



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Determinación de la prevalencia de animales
Persistentemente Infeccionados con el virus de Diarrea
Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con
la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de
la Sabana de Bogotá**

Edwin Ricardo Buitrago Horta

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia
2015

**Determinación de la prevalencia de animales
Persistentemente Infeccionados con el virus de Diarrea Viral
Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la
exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la
Sabana de Bogotá**

Edwin Ricardo Buitrago Horta

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Salud Animal

Director:

Jorge Luis Zambrano Varón DVM.MPVM.PhD.Dipl ACT

Codirectora:

Claudia Jiménez Escobar DVM. MSc. DVSc. DACT

Grupo de Investigación:

Reproducción y Salud de Hato

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Bogotá, Colombia

2015

A Dios, a mis padres y a mi hermano que son el motor de mi vida y quienes día a día se convierten en mi motivo más grande de superación personal.

Agradecimientos

Deseo expresar mis gratos agradecimientos y en respeto a la propiedad intelectual al Dr. Jorge Luis Zambrano Varón y a la Dra. Claudia Jiménez Escobar, coautores de esta investigación y las publicaciones que de ella se deriven.

Agradecimientos especiales a

El Doctor Jorge Luis Zambrano Varón, por su constante apoyo y compromiso recibido de principio a fin en el desarrollo de este arduo trabajo.

La Doctora Claudia Jiménez Escobar por estar siempre presente desde mi formación en el pregrado y hacer parte de mi formación profesional y personal.

El Doctor Harvey Lozano Márquez por sus consejos, acompañamiento académico y constante apoyo.

El Doctor Víctor Cotrino y al laboratorio LMV LTDA y sus empleados por la colaboración en procesar las pruebas diagnósticas del proyecto.

Cada uno de los propietarios de Fincas por permitir trabajar sus animales en la obtención de muestras sanguíneas y toma de información.

Grupo de estudio en Reproducción y Salud de Hato por ser el motor académico de correcciones y debates que me permitieron avanzar en mi trabajo.

Mis compañeros de estudio Javier Pérez, Jorge Pinzón, Mónica Vergara, Humberto Guáqueta, Catalina Vélez, Juan Castillo y Camilo Hernández, por los buenos momentos y el apoyo constante.

La Universidad Nacional de Colombia por brindar las bases académicas en la investigación de las ciencias veterinarias.

Cada uno de los profesores del posgrado de los que recibí clases, por los conocimientos adquiridos y su calidad profesional.

A mi novia por estos tres años de paciencia y de escuchar tengo que estudiar.

A todos aquellos que haya dejado de mencionar y merecen mi reconocimiento.

Resumen

El virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV) es uno de los patógenos más importantes que afectan la salud de los bovinos, manifestando signos clínicos no específicos en animales infectados como bronconeumonía, diarrea y pérdidas reproductivas. Se realizó un estudio de identificación de animales persistentemente infectados (PI) y seroprevalencia en 930 terneras menores de un año de 31 fincas de la Sabana de Bogotá. Se diseñó e implementó una encuesta epidemiológica para identificar algunos de los factores asociados a la infección persistente y exposición viral. Se diagnosticaron 7 animales PI (0,8%) en 31 fincas (22,6%) y una seroprevalencia de anticuerpos promedio del 27,1% (0-90%) los factores asociados a la exposición del virus fueron edad, el histórico de aborto de la madre y de presentación de diarreas. La presencia de animales PI reafirma la necesidad de identificarlos como parte de un programa de control y prevención eficiente contra BVDV, Seroprevalencia y diagnóstico de animals PI fueron confirmadas y nos enfocan hacia algunos factores que pueden ser la clave en la prevención y control de la enfermedad

Palabras clave: Diarrea Viral Bovina, Prevalencia, Persistentemente Infectados, Exposición Viral, Factores Asociados.

Abstract

Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV) is one of the most important pathogens affecting cattle's health, showing nonspecific clinical signs in infected animals as bronchopneumonia, diarrhea and reproductive illness. A study was realized to identify Persistent infection and seroprevalence in 930 calves less than one year old, in 31 herds in la Sabana de Bogota. In addition, one epidemiological survey was implemented an epidemiological survey to identify some of the associated factors with the persistent infection and the viral exposure. seven animal were diagnosed as persistently infected PI (0,8%) in seven of thirty-one herds (22.6%) and a seropositivity to antibodies of the 27,1% (0 – 90%), the main factors associated with the exposure were the age, the historic of cattle abortion and the diarrhea were related with the exposure to the BVDV. We confirmed the presence and seroprevalence of PI animals in the Sabana de Bogotá, and we identified risk factors that might be key to prevention and control of the disease.

Keywords: Risk, Bovine Viral Diarrhea, prevalence, Persistent infection, viral exposure, associated factors.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas	XIV
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVI
Introducción.....	1
1. Aspectos epidemiológicos de la infección con el virus de la Diarrea Viral Bovina³	
1.1 Generalidades.....	3
1.1.1 Transmisión.....	4
1.1.1 Manifestaciones Clínicas.....	7
1.2 Aspectos epidemiológicos.....	9
1.2.1 Situación en Europa.....	10
1.2.2 Situación en Suramérica.....	12
1.2.3 Situación en Colombia.....	14
1.3 Factores de Riesgo.....	16
1.4 Diagnóstico.....	17
1.5 Control y Erradicación.....	19
2. Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infectados con el virus de diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá	23
2.1 Introducción.....	23
2.2 Materiales y métodos.....	26
2.2.1 Objetivo general.....	26
2.2.2 Objetivos específicos.....	27

2.2.3	Criterios de inclusión.....	27
2.2.4	Selección de animales.....	27
2.2.5	Tamaño de muestra.....	27
2.2.6	Selección de predios.....	28
2.2.7	Toma y recolección de muestras.....	28
2.2.8	Recolección de Información.....	28
2.2.8.1	Variables individuales.....	29
2.2.8.2	Variables asociadas al manejo de hato.....	29
2.2.8.3	Variables asociadas a parámetros reproductivos.....	29
2.2.8.4	Variables asociadas al conocimiento del BVDV.....	30
2.2.9	Pruebas diagnósticas utilizadas.....	30
2.2.10	Análisis estadístico.....	31
2.3	Resultados	32
2.3.1	Características de los hatos	32
2.3.2	Características individuales de los animales	35
2.3.3	Diagnóstico de infección persistente con el virus de la Diarrea Viral Bovina (animales pi)	35
2.3.4	Factores asociados a la infección persistente de BVDV a nivel de hato.....	36
2.3.5	Factores asociados a la infección persistente de BVDV a nivel individual	38
2.3.6	Prevalencia de anticuerpos BVDV	41
2.3.7	Distribución de anticuerpos BVDV y la relación con la vacunación y la edad	42
2.3.8	Factores asociados con la seroprevalencia de anticuerpos al BVDV a nivel de hato	44
2.3.9	Factores asociados con la seroprevalencia de anticuerpos al BVDV a nivel individual	46
2.4	Discusión.....	47
3.	Conclusiones y recomendaciones.....	53
3.1	Conclusiones.....	53
3.2	Recomendaciones.....	55
4.	Bibliografía.....	57

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1: Efectos clínicos reproductivos tras la infección con el BVDV.....	8
Figura 2: Distribución de animales con infecciones persistentes (PI) al virus de DVB con relación al momento de vacunación, sistema de manejo y la edad	38
Figura 3: Distribución de animales con infección persistentes (PI) al BVDV con relación al momento de vacunación, tiempo de vacunación y la edad actual.....	39
Figura 4: Distribución de Prevalencia de anticuerpos contra BVDV p80 en hatos vacunados con virus muerto, vivo modificado y en hatos que no vacunan	42
Figura 5: Distribución de anticuerpos BVDV con relación con el tipo de vacuna y la edad a la cual se vacunaron	43
Figura 6. Distribución de los Resultados de la Prueba de Anticuerpos a BVDV con relación a la edad	44

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1: Distribución geográfica mundial del BVDV y sus huéspedes.....	10
Tabla 2: Estudios de seroprevalencia BVDV en algunos países europeos.....	11
Tabla 3: Estudios de seroprevalencia del BVDV en diferentes países de Suramérica.....	13
Tabla 4: Cronología del estado de BVDV en Colombia.....	14
Tabla 5: Estudios de seroprevalencia del BVDV en Colombia.....	15
Tabla 6: Factores asociados con la seropositividad a BVDV.....	16
Tabla 7: Estudios de factores asociados con la seropositividad a BVDV.....	17
Tabla 8: Estadística descriptiva del manejo a nivel de hato en 31 predios analizados.....	33
Tabla 9: Prevalencia de los eventos clínicos de las terneras menores a 12 meses muestreados ..	35
Tabla 10: Resultados de la prueba de ELISA para la detección de Ag contra BVDV en terneras menores a 12 meses en hatos de la Sabana de Bogotá.....	36
Tabla 11: Resultados del análisis univariado del manejo de hato con animales PI versus hatos sin animales PI	37
Tabla 12: Análisis univariado de la información individual para estimar las variables asociadas a la infección persistente a BVDV en terneras menores de 12 meses en la sabana de Bogotá.....	40
Tabla 13: R Resultados de la Regresión logística, variables individuales asociadas a la infección persistente a DVB en terneras menores de 12 meses en la Sabana de Bogotá	41
Tabla 14: Resultados a la prueba de ELISA para la detección de Anticuerpos contra BVDV	41
Tabla 15: Resultados del análisis univariado del manejo de hato con diagnóstico positivo versus hatos con diagnóstico negativo a la prueba de Ac BVDV.....	45
Tabla 16: Análisis univariado de las variables individuales asociadas a la exposición al BVDV	46
Tabla 17: Factores asociados con la exposición al BVDV.en terneras menores de 12 meses provenientes de la Sabana de Bogotá.....	47

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

	Abreviatura	Término
1	DVB	Diarrea Viral Bovina
2	BVDV	Virus de la Diarrea Viral Bovina
3	PI	Persistentemente Infectados
4	Ac	Anticuerpos
5	Ag	Antígenos
6	TCID	Dosis infectiva en cultivo de tejidos
7	P80	Proteína 80
8	CP	Citopático
9	NCP	No Citopático
10	TE	Transferencia de embriones
11	IETS	Sociedad Internacional de transferencia de embriones
12	PCR	Reacción en cadena de polimerasa
13	RT	Transcriptasa reversa
14	ELISA	ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
15	OR	Odds Ratio
16	IC	Intervalo de Confianza
17	FEDEGAN	Federación Colombiana de Ganaderos
18	ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
19	DO	Densidad Óptica
20	P	Positivo
21	N	Negativo
22	CNx	Media del control negative
23	MI	Mililitros

Superíndice

Superíndice	Término
N	Exponente, potencia

Introducción

El virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV) es uno de los patógenos más importantes que afecta la salud de los bovinos en el mundo y ocasiona pérdidas económicas a nivel de finca (Ståhl e Alenius, 2012). Pertenece al género *Pestivirus*, familia *Flaviviridae*, de él, se han reconocido tres genotipos (1, 2 y 3) y dos biotipos (citopático y no citopático) (Peterhans *et al.*, 2010). Afecta clínicamente a los animales dada su capacidad de variabilidad antigénica y las diferentes formas de transmisión que posee. La presencia del virus es endémica en la mayoría de poblaciones, estudios reportan seroprevalencia del BVDV que van desde el 40% hasta el 80 % (Kobrak, 1997). sin embargo, la prevalencia de animales persistentemente infectados (producto de exposición al virus no citopático entre el día 25 a 140 de gestación) varía entre 0,1 – 1,5 % (Houe, 1995). La identificación y eliminación de los animales persistentemente infectados (PI) son el fundamento de los programas de control y erradicación de la enfermedad dado que son estos los principales diseminadores de partículas virales en los hatos.

En Colombia la enfermedad se conoce desde 1975, año en el cual un lote de novillas Holstein, importadas de Holanda, desarrolló el cuadro clínico de enfermedad entérica (Borda, 1975). Los estudios acerca de la epidemiología de la enfermedad en el país son escasos y se basan en su mayoría en seroprevalencia (determinación de exposición viral). Existe un reporte de diagnóstico de persistentemente infectados en 1996 a través del cultivo de células polimorfonucleares y detección de virus por inmunoperoxidasa en animales de la sabana de Bogotá (Jaime *et al.*, 1996).

Con el fin de contribuir al conocimiento epidemiológico del virus de la Diarrea Viral Bovina, se realizó un estudio de identificación de animales persistentemente infectados y seroprevalencia en 930 bovinos entre 0 y 12 meses de edad provenientes de la Sabana de Bogotá, así como una encuesta epidemiológica que identificó algunos de los factores de riesgo asociados a la seropositividad del virus y con la infección persistente. Los datos

fueron analizados por estadística descriptiva, análisis univariado y regresión logística binaria, así como estimadores de riesgo para determinar la fortaleza de la asociación entre la seropositividad y los diferentes factores asociados.

