15, 16); La nucleocápside deja el núcleo por gemación en la cara interna de la membrana nuclear (12) y fusión con la membrana nuclear externa (13); El virus adquiere su envoltura secundaria y tegumento en el aparato de Golgi (14); el virus abandona la célula hospedera por exocitosis mediada por vesículas (15-17). EEC: Espacio Extracelular, EIC: Espacio Intracelular, N: Núcleo (Ruiz *et al.*, 2008).

6.3 Clasificación

El BHV-1 es un miembro del género *Varicellovirus* en la subfamilia *Alphaherpesvirinae*, que pertenece a la familia *Herpesviridae* (Nandi *et al.*, 2009). Esta familia se divide en 3 subfamilias, *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* y *Gammaherpesvirinae*. Los alphaherpesvirus se replican y diseminan de forma rápida, destruyendo las células del hospedador y estableciendo generalmente infecciones latentes en los ganglios sensoriales. Los betaherpesvirus, que se replican y diseminan de forma lenta, provocan el agrandamiento de las células infectadas; pueden hacerse latentes en las glándulas secretoras y las células linforreticulares. Los gammaherpesvirus, que infectan a los linfocitos T y B, pueden producir infecciones latentes en esas células (Vera *et al.*, 2006).

El HVB-1 tiene diversidad de cepas que son idénticas serológicamente entre sí; sin embargo, con base en el análisis del genoma con endonucleasas de restricción y patrones de migración de polipéptidos virales, se han clasificado en 3 tipos y en 5 subtipos: HVB-1.1, HVB-1.2a, HVB-1.2b, HVB-1.3a, y HVB-1.3b (Vera *et al.*, 2006). Los subtipos HVB-1.3a y HVB-1.3b fueron reclasificados como HVB-5 y presenta potencial neuropatogeno (Vera *et al.*, 2006). Cada subtipo del virus se relaciona con una de las formas clínicas: el subtipo HVB-1.1, implicado en el síndrome respiratorio, se incluye en la mayoría de las vacunas. Los subtipos HVB-1.2a y HVB-1.2b originan un proceso respiratorio benigno y están implicados en el síndrome balanopostitis infecciosa/vulvovaginitis pustular infecciosa (BPI/VPI) (Vera *et al.*, 2006).

Los ADN de los Herpesvirus poseen arreglos en sus secuencias. Se reconoce la presencia y la localización de estructuras de aproximadamente 100pb, lo que ha permitido clasificarlos en seis grupos designados de la A a la F, localizándose el HVB-1 dentro el grupo D (Vera *et al.*, 2006).

6.4 Epidemiología

Se ha demostrado la presencia del virus en diferentes mamíferos incluyendo los bovinos, con diferencias significativas en la prevalencia de acuerdo al área geográfica y con diversas formas de abordar el problema. En Europa, se reportan prevalencias de 70%, 60%, 50% y 25% en Holanda, Italia, Reino Unido y España, respectivamente, existiendo países libres como Austria, Finlandia, Suecia y Suiza (Arenas y Moreno, 2015). El serotipo BHV-1.1 causa la forma clásica del BHV-1 que es una enfermedad grave denominada Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) con una propagación en todo el mundo (Schroeder y Moys, 1954). BHV-1.2a es frecuente en América del Sur, mientras que el HVB – 1.2b es menos patógeno y se encuentra predominantemente en Australia y Europa (Frizzo da Silva, 2012).

La transmisión del virus ocurre de forma directa a través de aerosoles o por contacto con secreciones respiratorias, oculares o reproductivas de animales infectados o bien en forma indirecta a través de personas o equipos (Arenas y Moreno, 2015). Una de las formas por las cuales se disemina mayormente el virus, es por la introducción de animales nuevos al hato sin una previa evaluación sanitaria (Arenas y Moreno, 2015). Dada la capacidad de generar infección latente, un animal infectado representa una fuente potencial del virus de por vida. Los toros infectados con IBR eliminan el virus en el semen durante toda su vida, aunque se ha pensado que el virus no puede ser eliminado de los toros seropositivos si se manejan con bajos niveles de estrés (Eaglesome y Garcia, 1997; Peña Joya *et al.*, 2011).

El período de incubación de las formas respiratorias y genitales del HVB – 1 es de 2 a 6 días dependiendo de la cantidad del inóculo, ruta de entrada y otros factores inherentes al hospedero, incluyendo signos clínicos respiratorios como fiebre, anorexia, tos, salivación excesiva, secreción nasal y conjuntivitis con secreción lagrimal, fosas nasales inflamadas, y disfagia si la laringe se ocluye con material purulento (Jones y Chowdhury, 2010). La inmunosupresión inducida por el HVB – 1 conduce a infecciones bacterianas secundarias por ejemplo, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Histophilus somni*) que puede causar neumonía llevando a la presentación del Síndrome de Enfermedad Respiratoria Bovina o “fiebre de embarque” en estos casos el cuadro clínico se torna más agudo (Jones y Chowdhury, 2010).

En ganado para carne, la forma respiratoria del HVB – 1 es la más común (Jones y Chowdhury, 2010). En el ganado de cría los abortos o infecciones genitales tienden a ser más comunes pudiendo ocurrir el aborto de 3 a 6 semanas después de la exposición inicial al virus, la reactivación del virus de la

latencia o la vacunación con virus vivos durante la gestación (Muylkens *et al.*, 2007). Este generalmente se produce a las pocas semanas de la exposición, pero puede retrasarse hasta 4 meses si la latencia viral se produce en la placenta (Newcomer y Givens, 2016).

La Viremia presentada por el HVB – 1 además de ser esencial para establecer la latencia, representa una oportunidad para infectar el tracto reproductivo y el feto (Graham, 2013); además de generar infección sistémica mortal en terneros seronegativos muy jóvenes (Muylkens *et al.*, 2007). Una serie de estudios realizados en hembras en etapa reproductiva mostró que el BHV-1 tenía una alta afinidad por el cuerpo lúteo; demostrándose una disminución de los niveles de progesterona. Estas lesiones se observaron tanto con cepas de campo como con cepas vacunales (Chase *et al.*, 2017).

Otros estudios en la misma línea de trabajo, demostraron que las lesiones en el cuerpo lúteo ocurrían por lo menos 3 días después de la vacunación y que no todos los ovarios infectados exhibían cambios histológicos pero sí podrían llevar a cambios hormonales (Chase *et al.*, 2017).

Las infecciones genitales pueden ocurrir en los toros (IPB) y vacas (IPV) en 1 a 3 días del apareamiento o del contacto directo con un animal infectado (Jones y Chowdhury, 2010). La transmisión también puede ocurrir en ausencia de lesiones visibles y por medio de la inseminación artificial con semen de toros con infección subclínica (Jones y Chowdhury, 2010).

Por otro lado, el HVB – 1 y otras infecciones virales pueden desempeñar un papel directo o indirecto en la etiología de la mastitis bovina (Barkema *et al.*, 2009), afectando así los parámetros de calidad de la leche (Armengol *et al.*, 2017). Un análisis de la relación entre animales seropositivos a IBR y la calidad de la leche encontró un aumento en el recuento de células somáticas (RCS) y la grasa, así como una disminución en los niveles de lactosa comparado con animales seronegativos (Armengol *et al.*, 2017).

El diagnóstico rápido y preciso juega un papel fundamental en la aplicación de medidas de control adecuadas en los casos naturales de aborto bovino debido a la posible infección con el herpesvirus bovino -1 (HVB – 1) (Mahajan *et al.*, 2013). Las pruebas serológicas comúnmente utilizados para la detección de anticuerpos de HVB – 1 en el suero de animales incluyen la prueba de neutralización viral (VNT) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) indirecto (Mahajan *et al.*, 2013). El ELISA indirecto se utiliza más ampliamente debido al corto tiempo requerido para obtener un resultado en un gran número de muestras (Mahajan *et al.*, 2013). Además, como la latencia viral es normal para HVB – 1,

la identificación de los animales serológicamente positivos y aparentemente sanos proporciona un indicador útil del estado de la infección en el hato (Mahajan *et al.*, 2013).

El desempeño de las pruebas de diagnóstico es especialmente importante durante las últimas fases de los programas de erradicación ya que se requieren pruebas de confirmación para aclarar posibles resultados dudosos (Bertolotti *et al.*, 2015). Varios alfa herpesvirus de rumiantes, como el HVB – 5, el herpesvirus bubalino 1, el herpesvirus caprino 1 (CpHV-1), el herpesvirus 1 y 2 (CvHV-1 y CvHV-2) y el herpesvirus 1 de alce comparten antígenos comunes y algunos de estos virus pueden cruzar la barrera de interespecie (Thiry *et al.*, 2006); haciéndose necesario herramientas diagnosticas capaces de distinguir entre HVB – 1 y otros alfa herpesvirus de rumiantes (Thiry *et al.*, 2006).

Recientemente se propuso una prueba basada en un ELISA indirecto que se fundamenta en la reactividad contra anticuerpos a inmunoglobulina gE del HVB – 1, mostrando una sensibilidad y especificidad de 98,41 y 99,76% respectivamente; además no genero reacción cruzada con otros alfa herpesvirus relacionados con el HVB – 1, y no se evidenciaron resultados falsos positivos en animales vacunados (Bertolotti *et al.*, 2015). Actualmente el uso de vacunas marcadoras que utilizan la glicoproteína E viene siendo usado con éxito en la erradicación de la enfermedad en algunos países europeos (Raaperi *et al.*, 2015).

El ectodominio de la gE expone diferentes epítomos y esto podría explicar su excelente sensibilidad y especificidad diagnóstica (Bertolotti *et al.*, 2015)

Por otro lado, la prueba demostró su utilidad en muestras de leche de tanque en hatos vacunados, siempre que la prevalencia de gE sea superior al 10%, ya que a menudo se observan falsos negativos cuando la prevalencia de gE en el hato es menor (Tignon *et al.*, 2017). La aplicación de un proceso de concentración de inmunoglobulinas (CATTLETYPE[®] Milk Prep kit, QIAGEN) para las muestras de leche en tanque aumentó claramente la sensibilidad de los kits de gE ELISA para rebaños con seroprevalencia para gE superior a 8,0%. (Tignon *et al.*, 2017). Una limitación de la leche en tanque como matriz de diagnóstico es que representa solamente el ganado que entrega la leche al tanque en el día del muestreo, por lo tanto se excluye animales no ordeñados tal como vacas secas, vacas enfermas y vacas en el posparto temprano (Muratore *et al.*, 2017).

En un estudio se planteó una estrategia para la vigilancia de IBR empleando gE ELISA que distingue a los animales infectados con cepas de tipo salvaje de animales vacunados con cepas sin gE,

contrario a los ELISAs indirectos y gB que permiten únicamente la distinción entre animales ingenuos de infectados o vacunados (Tignon *et al.*, 2017).

En otro trabajo se seleccionaron 198 animales con resultados en suero concordantes para ELISAs gB, indirectos y tres kits diferentes de ELISAs gE (I – IDEXX, II – IDvet y III - Hipra) para la evaluación de sensibilidad y especificidad en muestras de leche individuales previamente tomadas. Este incluyó 91 animales sanos (negativos para los 5 ELISAs); 37 vacunados (positivos para ELISA gB e indirecto, negativos para los 3 gE ELISAs) y 70 animales infectados (positivos para los 5 ELISAs) (Tignon *et al.*, 2017). Se encontró una especificidad de los kits evaluados por encima de 0,90 con animales sanos y vacunados; por otro lado la sensibilidad de ELISA indirecta para los animales vacunados e infectados fue de 0,89 y 1,00 respectivamente. Para los ELISAs gE, los kits I, II y III mostraron una sensibilidad en animales infectados de 0,97, 0,53 y 0,93 respectivamente (Tignon *et al.*, 2017). Este trabajo también evaluó muestras de leche en tanque tomadas de hatos lecheros, las cuales se clasificaron de acuerdo a la prevalencia de gE (0 a 15%) de cada muestra hallada con anterioridad. Los resultados fueron los siguientes: el kit I mostro una prevalencia para gE de 35%, el kit II de 20%, el III de 5%, el ELISA indirecto de 90% y el ELISA gB de 45%. Hasta ahora las pruebas de gE en muestras de leche en tanque no se han aplicado debido a la menor sensibilidad diagnóstica y analítica de este ELISA en comparación con los ELISA gB e indirecto en las muestras de leche (Tignon *et al.*, 2017).