Este estudio busca resaltar la importancia del diagnóstico de los principales diseminadores de virus que son los animales PI y la identificación de algunos factores asociados a su presentación en los hatos, de esta manera generar políticas de control y prevención contra la enfermedad. Así mismo, sirve como referencia para continuar investigando la epidemiología del virus, conocer el verdadero status infeccioso en nuestras regiones y reconocer la importancia de este tipo de metodologías de investigación en el conocimiento de las dinámicas de la enfermedad.

Capítulo I

Aspectos epidemiológicos de la infección con el Virus de la Diarrea Viral Bovina

1.1 Generalidades

La Diarrea Viral Bovina (DVB) es una enfermedad de distribución mundial que se considera endémica para la mayoría de poblaciones bovinas y que provoca importantes pérdidas económicas en las explotaciones bovinas afectadas (Ståhl e Alenius, 2012). En animales infectados se presentan signos clínicos no específicos compatibles con bronconeumonía, diarrea y pérdidas reproductivas (Grooms, 2006). La enfermedad es causada por el virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV), un virus RNA perteneciente al género *Pestivirus* y que ha sido incluido dentro de la familia *Flaviviridae*. De él, se han reconocido tres genotipos (1, 2 y 3) y dos biotipos (citopático y no citopático) (Birk et al, 2008). En 2007, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) adicionó este virus a la lista de enfermedades reportables para el ganado bovino, sin embargo, no es reportable para otras especies. Esto puede llevar a confusiones dado que el virus también se replica y causa enfermedad en antílopes, jirafas, cerdos, rumiantes domésticos y silvestres (Ridpath, 2015). Dentro de este mismo género se encuentran el virus de la enfermedad de las

fronteras de ovinos y la peste porcina clásica con los cuales se encuentra antigénica y genéticamente relacionado (Paton, 1995).

Los distintos BVDV pertenecen a un grupo serológicamente relacionado sin diferencias antigénicas suficientes como para clasificarlos en serotipos (Netleton et al, 1995). Los 2 biotipos del BVDV han sido clasificados según su comportamiento en cultivos celulares (Bolin et al, 1985, Borwnlie et al, 1984). El biotipo no citopático (NCP) no ocasiona cambios en la morfología de las células mientras que el biotipo citopático (CP) evidencia la presencia de vacuolización citoplasmática y daños a la arquitectura de las células en cultivo; se cree que las cepas CP surgen por una alteración genética a partir de cepas NCP (Birk, 2008). La importancia de los biotipos de BVDV radica en que el NCP puede generar animales persistentemente infectados (PI). Estos, inmunotolerantes al virus y principal fuente de infección que ocasionan manifestaciones clínicas y subclínicas (Deregt D, 1995) con la consecuente disminución de la producción y pérdidas económicas a nivel de finca.

Los signos clínicos de la infección generalmente son compatibles con afecciones del tracto respiratorio y gastrointestinal, aunque el término diarrea es prominente por el nombre de la enfermedad, las alteraciones reproductivas asociadas con el virus son más comúnmente reportadas. La presentación clínica de la enfermedad reproductiva depende de la cepa viral y el momento de la infección en la hembra gestante (Grooms 2006).

1.1.1 Transmisión

Existen dos formas de transmisión del virus, vertical y horizontal, que generan diferentes manifestaciones de la enfermedad por cepas CP y NCP (Fredriksen *et al.*, 1999). En la trasmisión vertical, el biotipo NCP puede infectar hembras durante cualquier etapa de la gestación. Si ésta ocurre entre el día 25-120, momento en que el sistema inmunitario del feto no tiene aún la capacidad de montar una respuesta inmune efectiva, se desarrolla inmunotolerancia produciéndose el animal PI, considerado la principal fuente de infección dentro de las fincas (Baker, 1995). Estos animales también pueden generarse consecuencia de gestaciones de vacas PI. Ellos, eliminan durante toda su vida partículas virales a través de secreciones nasales, saliva, orina, materia fecal, lágrimas y leche (10^3

a 10^5 TCID₅₀/ml). La mayoría mueren antes del primer año de vida debido a problemas clínicos asociados con trombocitopenia o enfermedades sistémicas; algunas veces pueden llegar a ser adultos y se convierten en constantes diseminadores del virus (Baker, 1995; Fulton, 2000).

Los toros PI eliminan virus de forma intermitente (10^4 a 10^7 TCID₅₀/ml) (Barlow et al., 1986), este semen puede ser de calidad aceptable con baja fertilidad por la presencia de anomalías espermáticas y baja motilidad. Estos toros pueden engendrar descendencia clínicamente normal o pueden originar descendencia PI por recirculación viral en vacas susceptibles (persistencia viral en el tracto reproductivo) (Meyling et al., 1988).

El virus puede ser transmitido de forma horizontal entre un animal infectado y uno susceptible, por contacto directo o a través de aerosoles (Fredriksen *et al.*, 1999). Los animales con enfermedad aguda eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos de tiempo (Houe, 1995). El riesgo de infección aumenta cuando circulan cepas de alta virulencia y en hatos con alta densidad animal. En toros con infecciones agudas se ha aislado el BVDV de las glándulas sexuales accesorias, testículos y semen, excretando títulos bajos de virus y por cortos períodos de tiempo. Se han reportado animales seropositivos no virémicos que excretan virus constantemente en el eyaculado, esta situación puede ocurrir si los toros se infectan durante la pubertad, es decir, durante la formación de la barrera hematotesticular permitiendo así que el virus se replique constantemente dentro de los testículos y evada la respuesta inmune (Voges et al., 1998).

La transmisión indirecta por semen, transferencia de embriones, contaminación adventicia de vacunas, cohabitación con ovinos, agujas, palpación rectal y la acción de insectos hematófagos depende del estado inmunitario y los títulos infectantes que incrementan el potencial de transmisión de la enfermedad (Lindberg et al, 2005).

En términos de colecta y transferencia de embriones (TE) en bovinos la IETS (Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones) concluye que la correcta manipulación es suficiente para eliminar el BVDV de los embriones y que se pueden obtener terneros libres

de infección de donadoras PI (Smith e Grimmer, 2000). Otro factor de importancia es la contaminación adventicia con el uso de suero fetal bovino utilizado en procedimientos de manipulación embrionaria y cultivos in vitro dado que el virus se adhiere fuertemente a la zona pelúcida, aumentando notoriamente la posibilidad de trasmisión cuando estos embriones son transferidos a receptoras sanas (Gard et al, 2007).

La tasa de transmisión dentro de los bovinos en una finca depende de la forma de entrada del virus al mismo. Se han descrito cinco fases en el ciclo de la infección que muestran la respuesta serológica del hato en relación a la presencia de anticuerpos en los individuos consecuencia de la presencia o no de animales PI y su relación con el tiempo de exposición. Cuando un animal PI es introducido a una ganadería, la transmisión a animales susceptibles ocurre relativamente rápido, entre 1 y 3 meses (Tinsley et al, 2012). El principal rol del animal PI es mantener la infección en finca. Esto es soportado por la evidencia del modelo escandinavo de control del virus BVDV al mostrar que la circulación viral disminuye cuando los animales PI son eliminados de las fincas, considerando que el 90% de las infecciones por BVDV en los bovinos se deben a cepas NCP (Lindberg *et al.*, 2006). Por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje de animales (Houe., 1999). Los títulos de anticuerpos generados por los bovinos infectados naturalmente con el BVDV disminuyen lentamente y por lo común permanecen toda la vida (Ståhl et al, 2012).

1.1.2 Manifestaciones clínicas

Las diferentes formas de transmisión y el momento en que se infectan los animales por BVDV generan distintas manifestaciones clínicas de la enfermedad. La cepa viral, el hospedador, el estado inmune, la edad y las infecciones concurrentes con otros patógenos van a determinar la sintomatología en los animales (Moerman *et al.*, 1994).

Para la mayoría de poblaciones bovinas la presencia del virus es endémica. La infección se presenta tras la exposición de animales seronegativos al virus. Luego de un periodo de incubación entre 5 y 7 días la presentación es subclínica de leve a mediana severidad en el 70% a 90% de los casos. Los signos clínicos se caracterizan por fiebre, anorexia, leucopenia, inapetencia, secreción en nasal y ocular. Los bovinos, Pueden llegar a sufrir episodios de diarrea o neumonía dada la capacidad del virus para establecer una infección primaria en tracto gastrointestinal y pulmón, lo que ha sido demostrado por inoculación experimental de terneros con el virus. Los animales desarrollan anticuerpos 3 a 4 semanas después de la infección y pueden persistir por toda la vida, aunque tienden a disminuir con la edad (Fray *et al.*, 2000).

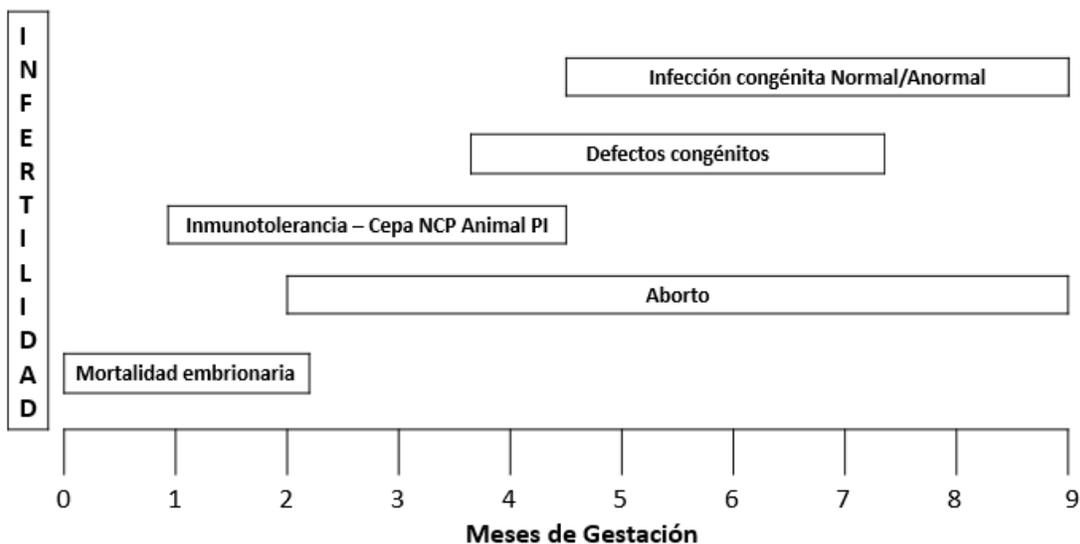
Otro tipo de manifestación clínica es desencadenada por el genotipo 2 del BVDV. Trombocitopenia y disfunción plaquetaria causante de anemia, hemorragias petequiales, melena y hemorragia en múltiples órganos son características de esta infección que generalmente cursan con un cuadro severo de enfermedad (Bolin *et al.*, 1992).

El BVDV favorece las infecciones concurrentes de enteropatógenos y desencadenan signos clínicos de enfermedad digestiva manifestados en diarreas que pueden variar en severidad y causar hasta la muerte (Baker, 1995).

El biotipo citopático emerge del no citopático. En animales persistentemente infectados, la presentación de dos cepas homólogas BVDV (CP y NCP) se asocia a un cuadro letal de infección denominada “ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS” (Baker, 1995).

En algunos casos se ha reportado en vacas, ooforitis intersticial no purulenta y en toros semen de fertilidad reducida por baja motilidad y anormalidades espermáticas (Meyling A, 1988). Esto representado en repetición de calores, ciclos estrales anormales y alteraciones en el mantenimiento de la gestación. La presentación clínica de enfermedad reproductiva sucede a través de la infección directa o hacia el feto dependiendo la edad gestacional, y se manifiesta con la presentación de mortalidad embrionaria, abortos, presentación de lesiones congénitas, persistentemente infectados, infección aguda fetal con nacimiento a término o nacimientos de terneros débiles (Grooms, 2006) Figura 1.

Figura 1. Efectos clínicos reproductivos tras la infección con el BVDV



Adaptado de (Grooms 2006).

Un estudio en dos fincas asoció la presencia de Neospora Caninum y BVDV con incremento en los días por concepción. Mientras que la presencia de Leptospira y BVDV fue asociada con incremento en el tiempo a la primera inseminación, según esto, el efecto de la infección subclínica en la fertilidad de novillas puede ser un complejo de interrelaciones entre múltiples afecciones que dependen del tipo y tiempo de infección con el desarrollo de eventos reproductivos (Muñoz-Zanzi, 2004).