En casos en los que ha ocurrido un aborto el diagnóstico de HVB – 1 generalmente se basa en la presencia de lesiones histológicas compatibles, el aislamiento del virus, la inmunohistoquímica y la PCR; siendo esta última una prueba fácil de realizar y la más rápida para la detección del HVB – 1 en el tejido fetal (Mahajan *et al.*, 2013). En los casos de aborto hay que tener en cuenta el momento de la gestación en el cual ocurrió, siendo generalmente entre el 5 – 8 mes de gestación, además los antecedentes de aborto en un hato, aumenta las probabilidades de encontrar una seroprevalencia alta en comparación con hatos en los que no ha tenido estos antecedentes (Mahajan *et al.*, 2013).

El genotipo BoHV-1.2 se considera el de mayor patogenicidad correspondiendo a un cuadro clínico respiratorio inicial que posteriormente coloniza el sistema reproductivo ocasionando muerte embrionaria y abortos (Oliveira *et al.*, 2011).

Además en los machos, el virus se elimina por el semen; convirtiéndose en una fuente importante de transmisión en la población bovina, teniendo en cuenta el masivo uso de biotecnologías de la reproducción como la inseminación artificial y la transferencia de embriones (Oliveira *et al.*, 2011).

La identificación del BoHV-1.2b en varios casos de enfermedad respiratoria tanto en ganado lechero como de carne, fue considerado como algo inusual, dado que el HV – 1.2b se asocia a infección genital en hembras (IPV) y en machos (IPB) (Fulton *et al.*, 2013).

Un estudio en Rio Grande do Soul (Brasil) en donde se analizaron por PCR muestras de semen fresco y semen congelado, se encontró que en el 100% de las muestras (76) había presencia de HVB – 5 y 44,7% a HVB – 1 (Oliveira *et al.*, 2011). A 40 de estas muestras se les realizó aislamiento viral obteniendo 18 positivas de las cuales, 7 se analizaron mediante enzimas de restricción (REA) dando todas positivas a HVB – 1 y HVB – 5. Todos los genomas de HVB -1 eran del genotipo BoHV – 1.2. (Oliveira *et al.*, 2011).

El riesgo de transmisión del HVB – 1 con semen de toros seropositivos proveniente de centros de inseminación artificial no se considera muy alto; sin embargo el tratamiento del semen infectado con gammaglobulinas de suero hiperimmune o con una solución de tripsina puede reducir el riesgo de transmisión de HVB-1 mediante la inseminación artificial (Oliveira *et al.*, 2011). La transmisión por la IA fue demostrada en Suiza, país que ya había declarado libre de la enfermedad, la importación de semen proveniente de EU fue la fuente de infección y por ende la reintroducción nuevamente del virus a este país (Kupferschmied *et al.*, 1986). En este caso todas las pruebas serológicas realizadas al toro fueron negativas razón por la cual se propuso que los toros fueran inmunosuprimidos para determinar si estaban infectados latentemente y eliminaban virus a través del semen (Kupferschmied *et al.*, 1986).

En los hatos en los cuales se tiene un mayor número de animales y se maneja una alta densidad, aumenta la probabilidad de encontrar una seroprevalencia alta. En los rebaños más grandes, una afluencia continua de animales susceptibles promueve la circulación del virus (Raaperi *et al.*, 2010); además potencializa la transmisión a través de aerosoles, el contacto con pastizales vecinos y el contacto directo con fómites (González-García *et al.*, 2009).

Ciertos factores como el tamaño de la ganadería y la edad de los animales aumentan el riesgo de infección a HVB – 1 (Segura-Correa *et al.*, 2016). Otro factor que determina un aumento en la seroprevalencia es la introducción de animales sin previo control serológico (Boelaert *et al.*, 2005). Los animales introducidos representan el mayor riesgo de bioseguridad para la entrada de agentes patógenos a un hato libre (Boelaert *et al.*, 2005) por lo tanto, los animales deberían ser puestos en cuarentena durante un mínimo de 3 semanas a menos que se demuestre que está libre una infección viral activa (Newcomer y Givens, 2016).

El uso de la inseminación artificial implica el riesgo de introducir el virus al hato mediante semen de mala calidad (Boelaert *et al.*, 2005). En granjas que limitan con otras fincas, en donde no se tiene barreras que eviten el contacto entre los animales, el riesgo de introducción del virus es mayor (Boelaert *et al.*, 2005).

Los toros están en mayor riesgo de ser seropositivos en comparación con las vacas, ya que tienen mayores contactos "riesgosos" (Boelaert *et al.*, 2005). Un ejemplo de este tipo de contactos es la participación más frecuente de los toros en espectáculos o ferias, además, los toros que se escapan y se mezclan con otros bovinos son un riesgo para la introducción del virus al hato (Boelaert *et al.*, 2005). En Brasil se reportó que la monta natural era un factor de riesgo mayor para la seropositividad en el rebaño frente a la IA (Dias *et al.*, 2013).

Se reportó una seroprevalencia de 65,8% en bovinos no vacunados de la región de Tamil Nadu, India, (Saravanajayam *et al.*, 2015) observando diferencias significativas entre razas, ya sea mestizo (71,26%) o nativo (54,32%); igualmente se observó una mayor prevalencia en animales mayores de 3 años y en hembras.

Por otro lado, la disminución de la inmunidad materna se asocia con un mayor riesgo de infección y seroconversión; esto conduce a una mayor prevalencia de anticuerpos contra el HVB – 1 en bovinos adultos, donde la tasa de seroconversión es menor debido a la "inmunidad del rebaño" (Raaperi *et al.*, 2014). La población más joven del ganado tiene una mayor probabilidad de presentar una infección activa; por lo tanto, se recomienda limitar la mezcla y el contacto entre estos grupos y las vacas preñadas (Newcomer y Givens, 2016).

La reactivación de la latencia del herpesvirus bovino en el huésped infectado, favorece la eliminación ocasionalmente en el semen, sin reaparición de los síntomas clínicos (Oliveira *et al.*, 2011). Para evitar la propagación del HVB – 1 y HVB – 5 por inseminación artificial, todas las

muestras de semen, incluidos los de los toros aparentemente sanos, deben analizarse buscando la presencia del virus (Oliveira *et al.*, 2011).

La legislación sanitaria impuesta por la Organización Mundial de Salud Animal (OIE) restringe las importaciones de material biológico de países donde la enfermedad es frecuente (Peña Joya *et al.*, 2011). La OIE ha incluido políticas sanitarias relacionadas a este virus, en cuanto a la toma de semen bovino, su manejo y la manipulación de embriones (Peña Joya *et al.*, 2011).

Las condiciones culturales de manejo propias de ciertas regiones han dificultado tener éxito en las estrategias de prevención y control que se han empleado o se han planeado ejecutar. Se requiere un cambio en la idiosincrasia común de los ganaderos al manejar sus hatos.

6.5 Latencia Viral

Una de las características de los herpesvirus es su capacidad de generar latencia en determinados lugares del organismo de acuerdo al sistema orgánico que haya generado la infección aguda (Frizzoda Silva, 2012). La latencia ocurre comúnmente después de la infección natural o vacunación con cepas atenuadas (Newcomer y Givens, 2016; Vicetti Miguel *et al.*, 2010). En un estudio utilizando como modelo el ratón, encontró que el 17 β estradiol inducía la reactivación del herpes simplex tipo 1. Esto plantea la posibilidad que en humanos se reactive la latencia viral en el caso de contraceptivos que contengan 17 β estradiol, igualmente en el caso del uso de protocolos de IATF donde se usan comúnmente estas sustancias.

Las partículas virales entran en el sistema nervioso periférico por la infección de célula a célula. Si la infección se inicia a través de la cavidad oral, la cavidad nasal, u ocular, el sitio principal para la latencia son las neuronas sensoriales dentro de los ganglios trigémino (TG) (Jones y Chowdhury, 2010). En lo concerniente al HVB – 1, después de la infección aguda en el epitelio mucoso, la nucleocápside del virus es direccionada por transporte axonal retrogrado hasta el cuerpo de la neurona sensorial dentro del ganglio trigémino, allí el ADN viral es insertado en el núcleo de la neurona; entrando en un estado de transcripción restringida, lo cual le permite evadir la respuesta inmune (Ruiz *et al.*, 2008).

Periódicamente, el virus puede reactivarse por episodios de estrés, produciendo partículas virales, las cuales migran en forma centrífuga usando el transporte axonal anterógrado de la misma neurona

por la cual ascendieron, alcanzando el sitio inicial de replicación, para poder así diseminarse a otros animales susceptibles (Ruiz *et al.*, 2008). Aproximadamente siete días después de la infección, la amplia expresión de genes virales en TG se extingue. La inhibición de la expresión génica IE reduce la infección productiva y la toxicidad celular, favoreciendo el establecimiento de latencia (Frizzo da Silva, 2012).

Otros lugares en los cuales se ha reportado la latencia del virus son en los centros germinales de las tonsilas faríngeas, células mononucleares de sangre periférica, nódulos linfoides y tejidos esplénicos; lo cual es una característica del virus que hace al animal una vez infectado, hospedero de por vida (Frizzo da Silva, 2012). La capacidad de demostrar la presencia de genomas de herpesvirus en leucocitos de sangre periférica sería importante para evaluar la contribución de la viremia a la diseminación viral (Favier *et al.*, 2014).

En un estudio se reportó la presencia de HVB – 1 en células sanguíneas periféricas en terneros infectados por vía intranasal (Favier *et al.*, 2014); sin embargo el HVB – 5 mostró un mejor comportamiento infectando estas células. El mantenimiento de una infección latente requiere la permanencia del genoma viral y la supervivencia celular; contrario con la infección aguda cuando se expresan de 70-80 genes virales; caracterizándose la latencia por una expresión mínima de genes virales, la ausencia de proteínas virales líticas y producción de virus infeccioso (Jones y Chowdhury, 2010).

Durante la reactivación de la latencia, ocurren tres eventos significativos: 1) la expresión del gen viral productivo se detecta fácilmente en las neuronas sensoriales, 2) la expresión de genes relacionados con la latencia (LR) disminuye, y 3) el virus infeccioso se secreta por las cavidades oculares y nasales (Jones y Chowdhury, 2010). El promotor temprano bICP0 se activa por la dexametasona, un estímulo que induce la reactivación de la latencia, lo que sugiere que el promotor temprano de la bICP0 juega un papel en la fase temprana de reactivación del virus (Frizzo da Silva, 2012). El ARN LR es la única transcripción viral abundante detectado en las neuronas infectadas de forma latente (Kutish *et al.*, 1990; Rock *et al.*, 1992). El sitio de inicio de la transcripción del LR-ARN durante la latencia en TG es diferente de la que durante la infección lítica. Los productos génicos LR incluyen proteínas y transcripciones no codificantes, que promueven la latencia mediante la inhibición de la apoptosis y la represión de la infección productiva (Frizzo da Silva, 2012). Figura 2.