La estimación exacta de pérdidas económicas por la infección del BVDV por finca no ha sido bien definida; algunos modelos de presupuestos calculan el impacto de la enfermedad en un año para fincas de 100 vacas. Este estudio determinó pérdidas económicas para una infección media y severa en términos de producción láctea, mortalidad de terneros y gastos de tratamiento de enfermedades como diarreas y neumonías entre 10,7 a 19 euros por cada 1000 litros de producción. Este impacto fue muy similar a las pérdidas económicas reportadas en otras enfermedades como la mastitis, donde las pérdidas alcanzan 11 euros por cada 1000 litros producidos. En casos severos de infección, las pérdidas fueron estimadas en 9 casos para la incidencia de aborto, 55 casos en repetición de celo, 29 casos de muertes perinatales, 40 casos de animales enfermos tratados, 57 casos en incidencia de mastitis clínicas y 19 en retenciones de placenta (Fourichon *et al.*, 2005).

1.2 Aspectos epidemiológicos

Existen numerosos estudios que reportan la distribución mundial del virus, sus genotipos y las especies que afecta (Tabla 1). Las comparaciones de las prevalencias entre los diferentes estudios son difíciles entre ellos dadas las diferentes metodologías de muestreo, procedimientos diagnósticos utilizados, diferencias del manejo de las fincas y el movimiento de animales entre regiones. Sin embargo, se estima una prevalencia serológica mundial de la enfermedad entre 40% y 80 % (Kobrak, 1997). Adicionalmente, se ha establecido que la prevalencia de animales PI oscila entre 0,1% – 1,5 % (Ridaph, 2015) y la proporción de hatos diagnosticados con animales PI varía entre 1% y 50% (Tinsley, 2012).

- 10 Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infectados con el virus de diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá

Tabla 1. Distribución geográfica mundial del BVDV y sus huéspedes.

GENOTIPO	GÉNERO PESTIVIRUS (BVDV)	
	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	HOSPEDADOR
BVDV 1	Mundial: cerca de la erradicación algunas regiones europeas	Rumiantes domésticos y salvajes, cerdos y conejos
BVDV 2	Mundial: aunque más prevalente en norte y sur américa; cerca a la erradicación en algunas regiones de Europa	Rumiantes domésticos y salvajes, cerdos y conejos
BVDV 3	Más prevalente en Suramérica y Sudeste Africano	

(Adaptado de Ridpath 2010, 2015).

Los estudios de prevalencia relacionan la presencia del BVDV con otras entidades como Neospora, Leptospira, Pasteurella Hemolítica, Herpesvirus bovino tipo 1 (BHV 1) y el Virus Sincitial Bovino (parra et al, 1994, Gongora et al, 1995; Fulton et al, 2000). Un estudio realizado en California tuvo como objetivo determinar la prevalencia y los efectos de la infección por Neospora Caninum y la infección persistente con el BVDV en terneros castrados ubicados en un corral de engorde. Se demostró que para 900 terneros, la prevalencia de la infección por Neospora Caninum fue de 16,7% y la prevalencia del BVDV asociada PI fue de 0,2%. (Hietala, 2007).

1.2.1 Situación en Europa

La enfermedad ha sido endémica para las poblaciones bovinas en los países europeos donde no se ha iniciado un control de la misma. Reportan que aproximadamente el 50% de las fincas posee animales PI con una prevalencia entre 0,5 y 1,5%; el 90% de la población presenta anticuerpos hacia el BVDV (Lindberg *et al.*, 2006). En zonas endémicas existe una correlación directa entre elevadas prevalencias y la densidad animal. El BVDV tipo 1 existen en al menos 90% de los países europeos, mientras que el BVDV tipo 2 ha

sido aislado en Alemania, Bélgica, Austria, Holanda, Eslovaquia, Italia y Reino Unido. (Lindberg *et al.*, 2006).

En los diferentes estudios se pueden encontrar países con una prevalencia relativamente baja como el caso Eslovenia (17%) o alta de hasta 86 % en el caso de Polonia (Tabla 2).

Tabla 2. Estudios de seroprevalencia BVDV en algunos países europeos.

AÑO	PAÍS	TIPO DE ESTUDIO	PREVALENCIA	AUTOR
2010	BELGICA	n= 773 fincas n= 5246 Animales	32,9%	(Sarrazin <i>et al.</i> , 2013)
1997	ESPAÑA	n= 28 Fincas n= 529 Animales	21%	(Mainar-Jaime <i>et al.</i> , 2001)
1996	SLOVENIA	n= 274 Fincas n= 6892 Animales	17%	(Kobrak, 1997)
1994	SUIZA	n= 95 Fincas n= 2892 Animales	84%	(Braun <i>et al.</i> , 1997)
1995	POLONIA	n= 175 Animales	86%	Polak e Zmudzinski, 1999)

El plan de erradicación escandinavo implementado entre 1993 y 1994 para el control del BVDV en Noruega, Finlandia, Suecia y Dinamarca se basó en el control de las rutas de infección, en la determinación del estado de infección por medio de la evaluación serológica, así como en la identificación y eliminación de animales PI. Los resultados evaluados cinco años después mostraron que todos estos países son libres o casi libres de la presentación del BVDV.

En Dinamarca el programa de erradicación demostró que en áreas de alta prevalencia éste programa no es eficaz, ya que no existen medidas que controlen las vías de transmisión, la erradicación de los PI en todas las fincas, la movilización de animales; la introducción

de animales externos a las fincas es la principal vía de reintroducción del virus a las mismas (Bitsch et al, 1995).

Austria ha seguido el esquema escandinavo y después de siete años el plan se amplió a todo el país obteniendo como resultados que cerca del 30% de las fincas están certificadas como libres de la infección al BVDV (Rossmannith, Janacek e Wilhelm, 2005). En Alemania han realizado esquemas de erradicación con inmunización debido a la elevada prevalencia de la infección (más del 80%) y la alta densidad animal (Makoschey et al., 2001).

Cabe señalar que las estrategias de erradicación que han tenido mayor éxito en la reducción del impacto de la infección por BVDV son las que enfatizan en: 1) identificación de los rebaños con infección activa; 2) eliminación de animales PI del rebaño; y 3) medidas de bioseguridad o mantener rebaños cerrados para evitar la infección de rebaños libres (Brownlie, 2013).

1.2.2 Situación en Suramérica

La seroprevalencia en Suramérica muestra variaciones entre países, aunque en general se considera alta (40% – 70%) (Rweyemamu *et al.*, 1990).

Varios estudios serológicos han confirmado la existencia de la infección por el BVDV en seis países (Argentina, Brasil, Chile, Ecuador, Colombia, Perú y Uruguay) con una prevalencia individual oscilando entre 36 y 96% del ganado de las áreas encuestadas (Tabla 3).

Tabla 3. Estudios de seroprevalencia del BVDV en diferentes países de Suramérica.

AÑO	PAÍS	TIPO DE ESTUDIO	PREVALENCIA %	AUTOR
2011	CHILE	n= 19635 animales	96	(Felmer, 2009)
2008	URUGUAY	n= 6358 animales	69	(Guarino <i>et al.</i> , 2008)
2002		n= 60 fincas Tanques de Leche	96	(Ståhl <i>et al.</i> , 2002)
2006	PERU	n= 66 animales	90	
2007		n= 286 animales	47,2	(Huamán G. <i>et al.</i> , 2007)
1999	VENEZUELA	n= 123 fincas	42	(Obando <i>et al.</i> , 1999)
2012	ECUADOR	n= 2367 animales n= 256 fincas	36,2 74	(Saa <i>et al.</i> , 2012)
2001	ARGENTINA	n= 2184 animales n= 2936 animales n=1290 animales	25,6 41,9 45,6	(Odeon, 2001)

En Perú, se reportó un estudio donde el objetivo era identificar animales con infección persistente en 57 hatos lecheros de Arequipa (n=286). Se identificaron 4 animales PI (2,7%) en los hatos, relacionando las altas prevalencias con la existencia de mayor circulación viral (Huamán G. *et al.*, 2007).

- 14 Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infectados con el virus de diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá
-

1.2.3 Situación en Colombia

Aunque para Colombia los estudios sobre el BVDV son escasos, han ocurrido una serie de eventos relacionados con el mismo que se describen de manera cronológica (Tabla 4).

Tabla 4. Cronología del estado de BVDV en Colombia.

AÑO	EVENTO	AUTOR
1975	Primeros reportes de BVDV tras el ingreso al país de terneros enfermos importados desde Holanda. “Enfermedad de las Mucosas“	(Borda, 1975)
1992	Identificaron en biotipo NCP del suero fetal bovino usado en laboratorios.	(vera, 1992)
1994	Caracterización proteica de cepas colombianas citopáticas y no citopáticas del virus de la Diarrea Viral Bovina	(Mendigaña, 1994)
1996	Un estudio de metodologías para detección de PI, cultivo de células polimorfonucleares y detección de virus por inmunoperoxidasa.	(Jaime, 1996)
2006	Detección de biotipos del BVDV a través de RT-PCR	(Burbano, 2006)

Los estudios realizados en el país se enfatizan en prevalencias del virus como evidencia epidemiológica de exposición al virus, descritos en orden cronológico en la Tabla 5.

Tabla 5. Estudios de seroprevalencia del BVDV en Colombia.

AÑO	ESTUDIO	PREVALENCIA %	AUTOR
1980 – 1984	Córdoba y Sucre, animales y predios	56 – 46	(Otte, 1985)
1982	Sabana de Bogotá, animales y predios	47 – 82	(Griffiths, 1982)
1994	Sabana de Bogotá, animales	50 – 88	(Parra, 1994)
1995	Sabana de Bogotá, animales	83	(Gongora, 1995)
1996	Sabana de Bogotá, animales	59	(Jaime, 1996)
2007	Córdoba	29,4	(Betancur, 2007)
2011	Cesar, animales	46	(Peña, 2011)
2011	Pasto, animales	32,7	(Quevedo, 2011)
2012	Caquetá, animales	35,5	(motta, 2012)
2014	Boyacá, animales	55,1	(Cruz, 2014)

Existe un reporte de diagnóstico de animales PI en Colombia. El estudio se realizó en 3 fincas de la Sabana de Bogotá con un total de 71 animales; diagnosticando 1 animal PI en todos los animales muestreados. El diagnóstico fue realizado a través del cultivo de células Polimorfonucleares y posterior detección por inmunoperoxidasa indirecta. Este es el primer reporte de la presencia de PI en la Sabana de Bogotá con diagnóstico de PI entre 1 a 2% de la población estudiada (Jaime, 1996).

Estudios a nivel nacional frente a los factores de riesgo son escasos. En 1994 un estudio en la sabana de Bogotá asoció la edad de los animales con la presentación de la enfermedad siendo las vacas adultas las de mayor predisposición a la infección (Parra, 1994). En 2011 se realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra BVDV y los factores de riesgo asociados en 10 hatos lecheros del municipio de Pasto, Nariño. En un cuestionario se recolectó la información en cada finca, donde se incluyeron variables relacionadas al ganado, salud y prácticas de manejo.

VARIABLES como tipo de reproducción (monta natural o inseminación artificial), origen de los animales reemplazo, eliminación de fetos abortados y placentas, programas de desparasitación, programas de vacunación, fuente de agua y presencia de animales como ovejas, caballos, cerdos, gatos, perros fueron descartados como factores de riesgo. Se estableció asociación con la presencia de abortos (OR= 22.70, IC 4.21, 122.42, P<0,0001) y la adquisición de nuevos animales (OR=34.90, IC 6.30, 193.43. P<0,0001) (Quevedo, 2011) (Tabla 6).

Tabla 6. Factores asociados con la seropositividad a BVDV

FACTOR	CATEGORÍA	OR	95 %IC	VALOR P
Aborto	Si	22,7	4,21 - 122.42	< 0,00001
Origen externo de reemplazos	Si	34,9	6,3 – 193	< 0,00001

Intervalo de confianza para OR 95%
Odds ratio
P < 0,05

A pesar de las investigaciones sobre BVDV en el país, aún se desconocen aspectos fundamentales de su epidemiología y su impacto en nuestro medio. Las estrategias de vigilancia y control a nivel mundial están dirigidas hacia la identificación y eliminación de animales PI, en Colombia son reducidos los estudios y pocas las herramientas para la identificación de los mismos. Además, la correcta evaluación de factores asociados con la presentación de la enfermedad surge como una estrategia específica para el control de la misma.

1.3 Factores de riesgo

El principal factor de riesgo es la adquisición de animales o hembras gestantes con fetos PI. Algunos estudios han encontrado que variables como la edad, el origen del animal y la no realización de cuarentenas previas al ingreso de animales son factores de riesgo para la transmisión del BVDV (Mainar-Jaime *et al.*, 2001; Saa *et al.*, 2012) (Tabla 7). Otros factores de importancia incluyen, el sexo del animal, el tipo de ganadería (leche, carne o de doble propósito), densidad animal, tamaño de la finca, la edad al destete (terneros), el tipo de alimentación de los terneros (leche vs lactoreemplazadores), el tipo de ordeño, la sala de ordeño, establos, participación en ferias, presencia de otros rumiantes, fincas

ganaderas adyacentes, abortos anuales y las tasas de diarrea (Wittum *et al.*, 2001). También están descritas algunas vías de transmisión consideradas como factores de riesgo como lo son: uso de vacunas vivas, semen contaminado, transferencia embrionaria y cohabitación con animales que tienen infección aguda (Houe, 1995).