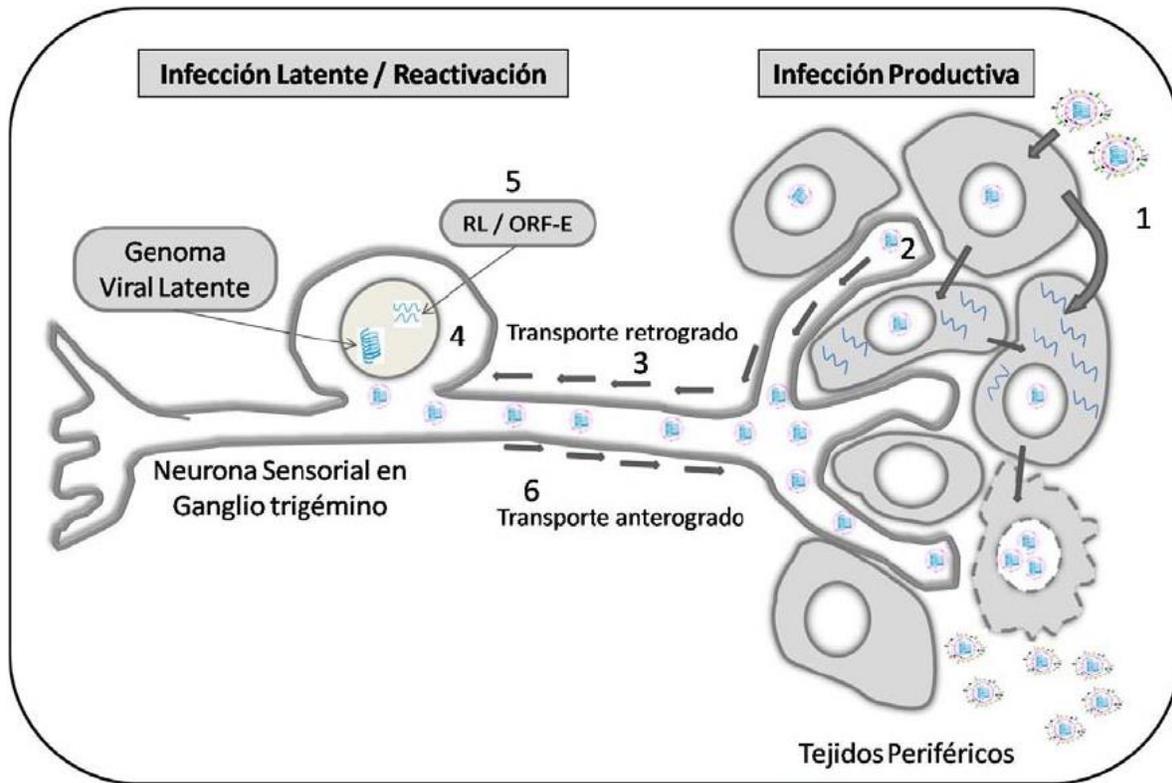


Figura 2. Modelo de transporte axonal del BHV-1. Luego de la infección primaria (1) el virus invade las terminales sensoriales de las neuronas (2), a través de las cuales las nucleocápsidas ascienden por transporte axonal retrogrado (3) al cuerpo celular neuronal dentro del ganglio trigémino (4), en el cual establece su latencia y solo expresa RL y ORF-E (5). Durante episodios de estrés o inmunosupresión, el virus reactivado y transportado de manera anterógrada (6) hasta el sitio inicial de la infección, donde puede producir gran cantidad de partículas virales (Ruiz *et al.*, 2008).

6.6 Coinfecciones entre IBR y Otros Virus

La estrecha relación del HVB – 1 con el HVB – 5 es una causa importante de meningoencefalitis viral en el ganado vacuno, pero también puede infectar el tracto genital. Ambos virus se han asociado con fallas reproductivas, por ejemplo, la muerte embrionaria temprana y abortos, que probablemente representan las pérdidas más importantes relacionadas con HVB – 1 y HVB – 5 (Oliveira *et al.*, 2011). Debido al alto grado de similitud antigénica entre estos dos virus, presentan altas tasas de reacción cruzada en los ensayos serológicos estándar (Oliveira *et al.*, 2011).

En un estudio en Brasil, que evaluaron 200 bovinos para la presencia de HVB – 1 y HVB – 5 mediante PCR, se encontró una prevalencia de 82,8% para HVB – 1, 93,1% para HVB – 5 y una alta coinfección entre los dos virus de 75,9% en la población bovina evaluada (Campos *et al.*, 2009).

Los casos de meningoencefalitis relacionados con la infección del HVB – 1 se han atribuido a menudo al HVB – 5 debido a que es más comúnmente asociado a enfermedad neurológica (Rissi *et al.*, 2008). Estudios recientes sugieren que el HVB – 5 podría derivarse de una recombinación entre el HVB – 1 y el herpesvirus bufalino tipo 1 (Campos, 2017 comunicación Personal).

Estudios experimentales y observaciones de campo, sugieren que la infección por HVB – 1 estaría asociada a superinfecciones bacterianas que conduce a bronconeumonía grave (Muylkens *et al.*, 2007; Narita *et al.*, 2000). Alteraciones inducidas por el HVB – 1 en la respuesta fisiológica a patógenos incluyen daño en el epitelio reduciendo el aclaramiento mucociliar, disminución de la actividad de los macrófagos alveolares y neutrófilos polimorfonucleares, igualmente el sinergismo hacia bacterias provocado por la exposición de los leucocitos a las citoquinas inflamatorias liberadas en respuesta a la infección por el virus (Muylkens *et al.*, 2007).

Otros agentes causantes de la BRDC incluyen diarrea viral bovina vírica (BVDV), el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV) y el virus de la parainfluenza bovina (PI-3) (Jones y Chowdhury, 2010). El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) y herpesvirus bovino 1 (HVB – 1) son patógenos importantes de ganado que inducen una amplia inmunosupresión de la respuesta inmune mediada por células, teniendo una importante participación en el complejo de la enfermedad respiratoria bovina (BRDC) (Molina *et al.*, 2013). Los estudios sobre la cinética de la respuesta celular pueden proporcionar información valiosa para comprender la respuesta inmune mediada por células durante coinfecciones con estos agentes virales principales de BRDC (Molina *et al.*, 2013).

El estado latente es característico de todos los herpesvirus. El HVB – 1, al igual que el virus de la seudorabia (PRV) y el herpesvirus equino (EHV), establecen latencia tanto en el tejido neuronal como en el inmune (Chase *et al.*, 2017). La inmunosupresión inducida por una infección aguda por BVDV se ha relacionado en estudios histopatológicos previos a una exacerbación de los efectos desarrollados durante coinfecciones con HVB – 1 (Molina *et al.*, 2013).

En un estudio en animales previamente infectados con BVDV se encontró que la respuesta inmune mediada por células contra el HVB – 1 fue menos eficaz para detener la diseminación del virus comparado con animales infectados únicamente por HVB – 1 (Molina *et al.*, 2013); por lo que se cree que exista sinergismo entre los dos virus, facilitando la viremia, y los síntomas clínicos más severos y el desarrollo de los procesos inflamatorios.

Se sabe además que naturalmente el BVDV como el HVB – 1 muestran tropismo por el tracto respiratorio, por lo que su participación en el BRDC se debe a una acción potenciadora en las infecciones mixtas derivadas de su efecto inmunosupresor (Molina *et al.*, 2013).

En un estudio en Colombia el que se muestrearon 791 vacas en 24 fincas para tres agentes virales (VDVB, HVB – 1 y leucosis enzoótica bovina (EBL), la seroprevalencia por individuo fue de 75.7% para el VDVB, 31.1% para el HVB – 1 y 47.8% para EBL (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016). Estudios como estos señalan el alto grado de coinfección entre HVB – 1 y otros virus en la ganadería colombiana, y por tanto la dificultad que tendría la implementación de programas de prevención y control.

Debido a que las manifestaciones clínicas de IBR se confunden con otras infecciones que causan desordenes respiratorios y reproductivos, la contribución del virus de IBR sobre el efecto patógeno total dentro del hato es desconocido (Raaperi *et al.*, 2015).

6.7 Medidas de control de IBR y principales vacunas

En Norteamérica, se ha demostrado que la vacunación tiene un efecto importante en disminuir las pérdidas reproductivas asociadas con las infecciones virales (Walz *et al.*, 2017). La mayoría de las vacunas autorizadas para el uso contra patógenos virales reproductivos son multivalentes, y contienen los antígenos de VDVB y HVB – 1, asociados a diversos antígenos bacterianos como leptospira. Las vacunas están disponibles como vacunas vivas modificadas (MLV), vacuna muertas (kV) y vacunas combinadas (CV) compuestas de las dos anteriores (Walz *et al.*, 2017).

Aunque la vacunación con cepas heterólogas ofrece cierto grado de protección contra otros genotipos, la inmunidad es generalmente inferior y en algunos casos incapaces de prevenir la infección comparado con la vacunación con cepas homólogas (Newcomer y Givens, 2016).

En general, las vacunas MLV (vacunas vivas modificadas) estimulan una mayor producción de anticuerpos neutralizantes y una mayor duración de la protección que las vacunas inactivadas; además estas estimulan la inmunidad mediada por células (Newcomer y Givens, 2016). Las vacunas inactivadas son generalmente seguras para su uso en vacas preñadas que no tengan o sea desconocido su historial de vacunas; sin embargo, varias vacunas MLV se han desarrollado para la administración a vacas preñadas cuando se cumplen las condiciones del fabricante (Newcomer y Givens, 2016).

Se recomienda el uso de vacunas MLV en ganado gestantes por lo menos 30 días antes del parto (Newcomer y Givens, 2016).

En un reciente estudio se comparó la protección fetal y abortiva contra VDVB y HVB – 1 proporcionada por la vacunación con dos dosis pre-cría con una vacuna MLV seguida por la revacunación anual durante la gestación con una vacuna MLV o CV usando un desafío viral-dual máximo riguroso que implica la exposición a PI-BVDV y la inoculación intravenosa con BoHV-1; dando como resultado tasas de preñez de 96% y cría en un 87%, 95% y 27% para los grupos con vacuna MLV, CV y no vacunados respectivamente (Walz *et al.*, 2017).

Se demostró claramente que la administración de dos dosis pre-cría de la vacuna MLV y la revacunación anual de novillas o de vacas gestantes con la vacuna CV estimuló una excelente protección contra la enfermedad asociada a VDVB y al HVB – 1 en ganado gestante sin los efectos nocivos potenciales asociados a la administración de una vacuna MLV en vacas o novillas gestantes (Walz *et al.*, 2017). Otro autor reporta que las Novillas de reemplazo deben recibir su asignación completa de vacunas para la Diarrea viral bovina y HVB – 1 al menos 30 días antes del inicio del período de monta.

Se sugiere por los autores que las novillas de reemplazo sean vacunadas con una vacuna multivalente MLV para una eficacia óptima de protección (Newcomer y Givens, 2016). En hatos ganaderos, una de las prácticas de manejo que se ha establecido es la de vacunar terneras antes del destete lo que resulta en una mejor respuesta inmune debido a menos estrés en comparación con las terneras que se vacunan durante o después del destete. Sin embargo, existe el riesgo de que las vacas sean infectadas con HVB – 1 por parte de las terneras lactantes vacunadas, lo que resulta en un fracaso reproductivo (Brower *et al.*, 2008; Chase *et al.*, 2017).

Las cepas de HVB – 1 que carecen de la glicoproteína E (gE-) han demostrado ser seguras y efectivas como vacunas marcadoras contra HVB – 1 (vacunas DIVA) (Strube *et al.*, 1996). Las vacunas vivas marcadoras (gE- BHV-1) inducen inmunidad temprana contra la infección (Patel, 2005); proporcionando una protección sustancial una vez administrada vía intramuscular (IM) pudiéndose emplear tempranamente en un brote (Patel, 2005; Raaperi *et al.*, 2014). Estas vacunas vivas marcadoras en ocasiones pueden generar pirexia transitoria a corto plazo y descarga nasal; sin embargo se ha demostrado que son seguras en toros y vacas preñadas (Patel, 2005).

Una vacuna Diva lleva como mínimo una proteína antigénica menos que el virus de tipo salvaje correspondiente (Raaperi *et al.*, 2015); hasta la fecha solo las vacunas DIVA con eliminación de la glicoproteína E están en uso en la Unión Europea para la erradicación de IBR (Raaperi *et al.*, 2015). La respuesta inmune inducida por tales vacunas no apunta a la glicoproteína E del BHV-1 contrario a lo que ocurren después de la infección por cepas de campo (Tignon *et al.*, 2017) (Figura 3). Esta teoría la podríamos contrastar con el uso tradicional de ELISA indirecto o ELISA gB en donde reaccionaría positivamente a muestras de animales vacunados como a los infectados en campo. El fundamento de las vacunas marcadoras es que posibilita la diferenciación de los animales vacunados de aquellos infectados con virus de campo (Raaperi *et al.*, 2015).