Tabla 7. Estudios de factores asociados con la seropositividad a BVDV

FACTOR	CATEGORÍA	OR	95 % IC	VALOR P	AUTOR
Edad	2 a 5 años	3,3	0,68 – 16,90		(Mainar-Jaime <i>et al.</i> , 2001)
	5 a 8 años	7,5	1,53 – 57,10	0,01	
	> de 8 años	9,3	1,84 – 47,25	0,007	
Origen externo de reemplazos	Si	3,9	1,9 – 7,3	< 0,001	(Mainar-Jaime <i>et al.</i> , 2001)
Altitud de la finca sobre el nivel del mar	≥ 2338 mts	2,3	1,4 – 3,9	0,002	(Saa <i>et al.</i> , 2012)
Densidad animal en fincas	≥ 79,4 %	1,9	1,21 – 3,2	0,011	(Saa <i>et al.</i> , 2012)
Cuarentenas	No	1,1	1 – 2,5	0,031	(Saa <i>et al.</i> , 2012)

Intervalo de confianza para OR 95%
Odds ratio P < 0,05

1.4 Diagnóstico

La medición de anticuerpos mediante pruebas serológicas demuestran la exposición al BVDV, ya sea por infección natural o por un proceso de vacunación; ésta es reconocida como la medición estándar para estimar la exposición a la enfermedad. Las pruebas de laboratorio usadas en la identificación de anticuerpos son los ensayos inmuno enzimáticos ELISA (Se: 96.3%, Sp: 99,5%) y las pruebas de seroneutralización (Se: 66%, Sp: 100%). Su uso ha sido limitado dada la interferencia de estas pruebas por la generación de anticuerpos postvacunales tanto de vacunas muertas como de vacunas vivas modificadas. Estas pruebas serológicas se pueden utilizar para evaluar la eficacia de la vacuna en la producción de anticuerpos, evaluar la exposición a BVDV y la asociación con signos clínicos (Laureyns, Ribbens e de Kruif, 2010).

El diagnóstico de animales PI se basa en el aislamiento del virus o en la detección del mismo; el primero es 100% específico (Dubovi, 2013), se utilizan cultivos celulares del suero problema y la presencia del biotipo NCP se detecta con el empleo de anticuerpos anti-BVDV conjugados con peroxidasa o fluorocromos (Sandvik, 1999). El método de ELISA es muy versátil y está diseñado para capturar antígenos del BVDV en suero sanguíneo individual o en pool (Sandvik, 1999; Bedeković *et al.*, 2012). Este sistema, comparado con el aislamiento viral, ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad (97,9% y 99,7% respectivamente) (Bitsch e Rønsholt, 1995).

Para la identificación del BVDV en tejidos, el examen inmunohistoquímico provee un diagnóstico más específico que la extracción de antígenos en sangre. Sin embargo, las muestras en tejidos para inmunohistoquímica son más difíciles de obtener en animales vivos que la sangre, haciendo de este un método más efectivo para el diagnóstico postmortem y en fetos abortados. Existe un número significativo de resultados falsos positivos y falsos negativos con la inmunofluorescencia (sensibilidad: 77%, especificidad: 83%), y un número significativo de falsos negativos con el aislamiento viral (sensibilidad: 83%, especificidad: 100%), mientras que la Inmunohistoquímica posee el mejor desempeño (sensibilidad: 97% y especificidad: 97%) (Dubovi, 2013).

El uso de RT-PCR (PCR transcriptasa reversa) para la amplificación del genoma del BVDV ha ofrecido la mejor sensibilidad diagnóstica, esta permite detectar el virus en pool de muestras de sangre y leche de tanque. Las muestras adecuadas incluyen la sangre de los terneros PI donde se neutraliza el virus por los anticuerpos maternos, la sangre de los animales infectados de forma aguda, así como de sus órganos. Otra aplicación útil de diagnóstico de la RT-PCR es el diagnóstico en cultivos celulares y suero fetal bovino usado en laboratorio como suplemento de medios, ambos, pueden estar contaminados con BVDV (contaminación adventicia) (Nickell *et al.*, 2011).

Un estudio realizado en el 2004 buscaba evaluar las técnicas diagnósticas de ELISA Ag y RT PCR para el diagnóstico de animales PI en presencia de anticuerpos maternos y a su vez compararlo con las técnicas diagnósticas de aislamiento. Se infectaron 25 madres al día 85 de gestación con una cepa NCP de BVDV. Se tomaron muestras para aislamiento

viral 30 minutos después del nacimiento y antes de ingerir calostro de los terneros; de ellos el 100% fue positivos al virus y se confirmó el diagnóstico de infección persistente a las 10 semanas de edad. A los terneros se les suministró calostro ad-libitum de las madres serológicamente positivas y se tomaron muestras al día 7 de vida para aislamiento viral, PCR y ELISA Ag. Para aislamiento viral se detectaron cuatro terneros positivos y para ELISA 10 terneros; mientras tanto, la prueba de RT PCR fue la más confiable detectando el virus en los 25 animales muestreados. Es decir, en presencia de altos niveles de anticuerpos maternos el aislamiento viral y el ELISA captura de Ag son pruebas no confiables para detectar la presencia de infecciones con el BVDV, mientras que la RT PCR mostró idoneidad ante la presencia de elevados niveles de anticuerpos maternos siendo importante la técnica para procesos de erradicación (Zimmer *et al.*, 2004).

1.5 Control y erradicación

Los programas de control varían de acuerdo a la región, la incidencia, densidad de poblaciones animales, movimientos animales, contacto con poblaciones susceptibles y nivel de variación entre cepas circulantes de BVDV. Los métodos de control más efectivos recomiendan un muestreo inicial para la detección de anticuerpos con el fin de determinar el estado de infección en fincas; posteriormente es necesario identificar y eliminar los animales PI, muestreando todos los animales de la finca. Una vez eliminados los animales PI, cada recién nacido debe ser muestreado hasta un año posterior al último diagnóstico. (Laureyns, Ribbens e de Kruif, 2010). Esta fue la base del control sistemático sin vacunación implementado entre 1993 y 1994 para el control del BVDV en Noruega, Finlandia, Suecia y Dinamarca que llevaron a ser libres o casi libres de la presentación del BVDV (Brownlie, 2013).

La bioseguridad constituye el elemento central para el control de la Diarrea Viral Bovina. Se refiere a todas las medidas adoptadas para prevenir la reinfección en fincas; no solo incluye las medidas esenciales para reducir la introducción del virus, sino también romper la transmisión entre fincas y disminuir el riesgo por contacto entre PI (Lindberg *et al.*, 2006). Como los animales PI son los principales diseminadores dentro y entre fincas, éstos deben identificarse y eliminarse. Las vacas que llevan un feto PI son particularmente

problemáticas y aumentan el riesgo de la reinfección en las fincas, ya que muchas de ellas presentan anticuerpos al BVDV pero gestan fetos PI. Las medidas de bioseguridad recomendadas para reducir el riesgo de infección con el BVDV incluyen comprar animales en fincas negativas para la enfermedad, comprar en fincas certificadas, diagnóstico a la compra y venta de animales, realizar cuarentenas de todos los animales nuevos en la finca y establecer linderos separados de las otras fincas (Lindberg *et al.*, 2006).

Algunos autores sostienen que es necesaria una legislación rigurosa para poder establecer programas efectivos de control contra el BVDV, donde los ganaderos que quieran vender animales deben asegurarse de declararse libres de la enfermedad, dado que el abastecimiento de fincas con vacas preñadas y el estatus desconocido frente a la infección de BVDV incrementa significativamente el riesgo de brotes de la enfermedad (Gates *et al.*, 2013).

Los programas de erradicación pueden no ser efectivos dados eventos naturales como la propagación local del virus por malas estrategias de control y el pobre compromiso de los propietarios con la bioseguridad y eliminación de PI. Un estudio en Escocia analizó datos de forma retrospectiva de 334 fincas respecto a la influencia del movimiento de animales, la propagación local y bioseguridad y su impacto en el control de la diarrea viral bovina. Se identificó que el movimiento de ganado incrementó en 3 veces el riesgo para la entrada del BVDV en estas fincas (Gates *et al.*, 2013). Países como Alemania dada su elevada prevalencia ha optado por estrategias de control y erradicación basadas en un plan esquemático de vacunación animal con el objetivo de evitar la reinfección viral, donde el propósito de la vacunación es reducir los signos clínicos, la incidencia de abortos, de muertes embrionarias y la producción de animales PI (Greiser-Wilke, Grummer e Moennig, 2003).

En Colombia se implementa un control del BVDV no sistemático, donde los métodos de control en su mayoría se basan en vacunación con biológicos inactivados o a virus vivo modificado del BVDV, desconociendo las cepas y el estado de infección de las fincas. No existen métodos establecidos de control con respecto a la bioseguridad y solo se hacen diagnósticos de PI esporádicos y de forma individual, en animales con signos clínicos de enfermedad (Vargas, 2009). La mayoría de estudios diagnostican exposición viral al

detectar la presencia de anticuerpos, pero faltan estudios de los aspectos fundamentales en su epidemiología, diagnóstico de animales PI e impacto bajo condiciones ambientales específicas (Lindberg et al, 2005). Es importante determinar que la identificación de los factores de riesgo asociados con la presentación de la enfermedad, es necesaria para poder implementar estrategias específicas de control en nuestro medio.

22 Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infeccionados con el virus de diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá

Capítulo II

Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infeccionados con el virus de Diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá

2.1 Introducción

La Diarrea Viral Bovina (BDV) es una enfermedad de distribución mundial que se considera endémica para la mayoría de poblaciones bovinas, provoca pérdidas en la salud animal por inmunocompromiso de los bovinos afectados. Se presentan signos clínicos no específicos en animales infectados compatibles con bronconeumonía, diarrea y pérdidas reproductivas (Grooms, 2006; Ståhl e Alenius, 2012).

La enfermedad es causada por el virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV), un virus RNA perteneciente al género *Pestivirus* y a la familia *Flaviviridae*. De él, se han reconocido tres genotipos (1, 2 y 3), y dos biotipos (citopático y no citopático) (Birk et al, 2008). Dentro de

este mismo género se encuentran el virus de la enfermedad de las fronteras de ovinos y la peste porcina clásica con los cuales se encuentra antigénica y genéticamente relacionados. Los distintos BVDV pertenecen a un grupo serológicamente relacionados sin diferencias antigénicas suficientes como para clasificarlos en serotipos (neetleton, 1995). Los dos biotipos del BVDV han sido clasificados según su comportamiento en cultivos celulares. El biotipo no citopático (NCP) no presenta cambios en la morfología de las células y el biotipo citopático (CP) evidencia la presencia de visualización citoplasmática y daños a la arquitectura de las células en cultivo . Se cree que las cepas CP surgen por una alteración genética a partir de NCP (Birk et al 2008, lang 2006). La importancia de los biotipos del BVDV en los programas de control de la enfermedad radica en que el NCP puede establecer una infección persistente a nivel fetal convirtiéndolo en un animal inmunotolerante al virus y en la principal fuente de infección a nivel de finca, ocasionando manifestaciones clínicas por el desarrollo de enfermedades, disminución de la producción y pérdidas económicas a nivel de finca (Peterhans *et al.*, 2010; Ridpath, 2010).

La prevalencia serológica de la enfermedad en fincas se estima entre 40 y 80 % (Kobrak, 1997). Los signos clínicos de la infección generalmente son compatibles con bronconeumonía, lesiones ulcerativas en el tracto gastrointestinal y aunque el término diarrea es prominente por el nombre de la enfermedad, las alteraciones reproductivas asociadas con el virus son más comúnmente reportadas (Moerman *et al.*, 1994). La presentación clínica de enfermedad reproductiva sucede a través de la infección directa o hacia el feto dependiendo la cepa viral y el momento de la infección en la hembra gestante. Se manifiesta con la presentación de abortos, mortalidad embrionaria, lesiones congénitas, infección persistente, infección aguda fetal con nacimiento de fetos normales o débiles. El virus NCP puede infectar hembras durante cualquier etapa de la gestación. Si ésta ocurre entre el día 25-140, momento en que el sistema inmunitario del feto no tiene aún la capacidad de montar una respuesta inmune efectiva, se desarrolla inmunotolerancia produciéndose el animal persistentemente infectado (PI) (Baker, 1995). Se ha establecido una prevalencia de animales con infección persistente que oscila entre 0,1 – 1,5 % (Houe, 1995), mientras que la proporción de hatos diagnosticados con animales PI varía entre 1% y 50%. Estos animales eliminan durante toda su vida partículas virales a través de secreciones nasales, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. La mayoría mueren antes del primer año de vida debido a problemas clínicos asociados con

trombocitopenia o enfermedades sistémicas (Fulton, 2000); algunas veces, éstos pueden llegar a ser adultos y se convierten en constantes diseminadores del virus (Baker, 1995). Los animales con infección aguda también son fuente de infección, aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por períodos cortos de tiempo (Houe, 1995).

Estudios en el continente europeo describen la prevalencia de anticuerpos a BVDV entre 17 y 86%. El plan de erradicación implementado para el control de la DVB en Noruega, Finlandia, Suecia y Dinamarca ha sido exitoso, este se basó en el control de las rutas de infección así como en la identificación y eliminación de animales PI. Los resultados de una evaluación, cinco años después, mostraron que todos estos países son libres o casi libres de la presentación del BVDV (Bitsch e Rønsholt, 1995).

La seroprevalencia en Suramérica muestra variaciones entre países, aunque en general se considera alta (40% – 70%) (Rweyemamu *et al.*, 1990). A nivel de finca países como Chile, Perú y Uruguay muestran prevalencias de 83%, 96% y 100% respectivamente (Meléndez e Donovan, 2011) (Ståhl *et al.*, 2002a); (Guarino *et al.*, 2008). Mientras que a nivel individual se reportan seroprevalencias en Venezuela 42% (Obando *et al.*, 1999), Argentina 45% (odeon, 2001) y Ecuador 36,2%. (Saa *et al.*, 2012) han sido reportadas.

La enfermedad en Colombia se reconoce desde 1975, tras el ingreso al país de novillas Holstein importadas desde Holanda con enfermedad de las mucosas (Borda, 1975). Los diferentes estudios a nivel nacional enfatizan en la prevalencia del BVDV; Sabana de Bogotá 50% y 59% (Parra, 1994; Gongora, 1995), Córdoba sucre 56% (Betancur, 2007), Cesar 46% (Peña, 2011), Pasto 32,7%(Quevedo, 2011). Existe un reporte de diagnóstico de un animal PI en Colombia, un trabajo realizado en 3 fincas de la Sabana de Bogotá con un total de 71 animales analizados. El diagnóstico fue realizado a través del cultivo de células PMN y posterior detección por inmunoperoxidasa indirecta. Este es el primer reporte de la presencia de PI en la Sabana de Bogotá con diagnóstico de PI entre 1 a 2% de la población estudiada (Jaime, 1996).

Estudios a nivel nacional frente a los factores de riesgo son escasos. En 2011 se realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra BVDV y los factores de riesgo asociados a esta infección en 10 hatos lecheros del municipio de Pasto, Nariño. En un cuestionario se recolectó la información en cada finca, donde se incluyeron variables relacionadas al ganado, salud y prácticas de manejo. Variables como tipo de reproducción (monta natural o inseminación artificial), origen de los reemplazos, eliminación de los fetos y placentas, desparasitación, vacunación, fuente de agua y Presencia de animales como ovejas, caballos, cerdos, gatos, perros fueron descartados como factores de riesgo. Se determinaron la presencia de abortos (OR= 22.70, IC: 95% (4.21, 122.42), P= 0,0001) al igual que la adquisición de nuevos animales (OR=34.90, IC 95% (6.30, 193.43). P= 0,0001) (Quevedo, 2011).

A pesar de las investigaciones sobre DVB en el país la cuales han confirmado su presencia, aún se desconocen aspectos fundamentales de su epidemiología y su impacto en nuestro medio. Las estrategias de vigilancia y control a nivel mundial están dirigidas hacia la identificación y eliminación de animales PI, mientras que en Colombia estos estudios son reducidos y son pocas las herramientas para la identificación de los mismos. Además, la correcta evaluación de factores de riesgo asociados con la presentación de la enfermedad surge como una estrategia específica para el control de la misma.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Objetivo general

Estimar la prevalencia de animales persistentemente infectados (PI) con el Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV) y determinar algunos factores de riesgo asociados con la infección y la exposición.

2.2.2 Objetivos específicos

Estimar la prevalencia de animales PI menores de 1 año e identificar algunos factores asociados a la infección persistente a nivel individual y de hato. Así mismo, Estimar la seroprevalencia del BVDV en animales menores de 1 año e Identificar algunos factores asociados a la exposición (seroprevalencia) a nivel individual y de hato.

2.2.3 Criterios de inclusión

Hembras bovinas menores de un año, provenientes de predios de lechería especializada de la Sabana de Bogotá, que lleven registros de los eventos clínicos y reproductivos de los animales.

2.2.4 Selección de animales

La población en estudio fueron hembras bovinas menores de un año dada la mayor probabilidad de encontrar animales PI en grupos etáreos jóvenes y considerando este grupo de animales como un estimador poblacional a nivel de finca.

2.2.5 Tamaño de muestra

Se utilizó un programa epidemiológico (epitools) que se basa en estimar prevalencias o demostrar ausencias de enfermedades a través de procedimientos analíticos estructurados. El tamaño muestral se estimó con base al censo bovino departamental de FEDEGAN-ICA del segundo semestre del 2012 donde se registraron 26.026 hembras bovinas menores de un año en 8.299 predios. La muestra obtenida fue de al menos 925 animales en un mínimo de 12 predios, considerando un 5% de precisión y un intervalo de confianza del 95%. Se asumió una seroprevalencia del virus a nivel de finca del 50% y a

nivel de individuos del 1 %. El estudio fue realizado en 31 hatos ubicados en 18 municipios de la sabana de Bogotá para un total de 930 animales muestreados.

2.2.6 Selección de predios

Se invitó a participar a través de una carta a ganaderos y médicos veterinarios interesados. El estudio fue realizado en 31 hatos ubicados en 18 municipios de la sabana de Bogotá, entre 2000 y 2600 msnm con temperatura promedio de 13.5 °C. Fueron seleccionadas fincas de lechería especializada con vacas en pastoreo, alimentadas con kikuyo, suplementadas con concentrado y sal mineralizada. Todas, con registros de los eventos clínicos y reproductivos de los animales.

2.2.7 Toma y recolección de muestras

Se tomaron muestras en 930 terneras menores de un año. De cada animal se obtuvo 10 ml de sangre de la vena yugular o coccígea, las cuales fueron depositadas en tubos con activador de la coagulación y gel separador. La sangre fue transportada al laboratorio en refrigeración a 4 °C, los sueros fueron separados por centrifugación a 2000 gravedades durante 10 minutos y almacenados en congelador a – 70 °C hasta su procesamiento.

2.2.8 Recolección de la información

Se realizaron dos encuestas epidemiológicas donde incluían la información individual de cada animal muestreado, así como la información de ubicación, manejo e historia sanitaria del hato. Esto, con el fin de establecer las variables que podrían ser posibles factores asociados a la exposición e infección al BVDV. Las variables que fueron incluidas en el análisis epidemiológico fueron divididas en variables individuales, manejo de hato, asociadas a parámetros reproductivos y de conocimiento de la enfermedad. Las variables incluidas fueron categóricas en su mayoría, casi todas dicótomas (0=NO y 1=SI) descritas a continuación.

2.2.8.1 Variables individuales

Las variables incluidas contenían información tomada a cada animal muestreado, incluyendo datos de ubicación (municipio) así como el registro individual de los eventos clínicos sucedidos; Animal vacunado (si - no), tipo de vacuna (muerta – virus vivo modificada), historia de enfermedad respiratoria (si - no), historia de signos de diarrea (si - no), histórico de aborto en la madre (si - no), procedencia (criado o comprado).

2.2.8.2 Variables asociadas al manejo del ható

Las variables asociadas eran en su mayoría de característica dicótoma y relacionaban preguntas con la bioseguridad y manejo interno del ható. Variables con respuesta de Si o No incluían información como: Movilización de animales entre fincas, vacunación en terneras, novillas, toros y terneros, cría de reproductores, venta y compra de hembras para reproducción, así como el nacimiento de animales con defectos al nacimiento, otras variables eran tipo de ható (abierto – cerrado) o tipo de vacuna utilizada (virus muerto – virus vivo modificado).

2.2.8.3 Variables Asociadas a Parámetros Reproductivos

Las variables asociadas a parámetros reproductivos a nivel de ható fueron categorizadas en porcentajes desde 0 hasta 100 % e incluían información de los eventos clínicos reproductivos presentes en los hatos. Concepciones por monta natural, vacas en el ható que abortan antes y después de 50 días, tasa de preñez por inseminación o por monta natural, animales concebidos a través de monta natural, inseminación o transferencia de embriones, nacimiento de animales prematuros o mortinatos, momificaciones fetales y retención de placenta fueron las variables asociadas incluidas en la encuesta.

2.2.8.4 Variables asociadas al conocimiento del BVDV

Las variables asociadas al conocimiento del BVDV incluían preguntas como: Sospecha de tener DVB en el hato, diagnóstico de BVDV durante el último año, cuándo adquiere animales realiza pruebas para diagnóstico de enfermedades infecciosas y realiza pruebas para diagnóstico de enfermedades infecciosas en sus propios animales.

2.2.9 Pruebas diagnósticas utilizadas

Para la identificación de animales PI se utilizó el ensayo inmuno enzimático (ELISA) para la detección del antígeno del Virus de la Diarrea Viral Bovina a partir de muestras de suero mezcladas en pool de 3 individuos (HerdChek*BVDV Ag/Suero Plus – IDEXX). (Bedeković *et al.*, 2012) con una sensibilidad y especificidad de 99.6 % y 100% respectivamente. Cada pool positivo fue evaluado individualmente para identificar el animal PI. Esta prueba diagnóstica emplea un anticuerpo monoclonal específico para el antígeno E^{rns} de los pestivirus como anticuerpo detector, combinado con un conjugado del HRPO-estreptavidina. La Glucoproteína E^{rns} constituye una diana óptima para la detección del BVDV en muestras de suero (Kampa et al, 2007) y también de tejido (Kuhne et al, 2005), ya que existe tanto en formas secretadas como intracelulares en las células infectadas (Rumenapf et al, 1993). El status de infección persistente fue confirmado con un muestreo posterior y análisis por TR - PCR en los animales sobre los cuales se logró hacer seguimiento.

Para la estimación de la seroprevalencia de Ac contra BVDV p80 la prueba diagnóstica que se usó fue: ELISA para la detección de anticuerpos del Virus de la Diarrea Viral Bovina a partir de muestras de suero (IDEXX BVDV p80 Ab Test), con una sensibilidad y especificidad de 99.7% y 100% respectivamente. Cabe mencionar que la prueba diagnóstica detecta anticuerpos frente la proteína p80, está basado en el principio de competición entre el anticuerpo bovino y una peroxidasa unida a un anticuerpo monoclonal anti-p80 “WB 112”. En ningún caso, tiene la capacidad de detectar los anticuerpos consecuencia de la vacunación a virus muerto.

En el caso de HerdChek*BVDV Ag/Suero Plus – IDEXX la reacción es válida, cuando los valores medios de densidad óptica del control negativo DO (450nm) $< 0,200$ y la media control positivo – media control negativo (P-N) $P-N \geq 0,300$; La presencia o ausencia del BVDV se determina calculando el cociente del resultado de la muestra sobre el control positivo para cada muestra y el resultado es considerado positivo cuando el cociente es $> 0,15$ y negativo cuando el cociente $< 0,15$.

La validación de la prueba de detección de anticuerpos IDEXX BVDV p80 Ab Test está dada si la media del control negativo (CN \bar{x}) tiene un valor mínimo medio de OD 450 de 0,800 y si el porcentaje M/N del control positivo es inferior al 20%. Considerando los animales positivos con M/N $> 40\%$ y los animales negativos con resultados M/N $> 40\%$.

2.2.10 Análisis estadístico

La información recolectada fue analizada a través de estadística de frecuencias y estadística descriptiva. El análisis de los factores asociados con la presentación de animales PI y aquellos asociados con la exposición y la seroprevalencia se realizó inicialmente a través de un análisis univariado, para establecer la asociación de cada variable con el resultado de las pruebas diagnósticas utilizando tablas de contingencia de 2x2. Se reportaron los Odds Ratios con sus respectivos los intervalos de confianza del 95%. Se utilizó el criterio de Hosmer-Lemeshow ($p < 0,25$) para seleccionar las variables que entraron al modelo final de regresión logística binaria, Se reportaron los intervalos de confianza del 95%. Adicionalmente todo valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Una vez seleccionadas las variables se incluyeron en un modelo de regresión logística binaria donde se evaluaron factores de confusión a través de la comparación entre los Odds Ratio (OR) crudos y ajustados, también se incluyeron posibles términos de interacción como la edad y la vacunación previa. La fortaleza de la asociación se estimó a través del cálculo del OR con sus intervalos de confianza del 95%, en todos los casos

un valor $p < 0,05$ se consideró como estadísticamente significativo. Los datos fueron analizados utilizando SPSS versión 20.0 (IBM, statistics).