En un estudio se comparó hatos vacunados con vacunas DIVA – glicoproteína E, de hatos no vacunados reportando que en los rebaños vacunados sobresalía una disminución de afecciones respiratoria en terneros, novillas y vacas (Raaperi *et al.*, 2015); así como un mejor índice de inseminaciones efectivas, periodos secos más cortos que llevan a mejorar el balance energético negativo postparto y menos días a la primera ovulación (Watters *et al.*, 2009), todo lo cual se tradujo en una mayor producción de leche.

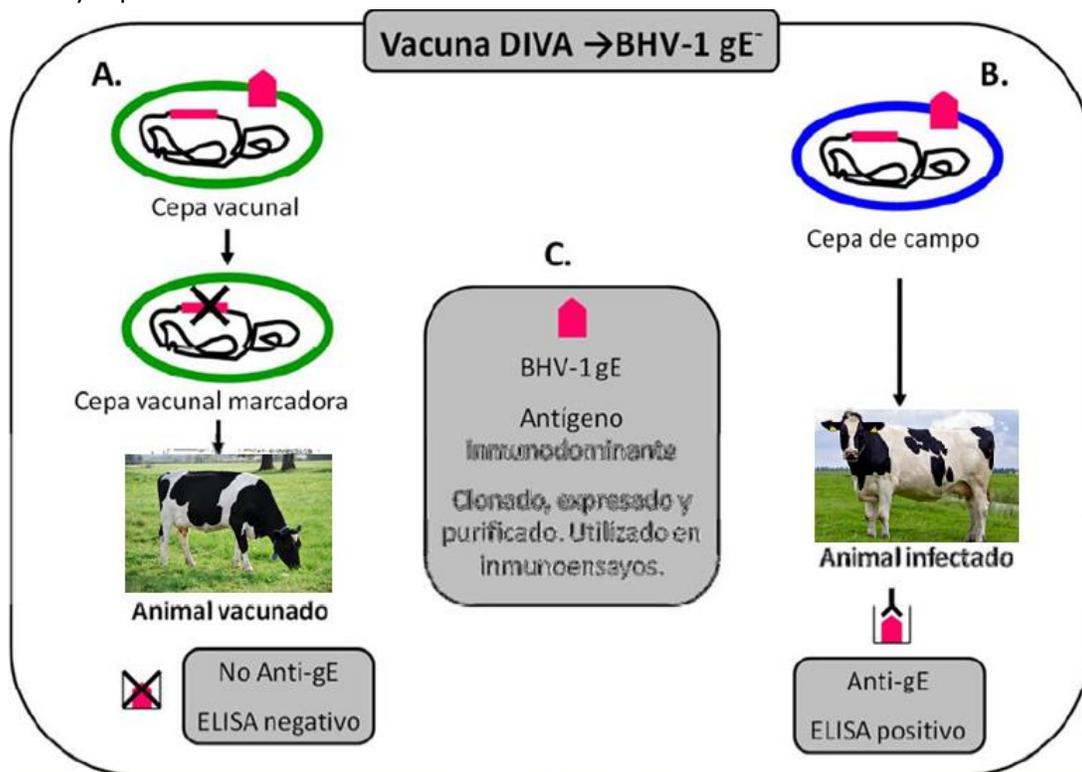


Figura 3. Uso de una vacuna marcadora DIVA (gE-) para el BHV-1. A. La cepa vacunal posee una delección del gen inmunodominante (gE) y por tanto los individuos vacunados no generan anticuerpos contra esta glicoproteína; B. Los animales infectados si generan anticuerpos contra la gE dado que la cepa de campo si la posee; C. La gE del BHV-1 es usada como antígeno para inmunoensayos (Ruiz-Saenz *et al.*, 2009).

Las vacunas de doble eliminación (timidina quinasa (tk) negativas y gE negativas) inducen inmunidad protectora y reducen el desprendimiento del virus provocado después del tratamiento con dexametasona (Kaashoek *et al.*, 1996; Raaperi *et al.*, 2014). Una vacuna en donde se suprimio doblemente el gen gE- / tk-IBR está disponible en la UE; la supresión de tk se ha informado que reduce el neurotropismo viral, por lo tanto, el riesgo de latencia y reactivación (Raaperi *et al.*, 2014). Hay que tener claro que un programa de vacunación reducirá pérdidas reproductivas, pero no puede impedir por completo todas las consecuencias reproductivas de la infección viral (Newcomer y Givens, 2016). La vacunación tiene algunas limitaciones incluso cuando han tenido éxito en la reducción significativa de la transmisión y la incidencia de la enfermedad, no evitará la infección del virus de tipo salvaje, por lo que los brotes siempre podrían ocurrir si esta se detiene (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016). En la mayoría de los países, la vacunación se usa ampliamente de forma individual, lo que puede ayudar a disminuir las pérdidas económicas debido a la enfermedad clínica pero también contribuye a la alta seroprevalencia (Ackermann y Engels, 2006).

La USDA-APHIS basada en diversos estudios ha dado visto bueno a algunas vacunas MLV para su uso en animales gestantes. Sin embargo varios informes han reportado un aumento de casos de falla reproductiva posiblemente asociado al uso de estas vacunas (Chase *et al.*, 2017). Por lo tanto se hace necesario que las estrategias apropiadas para abordar los riesgos asociados al uso vacunas reproductivas en animales gestantes deben ser discutidas con los profesionales veterinarios en donde los ensayos clínicos no vayan encaminados únicamente en función de la licencia del producto (Chase *et al.*, 2017).

El uso de las vacunas MLV de HVB – 1 para prevenir abortos en animales gestantes siempre tendrá riesgo, incluso en "animales bien vacunados". Por definición, los animales gestantes son inmunosuprimidos debido a la gestación (Peña Joya *et al.*, 2011).

Es posible diferenciar cepas de HVB – 1 de tipo salvaje de las cepas de vacuna MLV determinando sus patrones de polimorfismo de nucleótido único (SNP) mediante PCR a través de secuencias de genoma completo o secuencia de regiones genómicas que contienen SNP que definen las cepas de vacuna (Fulton *et al.*, 2016). En varios estudios se han reportado casos de enfermedad respiratoria y aborto en animales sin historial de vacunación reciente en donde se aislaron cepas compatibles con vacunas MLV (Fulton *et al.*, 2015; Fulton *et al.*, 2013); lo cual plantea cierta preocupación por la posible latencia de las cepas vacunales dentro del hato. Igualmente es preocupante el hallazgo

de estas cepas vacunales en terneros recién nacidos con enfermedad sistémica, posiblemente como resultado de la exposición a la vacuna durante la gestación (Fulton *et al.*, 2016).

En un historial de trabajos realizados desde el 2009 en donde se llevó a cabo diferenciación de la cepa viral, se encontró que en un 95% de los casos de pérdidas fetales se identificó cepas vacunales de HVB – 1, poniendo en duda la seguridad del uso parenteral de las vacunas MLV en la prevención de abortos (Chase *et al.*, 2017).

Una realidad es que en la mayoría de los hatos, el virus de la Diarrea viral bovina (VDVB) es a menudo una amenaza mayor para la salud reproductiva de los bovinos por lo tanto muchos programas de vacunación en los hatos incorporan vacunas multivalentes que contienen a menudo HVB – 1 y VDVB junto con otras bacterias patógenas asociados con enfermedad reproductiva (Chase *et al.*, 2017).

Otra preocupación constante es la posibilidad de recombinación entre el virus de la vacuna con delección gE y el virus de tipo salvaje, tal como ha sido demostrado bajo condiciones experimentales (Ackermann y Engels, 2006). Sin embargo, el intervalo de tiempo entre dos infecciones sucesivas puede tener una gran influencia en la probabilidad de recombinación (Meurens *et al.*, 2004). Afortunadamente, los eventos de recombinación aún no se han detectado en el campo.

Sumado a lo anterior se plantean otras consideraciones referentes al uso de las vacunas marcadoras. En primer lugar se han detectado cepas de tipo salvaje con gE variante que no reaccionaron con ciertos anticuerpos monoclonales específicos de gE (Ackermann y Engels, 2006), sin embargo se concluyó que estas cepas pueden no ser un peligro con respecto a las vacunas marcadoras. Otro aspecto cuestionado es la rapidez y duración de la protección; informándose que tanto las vacunas marcadoras vivas modificadas como la convencionales inducen protección contra la enfermedad 2 o 3 días después de la vacunación, aunque no se detectaron anticuerpos específicos contra el HVB – 1 en ese momento (Van Oirschot *et al.*, 1996). Se ha afirmado que la protección a la infección persiste durante 6-9 meses después de la vacunación con vacunas inactivadas o MLV (Trapp *et al.*, 2003). Por último, experimentalmente se detectaron anticuerpos contra gE 2 – 5 semanas después de la infección (Beer *et al.*, 2003); por lo tanto, los anticuerpos anti-gE pueden pasarse por alto prontamente después de la infección de tipo salvaje (Ackermann y Engels, 2006).

Es un hecho bien conocido: la vacunación es una de las formas más efectivas de prevenir la IBR en la industria ganadera. Cabe mencionar que el éxito de la prevención de las vacunas depende del tipo y la calidad de los preparados aplicados (Hulyanych *et al.*, 2016). En el proceso de preparación de

una vacuna la primera etapa importante es una selección apropiada del sistema y de ciertas condiciones de cultivo que podrían proporcionar al virus una alta actividad infecciosa y antigénica (Hulyanych *et al.*, 2016).

Todas estas consideraciones pueden ser desfavorables para el éxito de los programas de erradicación de IBR, pudiendo además afectar negativamente la confianza en las vacunas veterinarias (Ackermann y Engels, 2006).

6.8 Programas de Erradicación de IBR

Desde que los esquemas de control de HVB – 1 se introdujeron por primera vez en la década de 1980, seis países europeos han logrado la erradicación total (Raaperi *et al.*, 2014). El virus ha sido erradicado de Austria, Dinamarca, Finlandia, Suecia, Suiza y Noruega (Ackermann y Engels, 2006), así como del Estado Federal de Baviera en Alemania (2011/674 / UE) y de la Provincia de Bolzano en Italia (2011/674 / UE) (Raaperi *et al.*, 2014). Tabla 1.

Varios países comenzaron a implementar esquemas de control para HVB – 1 en los años ochenta (Nuotio *et al.*, 2007; Trapp *et al.*, 2003). Actualmente, en varios países europeos existen programas de erradicación de carácter obligatorio o voluntario, mediante el uso de vacunas marcadoras (Raaperi *et al.*, 2014). Las estrategias sobre una base voluntaria que conducen a generar certificados para hatos libres de IBR pueden ser positivas. Sin embargo, los costos para los propietarios de hatos individuales es alto y un país no alcanzará un estado libre de IBR dentro de un tiempo apropiado (Ackermann y Engels, 2006).

El sacrificio de animales seropositivos sin el empleo de vacunación ha sido el método más exitoso para erradicar el HVB – 1. Sin embargo, esto sólo puede ser considerado si la seroprevalencia es relativamente baja (Raaperi *et al.*, 2014), el cual no es el caso Colombiano. La decisión de las agencias gubernamentales de luchar contra el IBR siempre ha sido de suma importancia para el éxito de los programas (Ackermann y Engels, 2006). Para lograr la erradicación del HVB – 1, se recomienda inicialmente generar reproductores libres de IBR eliminando gradualmente todos los bovinos seropositivos y reemplazándolos por progenie seronegativa (Ackermann y Engels, 2006).

Tabla 1. Status de IBR en algunos países Europeos.

Países	Status Libre	Notificable	Medidas de Control
Austria	Si	Si	Qf; GSu; Qi; Sp; Vp.
Dinamarca	Si	Si	Qf; GSu; TSu; Vp.
Finlandia	Si	Si	Qf; Te; GSu; TSu; Sd; Vp.
Suecia	Si	Si	Qf; Te; GSu; S; Vp.
Suiza	Si	Si	GSu; TSu; Qi; S; Vp.
Noruega	Si	Si	Qf; GSu; TSu; Qi; Sd; Vp.
Alemania**	No	Si	Qf; GSu; TSu; Sd.
Italia*	No	Si	-----
Francia	No	No	Qf; M; Te; GSu; TSu; Qi; Z; V.
Irlanda	No	No	Gsu
Portugal	No	No	M.
España	No	Si	Qf; GSu.
Holanda	No	No	M; Te; Qi; V.
Bélgica	No	Si	Qf; M; Te; GSu; TSu; Qi; V.
Polonia	No	Si	M; TSu.
Lituania	No	Si	GSu; V.
Rumania	No	Si	Qf; M; GSu; Qi; Z.
Islandia	No	Si	Qf; GSu; Sd.