2.3 Resultados

2.3.1 Características de los hatos

El estudio se realizó en 31 hatos lecheros ubicados en 18 municipios de la Sabana de Bogotá, entre 2000 y 2600 msnm con temperatura promedio de 13.5 °C. Todos los animales fueron mantenidos en condiciones de pastoreo, alimentadas con pasto Kikuyo, suplementadas con concentrado y sal mineralizada. La mayoría de hatos con inventario menor a 200 animales por predio (71%) y con poblaciones animales distribuidas en terneras, levante, novillas de vientre, vacas de producción y horro. Algunos hatos incluían toros como reproductores o repasadores (48,4%).

Todos los hatos contaban con un sistema de registro de la información del manejo de los eventos clínicos y reproductivos de los animales. Se pudo establecer que el porcentaje de hatos abiertos fue de (48,4%) o cerrados (51,6%), que movilizan animales entre hatos (61,3%), que compran de animales para reproducción (25,8%), que venden animales para reproducción (54,8%), que vacunan contra BVDV (77,4%) con virus muerto (67,7%) o con virus vivo modificado (9,7%), que realizan pruebas diagnósticas de enfermedades reproductivas en los animales de las fincas (80,6%), así como la obtención de información frente a eventos reproductivos, el 90,3% de los hatos con el porcentaje animales concebidos por inseminación artificial entre 50 y 100% y con porcentaje de pérdidas embrionarias entre 0 y 25%, el 87,09 % de hatos con retenciones de placenta reportada entre 0 y 25% y el 45,2% reportaron animales con defectos al nacimiento (Tabla 8).

Las terneras eran manejadas en grupos dependiendo la edad. Normalmente, durante los 4 primeros 4 meses eran manejadas amarradas por separado en estacas en un potrero o en salacuna, después de los 4 meses lo común era agruparlas en potreros.

Tabla 8. Estadística descriptiva del manejo a nivel de hato en 31 predios analizados

Variable	Categoría	n	Porcentaje %
Fincas positivas a la prueba de Antígeno de DVB	Si	7	22,6
	No	24	
Fincas positivas a la prueba de detección de Anticuerpos contra DVB	Si	26	83,9
	No	5	
Número total de animales en la finca	> 200 animales	9	29
	< 200 animales	22	
Toros para reproducción	Si	15	48,4
	No	16	
% Concepción por monta natural	0 - 50%	29	93,5
	50 - 100%	2	
Tipo de hato	Abierto	15	48,4
	Cerrado	16	
Fuente de agua de bebida	Acueducto	16	51,61
	Pozo profundo	10	
	Vallado	3	
	Rio	2	
Movilización de animales entre fincas	Si	19	61,3
	No	12	
Vacunación contra BVDV	Si	24	77,4
	No	7	
Vacuna terneras y novillas	Si	24	77,4
	No	7	
Vacuna toros y terneros	Si	24	77,4
	No	7	
Tipo de vacuna	No aplica	7	22,6
	Muerto	21	67,7
	Virus vivo modificado	3	
Perdida gestacional antes del día 42	0 a 50%	28	90,3

34 Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infectados con el virus de diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá

	50 a 100%	3	
Cría de reproductores	Si	11	35,5
	No	20	
% Compra de animales el último año	0 a 50%	26	83,9
	50 a 100%	5	
Vende hembras para reproducción	Si	17	54,8
	No	14	
Compra hembras para reproducción	Si	8	25,8
	No	23	
Realiza pruebas para diagnóstico de enfermedades infecciosas en sus propios animales	Si	25	80,6
	No	6	
% Animales concebidos por Monta Natural	0 a 50%	29	93,5
	50 a 100%	2	
% Animales concebidos por IA	50 a 100%	28	90,3
	0 a 100%	3	
% Animales concebidos por Trasferencia de Embriones	0 a 50%	30	96,7
	50 a 100%	1	
Diagnóstico de BDV durante el último año de su Hato	Si	10	32,2
	No	21	
Sospecha de tener BDV en el hato	Si	20	64,5
	No	11	
Pérdida gestacional antes 50 días	0 a 25%	28	90,3
	26 a 50%	3	
Pérdida gestacional antes 270 días	0 a 25%	28	90,3
	26 a 50%	3	
Retención de placenta	0 a 25%	27	87,09
	26 a 50%	4	
Nacimiento de animales con defectos	Si	14	45,2
	No	17	

2.3.2 Características individuales de los animales

En los 31 hatos enrolados en esta investigación se muestrearon un total de $n = 930$ animales, a cada animal se tomó información individual respecto a la vacunación contra BVDV (29,7%), histórico de diarrea (15,6%), neumonía (8,4%) o información acerca de la madre como aborto histórico de la misma (15,8%). A partir de esta información, se realizaron análisis estadísticos con el fin de identificar algunos factores asociados con la infección persistente y con la exposición al virus de DVB (Tabla 9).

Tabla 9. Prevalencia de los eventos clínicos de las terneras menores a 12 meses muestreados ($n=930$)

Evento Clínico	Categoría	Frecuencia (n)	Prevalencia (%)
Vacunada contra DVB	Si	276	29,7
	No	654	
Historia de Neumonía	Si	78	8,4
	No	852	
Historia de Diarrea	Si	145	15,6
	No	785	
Madre con Historia de aborto	Si	147	15,8
	No	783	

2.3.3 Diagnóstico de infección persistente con el virus de Diarrea Viral Bovina (Animales PI)

Se detectaron 7 grupos (pool) Ag positivos provenientes de 7 hatos diferentes, estos sueros fueron nuevamente evaluados a nivel individual obteniendo el diagnóstico individual de los animales Ag positivo.

De un total de $n= 930$ se identificaron 7 animales positivos a la prueba de antígenos. El status de infección persistente fue confirmado con un muestreo posterior y análisis por TR - PCR en los animales sobre los cuales se logró hacer seguimiento. Esto corresponde a una prevalencia individual de animales PI de 0,8% en 7 de 31 fincas muestreadas, prevalencia a nivel de hato de 22,6% (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados de la prueba de ELISA para la detección de Ag contra BVDV en terneras menores a 12 meses en hatos de la Sabana de Bogotá

Persistentemente Infectados	N	Positivos	Prevalencia %
Individuos	930	7	0,8
Hato	31	7	22,6

2.3.4 Factores asociados con la infección persistente de BVDV a nivel de hato

Algunas variables de manejo a nivel de hato pueden ser de consideración al momento de conocer sobre la epidemiología de los animales PI. Todos los hatos incluidos en el estudio que tuvieron animales PI, evidenciaron exposición al virus y presentaron una prevalencia serológicas de Ac entre 2 -26 %, mientras en los hatos que no tuvieron diagnóstico de animales PI (77,4%), presentaron una prevalencia de anticuerpos al BVDV p80 que varió entre 0- 90%. De los 21 hatos que vacunaban con virus muerto contra BVDV, 6 presentaron animales positivos a PI, los 3 hatos que vacunaban con virus vivo modificado no presentaron diagnóstico de animales PI y en 7 que no vacunaban hubo 1 diagnóstico de PI.

En los 7 hatos con diagnóstico positivo de animales PI hubo reportes de ocurrencia mortalidad embrionaria en las vacas hasta un 50% y de aborto hasta un 25 %, En el estudio no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el manejo de hatos en los que se diagnosticó animales PI versus manejo de hatos que no tuvo este diagnóstico ($P > 0,05$) (Tabla 11).

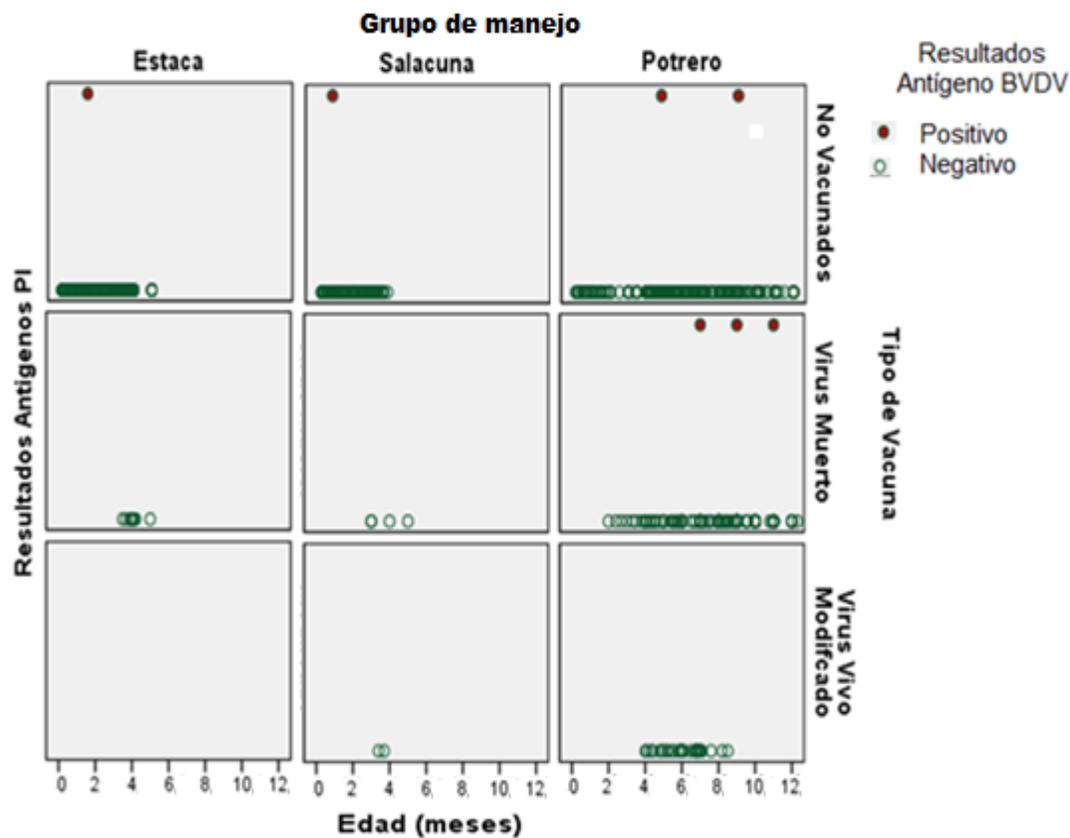
Tabla 11. Resultados del análisis univariado del manejo de hato con animales PI versus hatos sin animales PI.

Variable	Categoría	Hato con animal PI	Hato sin animales PI	OR	IC 95%	valor P
Presencia de anticuerpos	No	0	7			
	si	7	17	0,7	0,61 – 2,96	0,166
Seropositividad de Ac en hatos	> 26%	0	6			
	<26%	7	18	0,7	0,61 – 2,96	0,166
Tipo de hato	Cerrado	3	13			
	Abierto	4	11	1,3	0,24 – 7,4	0,742
Moviliza Animales	No	3	9			
	Si	4	15	1,2	0,59 – 2,4	0,593
Vacuna	No	1	6			
	Si	6	18	0,85	0,57 -1,26	0,484
Mortalidad embrionaria	0 - 50%	7	21			
	50 - 100 %	0	3	0,9	0,73 – 1,02	0,302
Aborto	0 -25%	6	22			
	25 - 50%	1	2	1,6	0,12 – 21,7	0,694
Vende hembras para reproducción	No	3	11			
	Si	4	13	1	0,49 – 2,14	0,927
Compra hembras para reproducción	No	6	17			
	Si	1	7	2,2	0,32 – 15,1	0,366
Diagnóstico BVDV en el último año	No	5	18			
	Si	2	6	0,9	0,24 - 3,7	0,947
Defectos de animales al nacimiento	No	2	15			
	Si	5	9	0,6	0,28 – 1,13	0,159

2.3.5 Factores asociados con la infección persistente a BVDV a nivel individual

De los (n=7) animales PI diagnosticados, 2 eran menores de 4 meses, de estos, 1 era criado amarrado en estaca y otro en salacuna, los demás, eran manejados en grupos de animales sueltos en potrero. Tres de los animales PI eran mayores de 5 meses y fueron vacunados con virus muerto, los otros 4 no tenían reporte de vacunación previa al muestreo, en los hatos que vacunaban con virus vivo modificado no hubo diagnóstico de animales PI (Figura 2).

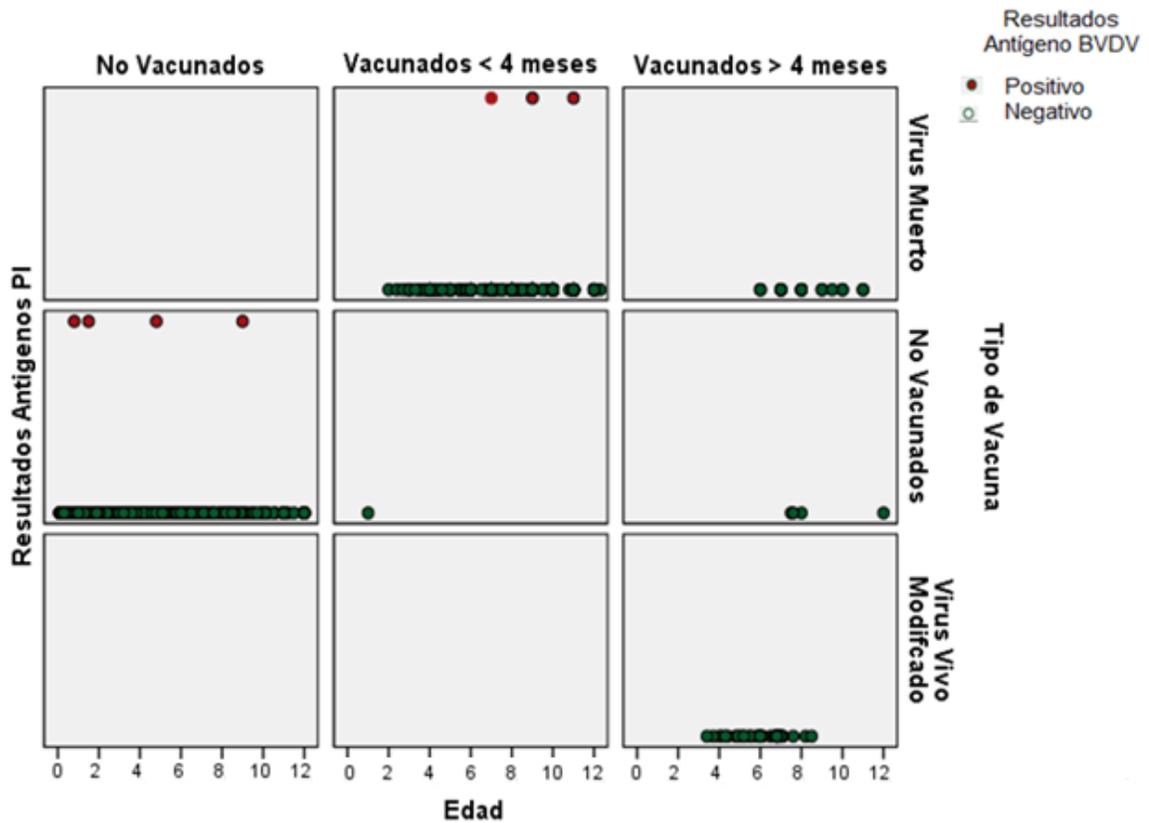
Figura 2. Distribución de animales con infección persistentes (PI) al virus de DVB con relación al momento de vacunación, sistema de manejo y a la edad



En el presente estudio, seis de los 7 hatos en los que se diagnosticaron animales PI vacunaban con virus muerto, tres de los animales diagnosticados como PI habían sido

vacunados hacia menos de 4 meses y los otros 4 no habían sido vacunados al momento del muestreo. (Figura 3)

Figura 3. Distribución de animales con infección persistente (PI) al BVDV con relación al momento de vacunación, tiempo de vacunación y a la edad



En el análisis univariado de las variables individuales asociadas a la infección persistente a DVB no se observaron variables asociadas con la infección persistente al BVDV en el presente estudio $p > 0.05$ (Tabla 12).

Tabla 12. Análisis univariado de la información individual para estimar las variables asociadas a la infección persistente a BVDV en terneras menores de 12 meses en la sabana de Bogotá

Variable	Categoría	n	Animales BVDV-PI	OR	IC 95%	Valor P
Resultado Anticuerpos	No	678	0			
	Si	252	7	0,7	0,09 – 0,35	0,105
Edad	< 4 meses	540	5			
	>4 meses	390	2	1,8	0,35 – 9,39	0,472
Vacunación	No	654	4			
	Si	276	3	1,7	0,39 – 8,03	0,444
Madre con Historia de Aborto	No	783	7			
	Si	147	0	0,8	0,81 – 0,86	0,25
Historia de Diarrea	No	785	7			
	Si	145	0	0,8	0,82 – 0,86	0,25
Historia de Neumonía	No	852	1			
	Si	78	6	1,8	0,2 – 15,4	0,57

IC=Intervalo de confianza del 95%

OR=Odds ratio

P < 0,05

Los resultados del modelo de regresión logística binaria no mostraron variables asociadas a la infección persistente al BVDV a nivel individual, tampoco se observaron términos de interacción presentes en el modelo (Tabla 13).

Tabla 13. Resultados de la Regresión logística, variables individuales asociadas a la infección persistente a DVB en terneras menores de 12 meses en la Sabana de Bogotá

Variable	Categoría	OR	IC95%	Valor P
Edad	< 4 meses	0,9	0,13 - 6,58	0,951
	> 4 meses			
Madre con Historia de aborto	Si	-----	0,000	0,996
	No			
Historia de Diarrea	Si	-----	0,000	0,996
	No			

IC=Intervalo de confianza 95%

OR=Odds ratio

P < 0,05

2.3.6 Prevalencia de anticuerpos al BVDV

Se incluyeron un total de 930 animales, provenientes de 31 hatos lecheros en la Sabana de Bogotá, de estos, fueron positivos a la prueba diagnóstica (IDEXX BVDV p80 Ab) 252 animales en 26 fincas, reflejando una prevalencia de anticuerpos en individuos promedio de 27,1% (rango entre 0- 90 %) y en hatos de 83,9% (Tabla 14).

Tabla 14. Resultados a la prueba de ELISA para la detección de Anticuerpos contra BVDV

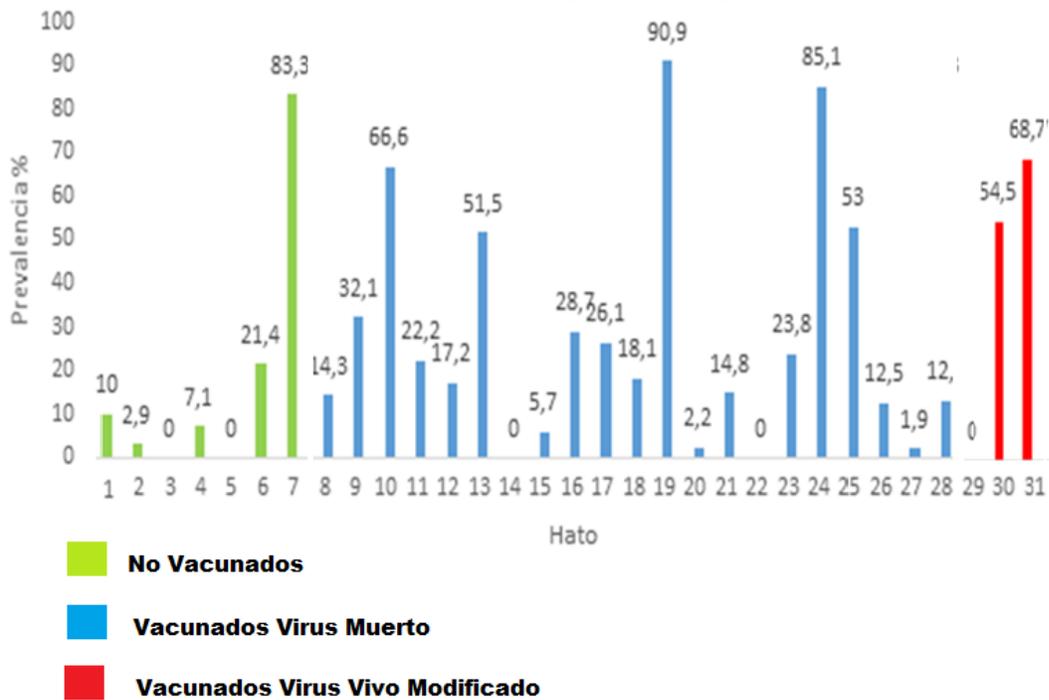
Resultado Ac	N	Positivos	Prevalencia %
Individuos	930	252	27,1
Hato	31	26	83,9

2.3.7 Distribución de anticuerpos BVDV y la relación con la vacunación y la edad

El diagnóstico de animales positivos está dado por exposición viral, anticuerpos maternos o vacunación a virus vivo modificado. Este último, es el menos probable ya que solo 17 de 930 animales fueron vacunados con este tipo de vacuna, la prueba diagnóstica identifica anticuerpos P80 y no detecta los anticuerpos producto de vacunaciones a virus muerto realizada en el 67,8% de los hatos.

Los hatos vacunados y no vacunados presentaron una prevalencia de anticuerpos al BVDV, con un rango entre 0 al 90% (Figura 4).

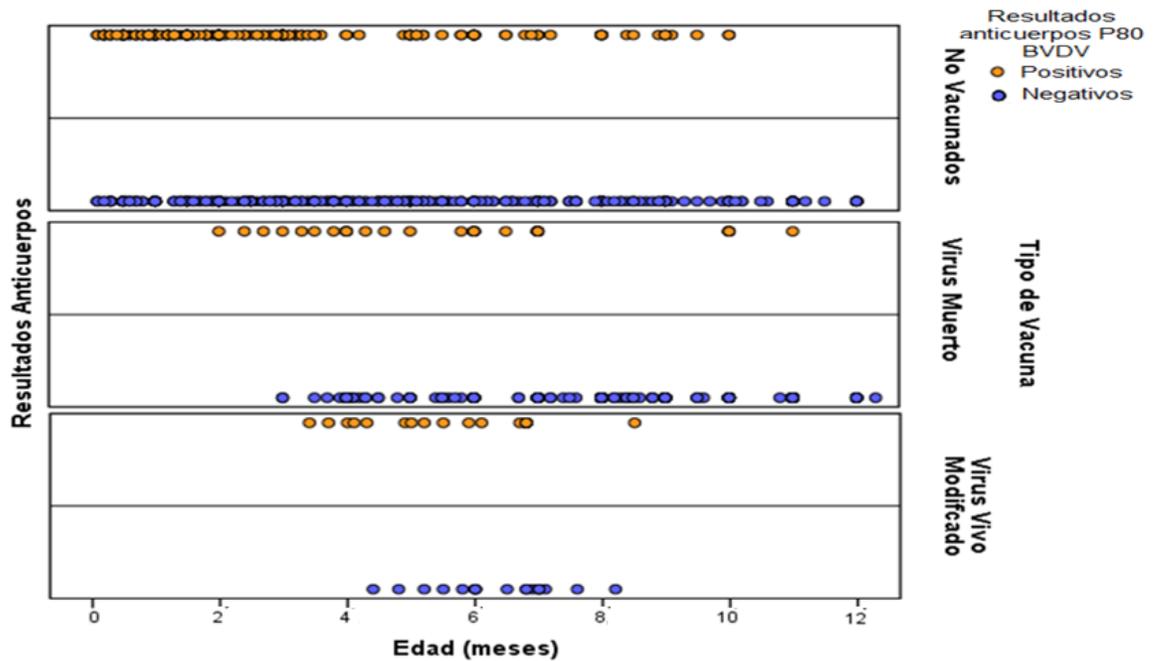
Figura 4. Distribución de Prevalencia de anticuerpos contra BVDV p80 en hatos vacunados con virus muerto, vivo modificado y en hatos que no vacunan



24 (77,4 %) de los 31 hatos vacunaban como medida de prevención contra los signos producidos por BVDV, de estos, 3 hatos vacunaban con virus vivo modificado (12,5%), y 21 hatos lo hacían con vacunas a virus muerto (87,5%). De los 930 animales muestreados, 654 (70,3%) no estaban vacunados al momento del muestreo y 276 (29,7%) animales

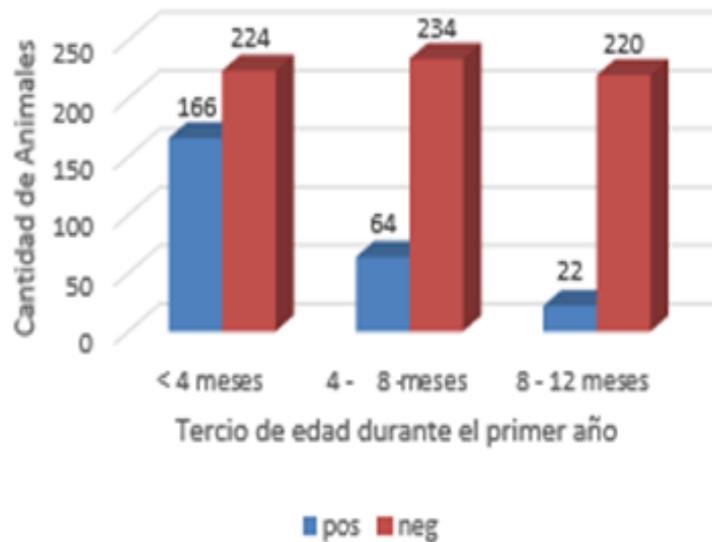
fueron vacunados, de estos, 238 (86,2%) fueron con vacunas a virus muerto y 38 (13,8%) con virus vivo modificado (Figura 5).

Figura 5. Distribución de anticuerpos BVDV con relación con el tipo de vacuna y la edad a la cual se vacunaron



390 animales muestreados eran menores de 4 meses, 298 animales estaban entre 4 y 7,9 meses y 242 eran mayores de 8 meses, cada grupo resultó en una seropositividad del 42,56 %, 21,47 % y 9 % respectivamente. La seroprevalencia de BVDV en el estudio evidenció una proporción (42,56%) de animales positivos a anticuerpos más elevada durante los primeros 4 meses de edad (Figura 6).