OIE, 2016 – 2017. Sistema mundial de información zoonosanitaria.

** Estados de Baviera y Turingia: libres de IBR.

*Distrito de Bolzano: libre de IBR.

Qf: precauciones en la frontera.

M: seguimiento

Te: tamizaje

GSu: Vigilancia de rutina

TSu: Vigilancia dirigida

Qi: restricción de los movimientos en el interior del país.

S: sacrificio sanitario

Sp: sacrificio sanitario parcial

Z: zonificación

Vp: vacunación prohibida

V: Vacunación oficial

Dentro de las exigencias para un estatus de "libre de IBR" en los países de la UE se restringe la importación de ganado de regiones endémicamente infectadas. Estas normas han motivado a varios países europeos a establecer programas de control y/o erradicación (Armengol *et al.*, 2017).

Los programas de control deben ser diseñados e implementados para prevenir la introducción y / o diseminación de los patógenos virales con especial atención a los periodos del ciclo de producción donde el ganado es más susceptible a las consecuencias de la enfermedad (Newcomer y Givens, 2016). Los programas de control y erradicación se basan principalmente en la prueba serológica y la eliminación de animales portadores (estrategia de "Testand") en países o regiones donde la prevalencia de HVB – 1 es baja, mientras que en lugares de alta prevalencia se emplea vacunas marcadoras en combinación con pruebas serológicas que diferencien animales vacunados de los infectados (Ackermann y Engels, 2006; Raaperi *et al.*, 2014). Sin embargo hay que tener en cuenta que ningún país que haya incluido la vacunación en un programa de erradicación de IBR ha tenido éxito (Ackermann y Engels, 2006).

El uso de vacunas marcadoras / DIVA (diferenciando las vacunas infectadas) junto con el sacrificio de animales seropositivos ha sido la principal estrategia de las campañas de control y erradicación, ya que permite diferenciar a los animales infectados de los vacunados (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016).

Se evaluó la aplicabilidad de gE ELISA para pruebas de leche individuales o en tanque como herramienta adicional en programas de control y de hatos que usan la vacunación. La detección diferencial de animales vacunados versus infectados con anticuerpos ELISA dirigidos a las proteínas gE o gB han demostrado ser herramientas útiles en programas de control y erradicación del herpesvirus bovino 1 (HVB – 1) (Tignon *et al.*, 2017).

El muestreo de leche en tanque representa un método rápido, fácil y no invasivo que puede reducir el costo del programa de vigilancia hasta un 50% en comparación con estrategias basadas en pruebas individuales de suero para lograr una sensibilidad de detección similar (Reber *et al.*, 2012). Este método se ha llevado a cabo en varios países europeos, entre ellos Alemania, Dinamarca, países bajos y Francia para la vigilancia serológica de HVB – 1 de hatos no vacunados no infectados (Forschner *et al.*, 1986) o para evaluar la prevalencia del virus en hatos lecheros (Tignon *et al.*, 2017). En países o regiones donde ya se ha logrado la erradicación de IBR, la vigilancia se puede realizar fácilmente mediante ELISA indirecta en muestras de leche en tanque. Desafortunadamente, si las muestras de tanque son probadas por la gE ELISA competitiva cuando la vacunación todavía está en

marcha, el diagnóstico del virus puede presentar sensibilidad limitada (Muratore *et al.*, 2017). En un trabajo reciente se planteó una estrategia para la vigilancia de IBR en rebaños vacunados basados en muestreos de leche en tanque, mediante un método de concentración y purificación de las inmunoglobulinas de la leche para posteriormente ser sometidas a una nueva prueba de ELISA indirecta basada en la reactividad contra gE HVB – 1 (Muratore *et al.*, 2017). El resultado de la prueba mostro una especificidad de 98% pero la sensibilidad estuvo estrictamente relacionada con la seroprevalencia en las vacas lactantes (Muratore *et al.*, 2017). Desafortunadamente, la concentración y purificación de las inmunoglobulinas en muestras de leche no se automatiza todavía requiriendo tiempo y personal especializado (Armengol *et al.*, 2017).

Los perfiles serológicos de los principales patógenos de la enfermedad del ganado son parte de cada programa general de vigilancia de la salud y se han convertido en esenciales para determinar el éxito de las campañas de control y erradicación; sin embargo se requiere de un conocimiento adecuado de la patogénesis de la enfermedad con el fin de llevar a cabo una interpretación coherente de los resultados de estas pruebas (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016). Muchos de los estudios serológicos llevados a cabo en el país para IBR y BVDV, dan cuenta de una alta prevalencia; ambas enfermedades no tiene declaración obligatoria y mucho menos programas de control oficial.

Dentro de un programa de erradicación y control se debe considerar una característica del virus de IBR y es su potencial capacidad para diseminarse a partir de un animal seropositivo, comparado con otros virus como el VDVB en donde una infección transitoria puede propagar la infección durante un breve periodo de tiempo de 1 - 2 semanas (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016).

Se han expresado varias preocupaciones con respecto a los esquemas de erradicación del HVB – 1 (Raaperi *et al.*, 2014). En un estudio, varios animales infectados latentemente resultaron seronegativos cuando se probaron repetidamente para anticuerpos en muestras de leche, lo que sugiere que los títulos de anticuerpos pueden disminuir por debajo de los límites detectables en ausencia de reactivación o reexposición, especialmente en los rebaños de baja prevalencia (Geraghty *et al.*, 2012). Por otro lado la posibilidad de recombinación entre la cepa vacunal y la cepa viral de campo es de constante preocupación; teniendo en cuenta que se han reportado recombinaciones que pueden ser patógenas para el ganado (Muylkens *et al.*, 2006). Aunque es posible la recombinación entre los virus latentes de tipo salvaje y virus con delección de gE, se considera que el riesgo es bajo en condiciones de campo (Raaperi *et al.*, 2014).

Hasta la fecha, el éxito de estos programas se ha visto obstaculizado por las limitaciones de las técnicas diagnósticas disponibles y por la reinfección de los rebaños libres de HVB – 1 (Raaperi *et al.*, 2014).

Los protocolos para el control de los rebaños "libres de IBR" varían según el país. En Bélgica, las muestras de sangre son examinadas dos veces al año, en Francia las muestras de leche en tanque son examinadas cada 6 meses, en Alemania las muestras de sangre son analizadas anualmente y las muestras de leche con más frecuencia, en los países bajos se evalúa mensualmente la leche en tanque y serología se hace dos veces al año en ganado de carne (Raaperi *et al.*, 2014).

En Europa muchos países han reportado nuevos brotes de IBR. En Islandia se reportó un brote en julio del año 2012, en junio de 2009 se confirmó un brote en Suiza en rebaños lecheros, en septiembre de 2005 se produjo un brote en Dinamarca y en Austria se reportaron brotes en los años 2001, 2007 y 2008 (Raaperi *et al.*, 2014).

Dentro de las estrategias de prevención en zonas libres de IBR o zonas o donde se esté implementando un programa de erradicación se debe tener en cuenta el papel de las biotecnologías de la reproducción como fuente de transmisión del virus. El HVB – 1 tiene la capacidad de adherirse a los espermatozoides y a la zona pelucida de los embriones, diseminándose mediante la inseminación artificial y la transferencia de embriones (Bielanski *et al.*, 2013). En un estudio se demostró que el tratamiento con tripsina recombinante bovina (RBTr) desinfectaba la zona pelúcida de los embriones fertilizados *in vivo* e *in vitro* contaminados con el BoHV-1 previniendo la transmisión de la enfermedad a las futuras receptoras y sus crías (Bielanski *et al.*, 2013).

Lo que sí está claro, es que los países libres de IBR están en peligro siempre que la erradicación del virus no sea un objetivo común dentro de los países que participan en el comercio mutuo de ganado y en la producción de semen para la inseminación artificial (Ackermann y Engels, 2006). Sugerencias como la de fortalecer el sistema de base de datos en donde se agrupen cepas diferentes de HVB – 1 basados en patrones de enzimas de restricción a fin de crear una herramienta aplicable para rastrear los orígenes de nuevos brotes de IBR en Europa, deben de ser tomadas en cuenta y juntar esfuerzos para materializarlas (Ackermann y Engels, 2006).

6.9 Historia y Situación de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Colombia.

En Colombia, se han realizado diferentes estudios seroepidemiológicos, que han demostrado un alto impacto económico, además se ha obtenido el aislamiento de algunas cepas nativas a comienzos de los años 70 (CIAT, 1972); que continuaron en los años 90 a partir de muestras procedentes de los Llanos orientales (Molano *et al.*, 1996); más recientemente se aisló una cepa en la Sabana de Bogotá en 2001 (Piedrahita *et al.*, 2005). Estas dos últimas han sido sujeto de caracterización molecular por el Grupo de Microbiología y Epidemiología de la Universidad Nacional, clasificando los aislamientos como HVB-1.1 a la cepa de los Llanos orientales y HVB-1.2a para la cepa de la sabana de Bogotá (Piedrahita *et al.*, 2005). Muchos de estos estudios realizados en diferentes regiones de Colombia provienen de vacas principalmente en zonas lecheras; sin embargo estudios de muestras de semen provenientes de toros posiblemente infectados han sido pocos (Peña Joya *et al.*, 2011). Concomitantemente, en toros del Urabá Antioqueño se reportó una prevalencia de 67,6% (Zúñiga *et al.*, 1977). En otro estudio en 11 toros de razas lechera de la sabana de Bogotá, la seropositividad fue del 15.3%, entretanto la coinfección de IBR/DVB fue de 17% (Góngora *et al.*, 1995b). Se podría decir que la coinfección de varios agentes etiológicos en un mismo hato e incluso en el mismo animal es una situación común en nuestro país (Peña Joya *et al.*, 2011).

Un total de 4,230 muestras provenientes de diferentes partes del país, se evaluaron mediante ELISA, resultando en una seropositividad de 37.4% para IBR; observándose que los departamentos de Santander y Cesar eran de donde más provenían muestras positivas con un 72% y los de menor seropositividad la zona del Magdalena (58,4%) (Peña Joya *et al.*, 2011). Se puede inferir que las diferencias en estos resultados se dan principalmente por las características de las ganaderías en cada región; podríamos decir que los departamentos de Vichada, Casanare y parte del Meta tendrían un comportamiento similar al de Santander y Cesar debido a que prima por tradición cultural un pobre manejo sanitario en los hatos.

Un perfil serológico realizado en varios municipios en el Valle del Cauca en donde se evaluaron un total de 207 toros, dio como resultado una seropositividad de 73.3% y 75% en el primer y segundo muestreo respectivamente (Peña Joya *et al.*, 2011). Se hallaron animales seropositivos en 32 de las 33 fincas muestreadas (Díaz, 2000; Peña Joya *et al.*, 2011), siendo la introducción de animales sin la respectiva cuarentena una posible explicación de estos resultados. El hecho de que algunos de los

toros incluidos en los estudios fueron donantes de semen, sugiere una importante fuente de difusión de la enfermedad por esta vía (Peña Joya *et al.*, 2011).

Por otro lado un estudio seroepidemiológico de IBR en 150 muestras de vacas de 32 fincas en Montería (Córdoba) y 20 toros reveló una seroprevalencia global de 74,4%, siendo la seropositividad en los toros hasta del 95% (Betancur H *et al.*, 2006). En la región del Magdalena Medio se reportó una seroprevalencia de 92,5% (Camacho *et al.*, 2015) para IBR sobre 174 toros evaluados, además se evidenció una posible susceptibilidad de la subespecie *Bos indicus* a la infección por este virus.

Una evaluación de 316 muestras de 6 fincas de los departamentos de Antioquia y Valle del Cauca que utilizaron la prueba de neutralización viral reveló una seroprevalencia del 100% para las explotaciones ganaderas, mientras que la prevalencia general para individuos fue del 75,63% (Ruiz-Saenz *et al.*, 2010); la prevalencia para las explotaciones ganaderas de Antioquia y Valle del Cauca fue de 85,51% y 69,84%, respectivamente (Ruiz-Saenz *et al.*, 2010).

Investigadores de la Universidad Nacional han encaminado los esfuerzos en caracterizar molecularmente las cepas del virus; aislando en la sabana de Bogotá el subtipo HVB – 1 2b asociado con formas clínicas de baja virulencia (Góngora *et al.*, 1995a). Sin embargo estudios posteriores demostraron que esta cepa aislada en la Sabana de Bogotá era de alta patogenicidad contradiciendo la baja virulencia reportada (Peña Joya *et al.*, 2011). En el departamento del Meta un aislamiento se clasificó como HVB – 1.1 (Chaparro *et al.*, 2002; Peña Joya *et al.*, 2011).

Más recientemente en la altillanura colombiana se realizó un estudio en el que se evaluaron en total 488 muestras mediante seroneutralización, en busca de anticuerpos contra HVB – 1 y HVB – 5 evidenciándose la presencia de anticuerpos neutralizantes en el 87% (425/488) contra HVB; de estos sueros positivos, el 84% (410/488) presentaron anticuerpos para HVB – 1 y el 60% (297/488) anticuerpos para HVB – 5, encontrándose reactividad para los dos virus en un mismo suero en el 57.7% de las muestras (Vargas B *et al.*, 2016). En cuanto a la evidencia de anticuerpos neutralizantes específicos para HVB – 1 se encontró 26% y para HVB – 5 un 3%. (15/488). La prueba de seroneutralización viral mostró una sensibilidad de 96.4% para HVB – 1 y del 88% para HVB – 5 con una especificidad de 83.5% y de 85% respectivamente (Vargas B *et al.*, 2016).

En reciente estudio se reportó una prevalencia para HVB – 1 en hatos lecheros en San Pedro de los Milagros, Antioquia de 31,1% (Ramírez Vásquez *et al.*, 2016) la cual contrasta con la reportada en otros trabajos de 94% en el Caquetá (Motta Giraldo *et al.*, 2013), 74.4% en Montería (Betancur H *et*

al., 2006), 55.5% en la región del Magdalena Medio (Piedrahita *et al.*, 2010), 69,8% en Boyacá (Ochoa *et al.*, 2012), y 85,5% en Antioquia (Ruiz-Saenz *et al.*, 2010). La menor seroprevalencia para IBR reportada en los estudio realizados en Colombia fue de 17,6% en el municipio de Pasto (Cedeño Quevedo *et al.*, 2011). Tabla 2.

Tabla 2. Principales estudios Serológicos para IBR en Colombia.

Región	Prevalencia (%)	Referencia
Llanos Orientales	19,5	CIAT/ 74-75
Caquetá	29/5	CIAT/74-75
Costa Atlántica	13,5	CIAT/74-75
Ubaté	28,3	CIAT/75-76
Urabá	67,6	Zúñiga <i>et al.</i> , 1977
Antioquia	32,5	Ossa <i>et al.</i> , 1982
Región Caribe	52,1	Griffiths <i>et al.</i> , 1982
Región Andina	17,8	
Piedemonte Llanero	20,5	
Córdoba	31,9	Proyecto Colombo-Alemán ICA-GTZ, 1989
Antioquia (BON)	11,5	Rodas <i>et al.</i> , 1996
Sabana de Bogotá	12	Parra U. Nal/ 1992
Sabana de Bogotá	15,3	Góngora <i>et al.</i> , 1995
Llanos Orientales	10	Otte <i>et al.</i> , 1995
Cesar, Bolívar / Santanderes	61	Sierra ICA/1998
Valle del Cauca/ Región Central	73,4	Díaz U. Nal/2000
Montería	74,4	Betancur <i>et al.</i> , 2006
Antioquia	85,51	Ruiz-Sáenz <i>et al.</i> , 2010
Valle del Cauca	69,84	
Magdalena Medio	55,5	Piedrahita <i>et al.</i> , 2010
Pasto	17,6	Cedeño Quevedo <i>et al.</i> , 2011
Boyacá	69,8	Ochoa <i>et al.</i> , 2012
Caquetá	94%	Motta Giraldo <i>et al.</i> , 2013
Magdalena Medio	92,5	Camacho <i>et al.</i> , 2015
Altillanura Colombiana	84%	Vargas B <i>et al.</i> , 2016
San Pedro de los Milagros, Antioquia	31,1	Ramírez Vásquez <i>et al.</i> , 2016

Fuente: Modificado de Vera *et al.*, 2006.

Diferentes estudios realizados en Colombia han aportado al conocimiento del HVB – 1 junto con otros agentes virales. Recientemente se evaluó la utilidad del PCR para detectar Herpesvirus Bovino 1 (HVB – 1), virus de la diarrea Viral Bovina tipos 1 y 2 (VDVB – 1 y VDVB – 2), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Virus de la Estomatitis Vesicular (VSV), Virus de la Parainfluenza Bovina

tipo 3 (BPIV-3) y Mycoplasma, en suero fetal bovino (PBS MICROGEN®), un sustrato ampliamente utilizado en los cultivos celulares (Cordero Camacho *et al.*, 2011). Como resultado no se detectó la presencia de virus bovinos patógenos o Mycoplasma en el suero fetal bovino evaluado (MICROGEN®), además se sugiere que esta técnica puede ser incluida en el análisis de control de calidad de este producto. La importancia de estos resultados radica en visualizar estrategias para prevenir la diseminación de agentes virales por este medio.

Por otra parte, se han caracterizado 18 aislamientos de HVB – 1 obtenidos de diferentes sistemas de producción de ganado en el país, encontrando diferencias en el comportamiento del crecimiento del virus *in vitro* en células MDBK, siendo las cepas aisladas en Córdoba y Medellín las más virulentas y el aislamiento de Cali el de más bajos títulos virales. No se encontraron diferencias entre los diferentes aislamientos en cuanto a los principales epítomos virales inmunodominantes de las glicoproteínas, lo que confirma el alto grado de homología entre todos los aislamientos, siendo en su mayoría nominados como HVB – 1.1 (Ruiz-Saenz *et al.*, 2012).

En el mismo año se desarrolló a partir de un poxvirus de mapaches que expresa la gD del HVB – 1, un virus recombinante con un amplio potencial y capacidad inmunogénica contra el HVB – 1 (Ruiz Sáenz *et al.*, 2012). En la misma línea de trabajo, se desarrolló una vacuna inactivada a partir de una cepa nativa (Cordoba-2) de HVB – 1.1 siendo probada en un modelo de infección en conejos, los cuales fueron sometidos posteriormente a la inoculación del virus de campo de alta virulencia obteniendo resultados positivos con un buen potencial inmunogenico (Ruiz-Sáenz *et al.*, 2013).

Todos estos trabajos sientan las bases para posteriores estudios que lleven a generar modelos de vacunación con vacunas propias que sean pertinentes con los virus circulantes en la ganadería del país. Las altas prevalencias reportadas en los diferentes estudios, permite pensar que la vacunación es una estrategia viable para disminuir la diseminación del virus, principalmente por reactivaciones virales, disminuyendo el impacto económico negativo en la ganadería.

7. Conclusiones

La Rinotraquitis Infecciosa Bovina es una enfermedad viral diseminada a nivel mundial, con una historia de más de 60 años en Colombia. Su agente etiológico, el HVB – 1 ha sido objeto de innumerables trabajos en todo el mundo, conocimiento que aparece visible en diferentes bases de datos y que está disponible para nuevos estudios que permitan seguir descifrando los enigmas de

este complejo virus. La presente monografía recoge los estudios, más relevantes a nivel mundial, además de los avances realizados en el país, a pesar del reconocido impacto económico que ocasiona a la ganadería nacional, todavía la enfermedad no es de notificación obligatoria, ni existen programas oficiales de control.

En Colombia se han llevado a cabo diferentes estudios de seroprevalencia del HVB – 1 que varían entre 20 a 90%, lo que sugiere una presentación endémica de la enfermedad. Estos resultados muestran la eminente presencia del virus en el país y al mismo tiempo las dificultades que se tienen al momento de determinar seroprevalencia exactas en lugares donde este está presente. Los diversos trabajos se han ejecutado sobre animales sin historial de vacunación, por lo tanto podemos inferir que estas prevalencias son respuesta a cepas virales de campo.

Investigadores junto con entidades públicas, principalmente las universidades han enfocado esfuerzos que han aportado positivamente al conocimiento del virus en aspectos como diagnóstico, caracterización de cepas de campo en nuestro medio y posibles modelos de vacunas. Sin embargo aún quedan vacíos respecto al control y una posible erradicación a futuro.

A pesar de la importancia que tienen las pruebas serológicas para determinar la presencia de anticuerpos frente a un patógeno determinado, es necesario el empleo de pruebas moleculares como la PCR, que permite la detección del genoma viral mediante la amplificación de fragmentos específicos de cada uno de los virus para determinar con precisión que virus está actuando.

Además es un gran reto para los investigadores el diseño y estandarización de nuevas pruebas diagnósticas que respondan a los desafíos de la constante evolución del virus generado por la interacción con el hospedero en la infección natural y con otros virus estableciendo coinfecciones; además del uso de vacunas que complica obtener un perfil serológico de anticuerpos virales y el posterior análisis epidemiológico del hato. Sumado a lo anterior se debe tener bien presente la capacidad del HVB – 1 y en general de los herpesvirus de establecer latencia una vez ingresa al hospedero; siendo esta la principal característica biológica que le permite a este virus permanecer de por vida en las ganaderías causando permanentes pérdidas económicas.

En el futuro, será necesario desarrollar políticas encaminadas a la producción de vacunas contra HVB – 1 no abortivas, que no generen latencia y que otorguen inmunidad permanente, protegiendo a la vaca y al mismo tiempo al feto. Igualmente estudios posteriores deberían centrarse en realizar evaluaciones económicas de los beneficios (menos pérdidas por la enfermedad) y de los costos

(diagnóstico y eliminación) de los programas potenciales de erradicación del virus en la ganadería colombiana.

El poder demostrar una alta relación costo-beneficio sería una motivación para alentar a los diferentes actores de la industria ganadera a coordinar una campaña que controle la continua diseminación del virus. Para esto sería pertinente llevar a cabo estudios que comparen variables económicas de hatos que empleen un plan preventivo junto con vacunación, de aquellos que no implementan ninguna medida de control contra el HVB – 1, permitiendo evaluar el papel real de la infección en la salud del hato. Se debe tener presente que la erradicación con los altos niveles de prevalencia tendría un alto costo; dado que la detección y sacrificio de animales portadores sanos es inevitable en el proceso.

Los resultados de los estudios serológicos realizados en Colombia citados a lo largo de este documento muestran la alta prevalencia a HVB – 1 que hay en nuestro país; sin embargo, a pesar de ello la IBR no es una enfermedad de reporte obligatorio ante el ICA, ni mucho menos existe un programa de control oficial establecido contra el virus. Esta tarea debería ser el paso inicial hacia el camino de una posible erradicación en un futuro no muy lejano.

La alta seroprevalencia hace inviable el uso de estrategia como el descarte de animales infectados, que han sido exitosos en algunos países europeos con baja prevalencia. Por lo tanto uno de los primeros objetivos debe ser el de disminuir esta alta seroprevalencia y una herramienta eficaz para lograrlo podría ser el uso de vacunas marcadoras, principalmente cepas con delección de la glicoproteína E.

La creación de estas vacunas ha sido objeto de estudio de investigadores colombianos recogiendo insumos para generar vacunas marcadoras a partir de cepas de campo presentes en nuestra ganadería. El sistema debe ir acompañado de técnicas serológicas con capacidad de detección de la gE. Además se hace necesario desarrollar un sistema eficiente de aislamiento y caracterización de cepas virales.

Las dificultades en cuanto a medidas de control se deben en gran parte a deficiencias en la ejecución de planes sanitarios que lleven a mitigar la diseminación del virus. Las diferentes entidades de vigilancia deben tener en cuenta que diversas estrategias para llevar a cabo un programa de control no están al alcance de la mayoría de los ganaderos ya sea por razón económica o desconocimiento; por ejemplo, el hecho de introducir animales nuevos con un previo perfil sanitario, se hace necesario

el uso de pruebas diagnósticas. Por consiguiente es de vital importancia que autoridades sanitarias junto con una política de estado destinen esfuerzos y recursos de presupuesto para la ejecución de medidas sanitarias de control que sean eficaces. La experiencia en otros países ha demostrado que el grado de compromiso de las entidades gubernamentales en un programa de erradicación es determinante. Lo anterior debe ir acompañado de proyectos de educación al campesino, en donde se le explique con claridad los beneficios de un hato libre de IBR; además debe integrar a todas las partes implicadas en el proceso, incluyendo asociaciones y comités ganaderos regionales que a su vez incentiven al productor a asumir un papel importante como principales damnificados por las pérdidas económicas asociadas al virus.

Sin embargo, para que estas prácticas sean eficientes, tendrían que aplicarse de manera sistemática y continua a nivel regional y nacional, y no sólo en hatos aislados; adicionalmente se debe contemplar a igual las ventajas y desventajas de la erradicación, tomando la información disponible y generar nuevas herramientas así como mejorar las ya existentes.

8. Bibliografía

1. Ackermann M., Engels M. 2006. Pro and contra IBR-eradication. *Vet. Microbiol.* 113: 293-302.
2. Arenas N.M., Moreno F.G. 2015. Rinotraquitis Infecciosa Bovina en Colombia. *Referencias para Consultorio MV.* 40: 8-11.
3. Armengol R., Villalba D., Coma E., Porquet L., Jubert A., Nogareda C. 2017. Prevalence of individual and bulk tank milk antibodies of bovine herpesvirus type 1 and its relation to milk quality parameters on dairy farms in Catalonia (north-east Spain). *Vet. Rec. Open.* 4: e000203.
4. Barkema H.W., Green M.J., Bradley A.J., Zadoks R.N. 2009. Invited review: The role of contagious disease in udder health. *J. Dairy Sci.* 92: 4717-4729.
5. Beer M., König P., Schielke G., Trapp S. 2003. Marker diagnostic for the eradication of bovine herpesvirus type 1: Possibilities and limitations. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 116: 183-91.

6. Bertolotti L., Muratore E., Nogarol C., Caruso C., Lucchese L., Profiti M., Anfossi L., Masoero L., Nardelli S., Rosati S. 2015. Development and validation of an indirect ELISA as a confirmatory test for surveillance of infectious bovine rhinotracheitis in vaccinated herds. *BMC Vet. Res.* 11: 300.
7. Betancur H C., González T M., Reza G. L. 2006. Seroepidemiología de la rinotraqueitis infecciosa bovina en el municipio de Montería, Colombia. *Rev. MVZ Córdoba.* 11: 830-836.
8. Bielanski A., Algire J., Lalonde A., Garceac A. 2013. Prevention of bovine herpesvirus-1 transmission by the transfer of embryos disinfected with recombinant bovine trypsin. *Theriogenology.* 80: 1104-1108.
9. Boelaert F., Speybroeck N., Kruif A.d., Aerts M., Burzykowski T., Molenberghs G., Berkvens D.L. 2005. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. *Prev. Vet. Med.* 69: 285-295.
10. Brower A., Homb K.M., Bochsler P., Porter R., Woods K., Ubl S., Krueger D., Cigel F., Toohey-Kurth K. 2008. Encephalitis in aborted bovine fetuses associated with Bovine herpesvirus 1 infection. *J Vet Diagn Invest.* 20: 297-303.
11. Camacho R., Carvajal L.Y., Castellanos-Dominguez Y.Z., Díaz W.F., Vásquez M.C. 2015. Presence of IgG antibodies against reproductive infections in breeding bulls of Magdalena Medio, Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 28: 323-330.
12. Campos F.S., Franco A.C., Hübner S.O., Oliveira M.T., Silva A.D., Esteves P.A., Roehe P.M., Rijsewijk F.A.M. 2009. High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Vet. Microbiol.* 139: 67-73.
13. Cedeño Quevedo D., Benavides B., Cárdenas G., Herrera C. 2011. Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de BHV-1 y DVB en hatos lecheros en Pasto, Colombia, en el 2011. *Rev. Lasallista Investig.* 8: 61-68.
14. CIAT - Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1972 - 1975. Informe anual de salud animal; Bogotá.
15. Cordero Camacho C.P., Escobar Mármol L., Carrillo Borda E.F., Morantes Medina S.J., Aristizábal Gutiérrez F.A. 2011. Detection of seven viruses and Mycoplasma in fetal bovine serum by real time PCR. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 24: 585-597.
16. Crane C.S., Lukas G.N., Watkins W.W. 1964. Infectious Bovine Rhinotracheitis abortion in California beef cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 144: 13-8.

17. Cuddington B.P., Mossman K.L. 2015. Oncolytic bovine herpesvirus type 1 as a broad spectrum cancer therapeutic. *Curr Opin Virol.* 13: 11-16.
18. Chaparro J., Ramírez G., Vera V., Góngora A., Villamil L. 2002. Aislamiento de una cepa de campo del virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina de una explotación de ganado de carne en el Departamento del Meta. *Orinoquía.* 6: 100-107.
19. Chase C.C.L., Fulton R.W., O'Toole D., Gillette B., Daly R.F., Perry G., Clement T. 2017. Bovine herpesvirus 1 modified live virus vaccines for cattle reproduction: Balancing protection with undesired effects. *Vet. Microbiol.* 206: 69-77.
20. Díaz F. 2000. Reactividad serológica y aspectos epidemiológicos para Rinotraqueítis Bovina Infecciosa (IBR) mediante la prueba de seroneutralización viral en toros reproductores de la región central del departamento del Valle del Cauca. [Tesis de Maestría]. Bogotá: Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.
21. Dias J.A., Alfieri A.A., Ferreira-Neto J.S., Gonçalves V.S.P., Muller E.E. 2013. Seroprevalence and Risk Factors of Bovine Herpesvirus 1 Infection in Cattle Herds in the State of Paraná, Brazil. *Transbound Emerg Dis.* 60: 39-47.
22. Eaglesome M.D., Garcia M.M. 1997. Disease risks to animal health from artificial insemination with bovine semen. *Rev sci Tech.* 16: 215-25.
23. Favier P.A., Marin M.S., Morán P.E., Odeón A.C., Verna A.E., Pérez S.E. 2014. Latency of bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) in tonsils and peripheral blood leukocytes. *Vet. J.* 202: 134-140.
24. Forschner E., Bungler I., Kuttler D., Mehrkens L. 1986. IBR/IPV serodiagnosis with ELISA methods in blood, single milk and bulk milk samples; control measures for maintaining normal cattle herds; eradication measures with reference to vaccination. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift.* 93: 328-35.
25. Frizzo da Silva L. 2012. Bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) regulates the innate immune system to promote productive infection and latency. ETD collection for University of Nebraska - Lincoln. *AAI3503429.*
26. Fulton R.W., d'Offay J.M., Eberle R., Moeller R.B., Campen H.V., O'Toole D., Chase C., Miller M.M., Sprowls R., Nydam D.V. 2015. Bovine herpesvirus-1: evaluation of genetic diversity of subtypes derived from field strains of varied clinical syndromes and their relationship to vaccine strains. *Vaccine.* 33: 549-58.

27. Fulton R.W., d'Offay J.M., Dubovi E.J., Eberle R. 2016. Bovine herpesvirus-1: Genetic diversity of field strains from cattle with respiratory disease, genital, fetal disease and systemic neonatal disease and their relationship to vaccine strains. *Virus Res.* 223: 115-121.
28. Fulton R.W., d'Offay J.M., Eberle R. 2013. Bovine herpesvirus-1: Comparison and differentiation of vaccine and field strains based on genomic sequence variation. *Vaccine.* 31: 1471-1479.
29. Geraghty T., O'Neill R., More S.J., O'Grady L. 2012. Dynamics of individual animal Bovine Herpes Virus-1 antibody status on 9 commercial dairy herds. *Res Vet Sci.* 93: 143-149.
30. Góngora A., Villamil L.C., Vera V.J., Parra J.L., Ramírez G., López G. 1995a. Aislamiento de un herpes virus bovino tipo-1 (hvb-1) de secreción nasal y esmegma prepucial en un toro reproductor. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 43: 43-60.
31. Góngora A., Villamil L.C., Vera V.J., Ramírez G.C., Parra J.L. 1995b. Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de la sabana de Bogotá. Énfasis en rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB). *Rev. Med. Vet. Zoot.* 43: 37-42.
32. González-García M.A., Maldonado J.L., Gómez-Pacheco J.M., Arenas-Casas A., Carbonero-Martínez A., Borges-Rodríguez C., García Bocanegra I., Perea-Remujo J.A. 2009. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus type 1 (BHV1) infection in non-vaccinated cattle herds in Andalusia (South of Spain). *Span. J. Agric. Res.* 7: 550-554.
33. Graham D.A. 2013. Bovine herpes virus-1 (BoHV-1) in cattle—a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Ir Vet J.* 66: 15.
34. Hulyanych M., Nedosekov V., Sobko Y. 2016. Determination of Cultural Conditions of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Strain "BM". *Ann Agrar Sci.* 14: 201-204.
35. Jones C., Chowdhury S. 2010. Bovine Herpesvirus Type 1 (BHV-1) is an Important Cofactor in the Bovine Respiratory Disease Complex. *Vet Clin Food Anim.* 26: 303-321.
36. Kaashoek M.J., Van Engelenburg F.A.C., Moerman A., Gielkens A.L.J., Rijsewijk F.A.M., van Oirschot J.T. 1996. Virulence and immunogenicity in calves of thymidine kinase- and glycoprotein E-negative bovine herpesvirus 1 mutants. *Vet. Microbiol.* 48: 143-153.
37. Kendrick J.W., McEntee K. 1967. The effect of artificial insemination with semen contaminated with IBR-IPV virus. *Cornell Vet.* 57: 3-11.

38. Kennedy P.C., Richards W.P.C. 1964. The Pathology of Abortion Caused by the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis. *Vet Pathol.* 1: 7-17.
39. Kupferschmid H.U., Kihm U., Bachmann P., Müller K.H., Ackermann M. 1986. Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen: A case report. *Theriogenology.* 25: 439-43.
40. Kutish G., Mainprize T., Rock D. 1990. Characterization of the latency-related transcriptionally active region of the bovine herpesvirus 1 genome. *J Virol.* 64: 5730-7.
41. Mahajan V., Banga H.S., Deka D., Filia G., Gupta A. 2013. Comparison of Diagnostic Tests for Diagnosis of Infectious Bovine Rhinotracheitis in Natural Cases of Bovine Abortion. *J. Comp. Path.* 149: 391-401.
42. Marin M.S., Leunda M.R., Verna A.E., Morán P.E., Odeón A.C., Pérez S.E. 2016. Distribution of bovine herpesvirus type 1 in the nervous system of experimentally infected calves. *Vet J.* 209: 82-86.
43. Meurens F., Schynts F., Keil G.M., Muylkens B., Vanderplasschen A., Gallego P., Thiry E. 2004. Superinfection prevents recombination of the alphaherpesvirus bovine herpesvirus 1. *J. Virol.* 78: 3872-3879.
44. Miller N.J. 1955. Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle. *JAVMA.* 126: 463-7.
45. Molano D., Rodríguez J., Ramírez G., Villamil L. 1996. Caracterización electroforética e inmunológica de una cepa de campo del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y su comparación con cepas de referencia. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 44: 35-38.
46. Molina V., Rivalde M.A., Sánchez-Cordón P.J., Pedrera M., Romero-Palomo F., Luzzago C., Gómez-Villamandos J.C. 2013. Effect of infection with BHV-1 on peripheral blood leukocytes and lymphocyte subpopulations in calves with subclinical BVD. *Res Vet Sci.* 95: 115-122.
47. Motta Giraldo J.L., Waltero García I., Abeledo M.A. 2013. Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina, Herpesvirus bovino 1 y Herpesvirus bovino 4 en bovinos y búfalos en el Departamento de Caquetá, Colombia. *Rev. Salud Anim.* 35: 174-181.
48. Muratore E., Bertolotti L., Nogarol C., Caruso C., Lucchese L., Iotti B., Ariello D., Moresco A., Masoero L., Nardelli S., Rosati S. 2017. Surveillance of Infectious Bovine Rhinotracheitis in marker-vaccinated dairy herds: Application of a recombinant gE ELISA on bulk milk samples. *Vet Immunol Immunopathol.* 185: 1-6.

49. Muylkens B., Meurens F., Schynts F., Farnir F., Pourchet A., Bardiau M., Gogev S., Thiry J., Cuisenaire A., Vanderplasschen A., Thiry E. 2006. Intraspecific bovine herpesvirus 1 recombinants carrying glycoprotein E deletion as a vaccine marker are virulent in cattle. *J Gen Virol.* 87: 2149-2154.
50. Muylkens B., Thiry J., Kirten P., Schynts F., Thiry E. 2007. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Res.* 38: 181-209.
51. Nandi S., Kumar M., Manohar M., Chauhan R.S. 2009. Bovine herpes virus infections in cattle. *Anim. Health Res Rev.* 10: 85-98.
52. Narita M., Kimura K., Tanimura N., Arai S., Tsuboi T., Katsuda K. 2000. Immunohistochemical Characterization of Calf Pneumonia Produced by the Combined Endobronchial Administration of Bovine Herpesvirus 1 and *Pasteurella haemolytica*. *J. Comp. Path.* 123: 126-134.
53. Newcomer B.W., Givens D. 2016. Diagnosis and Control of Viral Diseases of Reproductive Importance: Infectious Bovine Rhinotracheitis and Bovine Viral Diarrhea. *Vet Clin Food Anim.* 32: 425-441.
54. Nuotio L., Neuvonen E., Hyytiäinen M. 2007. Epidemiology and eradication of infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus in Finland. *Acta Vet Scand.* 49: 3.
55. Ochoa X., Orbegozo M., Manrique-Abril F., Pulido M M., Ospina J. 2012. Seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en hatos lecheros de Toca - Boyacá. *Rev. MVZ Córdoba.* 17: 2974-2982.
56. Oliveira M.T., Campos F.S., Dias M.M., Velho F.A., Freneau G.E., Brito W.M.E.D., Rijsewijk F.A.M., Franco A.C., Roehe P.M. 2011. Detection of bovine herpesvirus 1 and 5 in semen from Brazilian bulls. *Theriogenology.* 75: 1139-1145.
57. Parsonson I.M., Snowdon W.A. 1975. The effect of natural and artificial breeding using bulls infected with, or semen contaminated with, infectious bovine rhinotracheitis virus. *Austral Vet J.* 51: 365-9.
58. Patel J.R. 2005. Characteristics of live bovine herpesvirus-1 vaccines. *Vet J.* 169: 404-416.
59. Peña Joya M.A., Góngora A., Jiménez C. 2011. Infectious agents affecting fertility of bulls, and transmission risk through semen: Retrospective analysis of their sanitary status in Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 24: 623-633.

60. Piedrahita D., Ramirez G., Vera V. 2005. Detección y caracterización por métodos moleculares de aislamientos colombianos de herpesvirus bovino tipo 1. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 52: 120-127.
61. Piedrahita L.E., Montoya L.M., Pedraza F.J. 2010. 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.* 23: 191-198.
62. Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Carter, M.E.; Donnelly, W.J.C.; Leonard, F.C. 2005. *Microbiología y Enfermedades Infecciosas Veterinarias.* Acribia, S.A. España. Pag. 387-400.
63. Raaperi K., Nurmoja I., Orro T., Viltrop A. 2010. Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds. *Prev Vet Med.* 96: 74-81.
64. Raaperi K., Orro T., Viltrop A. 2014. Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *Vet J.* 201: 249-256.
65. Raaperi K., Orro T., Viltrop A. 2015. Effect of vaccination against bovine herpesvirus 1 with inactivated gE-negative marker vaccines on the health of dairy cattle herds. *Prev Vet Med.* 118: 467-476.
66. Ramírez Vásquez N.F., Villar Argáiz D., Fernández Silva J.A., Londoño Pino J., Chaparro Gutiérrez J.J., Olivera Ángel M.E. 2016. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. *Rev CES Med Zootec.* 11: 15-25.
67. Reber A., Reist M., Schwermer H. 2012. Cost-effectiveness of bulk-tank milk testing for surveys to demonstrate freedom from infectious bovine rhinotracheitis and bovine enzootic leucosis in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 154: 189-97.
68. Rissi D.R., Pierezan F., Silva M.S.e., Flores E.F., de Barros C.S.L. 2008. Neurological Disease in Cattle in Southern Brazil Associated with Bovine Herpesvirus Infection. *J Vet Diagn Invest.* 20: 346-349.
69. Rock D., Lokensgard J., Lewis T., Kutish G. 1992. Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent bovine herpesvirus 1. *J Virol.* 66: 2484-90.
70. Ruiz, A. 1977. Complejo Rinotraqueitis infecciosa bovina, Vulvovaginitis postular infecciosa. *Enfermedades de los Bovinos.* Dirección general de ganadería sub programa de Sanidad Animal. Santo Domingo. República Dominicana.

71. Ruiz-Saenz J., Jaime J., Ramirez G., Vera V. 2012. Molecular and in vitro characterization of field isolates of bovine herpesvirus-1. *Viol. Sin.* 27: 26-37.
72. Ruiz-Saenz J., Jaime J., Vera V. 2009. Vacunas contra el herpesvirus bovino-1: Una mirada desde el pasado hacia el futuro de la inmunización. *Acta biol. Colomb.* 14: 3-20.
73. Ruiz-Sáenz J., Jaime J., Vera V. 2013. An inactivated vaccine from a field strain of bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) has high antigenic mass and induces strong efficacy in a rabbit model. *Viol. Sin.* 28: 36-42.
74. Ruiz-Saenz J., Jaime J., Víctor J., Vera V. 2010. Prevalencia serológica y aislamiento del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) en hatos ganaderos de Antioquia y del Valle del Cauca. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 23: 299-307.
75. Ruiz J., Jaime J., Vera V. 2008. Latencia Del Herpesvirus Bovino-1: El Papel De Los Transcritos Relacionados Con Latencia (RI). *Acta biol. Colomb.* 13: 3-22.
76. Ruiz Sáenz J., Osorio J.E., Vera V.J. 2012. Desarrollo De Un Poxvirus Recombinante Que Expresa La Glicoproteína D Del Herpesvirus Bovino-1. *Acta biol. Colomb.* 17: 14.
77. Saravanajayam M., Kumanan K., Balasubramaniam A. 2015. Seroepidemiology of infectious bovine rhinotracheitis infection in unvaccinated cattle. *Vet World.* 8: 1416-1419.
78. Schroeder R.J., Moys M.D. 1954. An acute upper respiratory infection of dairy cattle. *JAVMA.* 125: 471-2.
79. Segura-Correa J.C., Zapata-Campos C.C., Jasso-Obregón J.O., Martinez-Burnes J., López-Zavala R. 2016. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in North-Eastern Mexico. *Open Vet. J.* 6: 143-149.
80. Silva M.S., Brum M.C.S., Loreto E.L.S., Weiblen R., Flores E.F. 2007. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. *Virus Res.* 129: 191-199.
81. Straub O.C. 1975. Infectious bovine rhinotracheitis virus. History and recent developments. *Developments in biological standardization.* 28: 530-533.
82. Straub O.C. 2001. Advances in BHV1 (IBR) research. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift.* 108: 419-422.

83. Strube W., Auer S., Block W., Heinen E., Kretzdorn D., Rodenbach C., Schmeer N. 1996. A gE deleted infectious bovine rhinotracheitis marker vaccine for use in improved bovine herpesvirus 1 control programs. *Vet. Microbiol.* 53: 181-189.
84. Thiry E., Muylkens B., Meurens F., Gogev S., Thiry J., Vanderplasschen A., Schynts F. 2006. Recombination in the alphaherpesvirus bovine herpesvirus 1. *Vet. Microbiol.* 113: 171-177.
85. Tignon M., De Baere M., Hanon J.-B., Goolaerts A., Houtain J.-Y., Delooz L., Cay A.B. 2017. Characterization of three commercial ELISA kits for detection of BOHV-1 gE specific antibodies in serum and milk samples and applicability of bulk milk for determination of herd status. *J Virol Methods.* 245: 66-72.
86. Trapp S., König P., Beer M. 2003. Conventional and marked BHV-1 vaccines in Germany: a brief review. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 116: 208-215.
87. Van Oirschot J.T., Kaashoek M.J., Rijsewijk F.A.M., Stegeman J.A. 1996. The use of marker vaccines in eradication of herpesviruses. *J Biotechnol.* 44: 75-81.
88. Vargas B D., Bohórquez G A., Parra A.J., Jaime C.J., Góngora O A. 2016. Serological evaluation of bovine herpesvirus 1 and 5 in cattle-breeding systems on Colombia's high plains. *Rev. MVZ Córdoba.* 21: 5381-5389.
89. Vera, V.; Ramírez, G.; Villamil, L. C.; De Sandino M.; Jaime, J. 2006. *Biología Molecular, Epidemiología y Control de IBR y de DVB.* ISBN 958-701-708-8. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. 154p.
90. Vera, V.; Ramírez, G.; Barrera, J.; Villamil, L. C. 2000. *Hablemos de Virología.* Ed. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bogotá.
91. Vicetti Miguel R.D., Sheridan B.S., Harvey S.A., Schreiner R.S., Hendricks R.L., Cherpes T.L. 2010. 17-beta estradiol promotion of herpes simplex virus type 1 reactivation is estrogen receptor dependent. *J Virol.* 84: 565-72.
92. Walz P.H., Givens M.D., Rodning S.P., Riddell K.P., Brodersen B.W., Scruggs D., Short T., Grotelueschen D. 2017. Evaluation of reproductive protection against bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus-1 afforded by annual revaccination with modified-live viral or combination modified-live/killed viral vaccines after primary vaccination with modified-live viral vaccine. *Vaccine.* 35: 1046-1054.
93. Watters R.D., Wiltbank M.C., Guenther J.N., Brickner A.E., Rastani R.R., Fricke P.M., Grummer R.R. 2009. Effect of dry period length on reproduction during the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 92: 3081-3090.

94. Yates W.D. 1982. A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can J Comp Med.* 46: 225-263.
95. Zhu L., Yuan C., Zhang D., Ma Y., Ding X., Zhu G. 2016. BHV-1 induced oxidative stress contributes to mitochondrial dysfunction in MDBK cells. *Vet. Res.* 47: 1-6.
96. Zúñiga A., Ossa I., J.E Hincapie Nieto J.O. 1977. Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en reproductores del Urabá antioqueño para 1977. *Rev. Colomb Cienc Pecu.* 1: 135-148.

AUTORIZACIÓN DE DERECHOS

Yo _____ mayor de edad, vecino de **Villavicencio**, identificado con la Cédula de Ciudadanía No. _____ de _____, actuando en nombre propio en mi calidad de autor del trabajo de tesis, monografía o trabajo de grado denominado **ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA**, hago entrega del ejemplar y de sus anexos de ser el caso, en formato digital o electrónico (CD-ROM) y autorizo a la **UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS**, para que en los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia, con la finalidad de que se utilice y use en todas sus formas, realice la reproducción, comunicación pública, edición y distribución, en formato impreso y digital, o formato conocido o por conocer de manera total y parcial de mi trabajo de grado o tesis.

EL AUTOR – ESTUDIANTE, Como autor, manifiesto que el trabajo de grado o tesis objeto de la presente autorización, es original y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros; por tanto, la obra es de mi exclusiva autoría y poseo la titularidad sobre la misma; en caso de presentarse cualquier reclamación o acción por parte de un tercero en cuanto a los derechos de autor sobre la obra en cuestión, como autor, asumiré toda la responsabilidad, y saldré en defensa de los derechos aquí autorizados, para todos los efectos la Universidad actúa como un tercero de buena fe.

Para constancia, se firma el presente documento en dos (2) ejemplares del mismo valor y tenor en Villavicencio - Meta, a los _____ días del mes de _____ de dos mil dieciocho (2018).

EL AUTOR – ESTUDIANTE

Firma: _____

Nombre: _____

C.C. No. _____