Figura 6. Distribución de los Resultados de la Prueba de Anticuerpos a BVDV con relación a la edad.



2.3.8 Factores asociados con la seroprevalencia de Ac al BVDV a nivel de hato

En el estudio no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el manejo de hatos en los que se diagnosticó Ac contra el BVDV p80 versus el manejo de hatos que fueron negativos a la prueba diagnóstica ($P > 0,05$) (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados del análisis univariado del manejo de hato con diagnóstico positivo versus hatos con diagnóstico negativo a la prueba de Ac BVDV

Variable	Categoría	Hato con Ac BVDV	Hato sin Ac BVDV	OR	IC 95%	valor P																																																																																																
Animales positivos a la prueba de antígeno (DVB-PI)	No	19	5	1,4	1,08 – 1,72	0,187																																																																																																
	Si	7	0				Tipo de hato	Cerrado	14	2	0,6	0,08 - 4	0,570	Abierto	12	3	Moviliza Animales	No	9	3	2,8	0,39 – 20,1	0,286	Si	17	2	Vacuna	No	5	2	2,8	0,36 – 21,4	0,309	Si	21	3	Mortalidad embrionaria	0 - 50%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	50 - 100 %	3	0	Aborto	0 -25%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	25 - 50%	3	0	Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217	si	13	4	Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4
Tipo de hato	Cerrado	14	2	0,6	0,08 - 4	0,570																																																																																																
	Abierto	12	3				Moviliza Animales	No	9	3	2,8	0,39 – 20,1	0,286	Si	17	2	Vacuna	No	5	2	2,8	0,36 – 21,4	0,309	Si	21	3	Mortalidad embrionaria	0 - 50%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	50 - 100 %	3	0	Aborto	0 -25%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	25 - 50%	3	0	Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217	si	13	4	Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3						
Moviliza Animales	No	9	3	2,8	0,39 – 20,1	0,286																																																																																																
	Si	17	2				Vacuna	No	5	2	2,8	0,36 – 21,4	0,309	Si	21	3	Mortalidad embrionaria	0 - 50%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	50 - 100 %	3	0	Aborto	0 -25%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	25 - 50%	3	0	Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217	si	13	4	Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																
Vacuna	No	5	2	2,8	0,36 – 21,4	0,309																																																																																																
	Si	21	3				Mortalidad embrionaria	0 - 50%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	50 - 100 %	3	0	Aborto	0 -25%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	25 - 50%	3	0	Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217	si	13	4	Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																										
Mortalidad embrionaria	0 - 50%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424																																																																																																
	50 - 100 %	3	0				Aborto	0 -25%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424	25 - 50%	3	0	Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217	si	13	4	Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																																				
Aborto	0 -25%	23	5	1,1	0,98 – 1,29	0,424																																																																																																
	25 - 50%	3	0				Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217	si	13	4	Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																																														
Vende hembras para reproducción	No	13	1	0,3	0,025 – 2,5	0,217																																																																																																
	si	13	4				Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746	si	7	1	Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																																																								
Compra hembras para reproducción	No	19	4	1,5	0,14 – 15,1	0,746																																																																																																
	si	7	1				Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686	si	8	2	Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																																																																		
Diagnóstico BVDV en el último año	No	18	3	0,7	0,93 – 4,79	0,686																																																																																																
	si	8	2				Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818	si	17	3	Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																																																																												
Sospecha de tener BVDV en el hato	No	9	2	1,3	0,17 -8,96	0,818																																																																																																
	si	17	3				Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476	si	11	3																																																																																						
Defectos de animales al nacimiento	No	15	2	0,5	0,069 – 3,4	0,476																																																																																																
	si	11	3																																																																																																			

2.3.9 Factores asociados a la seroprevalencia de anticuerpos contra BVDV a nivel individual

cuatro variables fueron asociadas con la exposición al BVDV en el análisis univariado: La edad – menores de 4 meses (OR= 3,9, IC:95% (2,88 – 5,31) P= 0,001), vacunación (OR= 1,6, IC: 95%(0,35 – 0,7) P= 0,001), historia de diarrea (OR= 2,4, IC: 95%(1,62 – 3,37) P= 0,010) y el histórico de aborto en la madre (OR= 5,6, IC: 95%(3,9 – 8,16) P= 0,001) (Tabla 16).

Tabla 16. Análisis univariado de las variables individuales asociadas a la exposición al BVDV

Variable Individual	Categoría	OR	IC 95%	Valor P
Resultado de la prueba de Antígeno	Negativo			
	Positivo	3,0	0,37 – 24,2	0,105
Edad	> 4 meses			
	< 4 meses	3,9	2,88 – 5,31	0,0001
Vacunación contra DBV	No			
	Si	0,5	0,35 – 0,70	0,0001
Tiempo desde que fue vacunado	< 6 meses			
	> 6 meses	0,88	0,31 – 2,24	0,80
Madre con Historia de aborto	No			
	Si	5,6	3,9 – 8,16	0,0001
Historia de Diarrea	No			
	Si	2,4	1,62 – 3,37	0,0001
Historia de Neumonía	No			
	Si	0,8	0,52 – 0,132	0,44

IC=Intervalo de confianza 95%
OR=Odds ratio P < 0,05

Los resultados del modelo multivariado de regresión logística mostraron que la edad en los animales menores de 4 meses (OR= 4,9, IC: 95% (2,52 -9,56) P: 0,001), aborto histórico

de la madre (OR: 6,4, IC: 95% (3,91 – 10,46) P: 0,001) y la diarrea (OR= 2,6, IC: 95% (1,58 – 4,46) P= 0,010), resultaron asociados con la exposición al BVD; tampoco se observaron términos de interacción presentes en el modelo (Tabla 17).

Tabla 17. Factores asociados con la exposición al BVDV en terneras menores de 12 meses provenientes de la Sabana de Bogotá

Variable	Categoría	OR	IC95%	Valor P
Edad	> 4 meses			
	< 4 meses	4,9	2,52 -9,56	0,0001
Madre con Historia de aborto	No			
	Si	6,4	3,91 – 10,46	0,0001
Historia de Diarrea	No			
	Si	2,6	1,58 – 4,46	0,010

IC=Intervalo de confianza 95%

OR=Odds ratio

P < 0,05

2.4 Discusión

Considerando que la identificación y eliminación de animales DVB-PI es fundamental para el control efectivo de la enfermedad y aunque su prevalencia es relativamente baja, su impacto en la patogénesis y la transmisión del BVDV es de suma importancia. Es esencial para el país reconocer e identificar estos individuos con fines de control y prevención de la enfermedad. La prevalencia de animales PI en el estudio fue de 0,8 %, diagnosticados en el 22,6 % de los hatos incluidos en el estudio, ratificando lo reportado en la literatura de 0,5 – 1,5% para individuos (Houe, 1995; Tinsley, 2012) y hasta el 50% para hatos (Tinsley, 2012). Estos resultados demuestran la presencia de animales PI en la población estudiada y apoyan los resultados de investigaciones anteriores como el diagnóstico de animales PI realizado a través del cultivo de células PMN y posterior detección por inmunoperoxidasa indirecta reportado en la Sabana de Bogotá (Jaime, 1996). El diagnóstico positivo a la prueba de Ag contra BVDV en cualquier caso podría indicar infección viral aguda en cada uno de los animales, esto podría ser descartado realizando un segundo muestreo con un

intervalo mínimo de 4 semanas, tiempo en el cual un animal con infección aguda ha disminuido la secreción de partículas virales, contrario al animal PI donde la secreción viral es de manera continua. En el estudio se logró hacer seguimiento en animales positivos a la prueba de detección de Ag (ELISA) y su estado de infección persistente fue confirmado a través de la prueba de TR - PCR. Los animales PI son conocidos como los únicos reservorios naturales del virus, y cobran importancia en la epidemiología de la enfermedad ya que una vez han desaparecido los anticuerpos maternos o colostrales ellos pueden eliminar grandes cantidades del virus durante toda su vida a través de sus secreciones (Houe, 1995;). Aunque los animales PI pueden ser fenotípicamente normales y llegar a la madurez, se ha estimado una probabilidad de supervivencia del 50%, asumiendo que ellos mueren antes del primer año de vida por ser susceptibles a patologías típicas de edades tempranas en terneros como diarrea y neumonía (Baker, 1995). En el estudio no se observaron animales PI enfermos al momento del muestreo, hubo un reporte histórico de signos de neumonía en 1 de los 7 animales PI. Con estos resultados, no se pudo establecer una relación causal con la presentación de estas entidades clínicas en el estudio, debido quizás al reducido número de animales diagnosticados, lo cual resultó en que el modelo de regresión logística no logró identificar asociaciones causales con el resultado positivo a la prueba de antígeno para identificar animales PI.

Los animales PI fueron diagnosticados a través de la detección de antígeno E^{rns} del BVDV por medio de una prueba de ELISA utilizando grupos de sueros de 3 animales, donde el resultado positivo debía ser confirmando individualmente a través de correr todas las muestras de un grupo. Un estudio reportó que era posible y seguro el uso de ELISA para captura de Ag en grupos de hasta 5 sueros, este resultado permite incrementar la cobertura de muestras a la vez que disminuye los costos asociados al diagnóstico, sin afectar el valor diagnóstico de la prueba (Bedečković *et al.*, 2012). De otro modo, es conocido que la sensibilidad de la prueba de Elisa detección de Ag es afectada por los anticuerpos maternos (Zimmer *et al.*, 2004), sin embargo, 2 de los 7 animales diagnosticados como PI, eran menores de 4 meses, El hecho de detectar persistentemente infectados de forma temprana permite prevenir los efectos a largo plazo de la presencia de la principal fuente de infección a nivel de hato.

En todos los hatos incluidos en el presente estudio que tuvieron animales PI (n=7), se pudo observar exposición al virus de los animales ya que presentaban anticuerpos contra el BVDV. Sin embargo, y de manera sorprendente, la presencia de animales PI no resultó asociada a la prevalencia serológica ($P > 0,05$), debido quizás a la baja prevalencia de animales PI (0,8%), lo cual afectó el tamaño de la muestra utilizada en el análisis estadístico. Sin embargo, ha sido reportado que la presencia de un animal PI aumenta el riesgo de transmisión viral dependiendo de la posibilidad de que se realicen contactos eficientes con animales PI (Greiser-Wilke 2003), esta situación no fue observada en el estudio, ya que en los hatos donde se detectaron animales PI se observó una prevalencia serológica más baja (2-26%) que en aquellos hatos sin diagnóstico de animales PI y donde la prevalencia serológica alcanzó hasta el 90%, esto, pudo haber sucedido por el poco tiempo de exposición al animal PI o el diagnóstico de estos antes de los 4 meses de edad ya que se ha reportado la presencia de Ac maternos puede disminuir la cantidad y el tiempo de excreción de partículas virales por parte de estos (Zimmer *et al.*, 2004; Fux e Wolf, 2012). Adicionalmente, pudo influir el tipo de manejo y la baja posibilidad de contacto con los animales PI al momento del muestreo ya que los animales estaban manejados amarrados individualmente en estaca o en salacuna o recientemente reunidos con otros animales en potrero. En los hatos que tienen elevada prevalencia de anticuerpos y no se detectaron animales PI, se debe sospechar de la circulación viral producto de exposición directa al virus y no se podría descartar la presencia de PI en los demás grupos etáreos ya que estos pueden llegar a la madurez sin mostrar signos clínicos de la enfermedad (Greiser-Wilke, 2003). Otras características de manejo de los hatos con diagnóstico de animales PI fue que en todos se reportó mortalidad embrionaria en un 50 % de las vacas, abortos hasta un 25% y en 5 de 7 hatos reportaron el nacimiento de animales con defectos y aunque no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$) deben ser tenidas en cuenta en términos del conocimiento de la presentación de la enfermedad, ya que similares efectos negativos de la infección con BVDV sobre la reproducción han sido reportados (Blanchard *et al.*, 2010).

A diferencia de la mayoría de estudios reportados en el país, el presente estudio fue realizado utilizando muestras provenientes de animales menores de un año y los anticuerpos detectados pueden sugerir exposición viral a nivel de campo, presencia de

anticuerpos maternos transmitidos por el calostro o el efecto de la vacunación con virus vivo modificado (Zimmer *et al.*, 2004), este último, es el menos probable ya que solo el 1,8 % de los animales (17/ 930) fueron inmunizados con este tipo de vacuna. La prueba diagnóstica utilizada detecta la proteína P80 del virus, la cual es una proteína no estructural, presente en el biotipo citopático y que se expresa cuando hay exposición o replicación viral, no detectando los anticuerpos provenientes de vacunación a virus muerto (Jimmy, 1993; Lambot *et al.*, 1997). La prevalencia promedio de anticuerpos a nivel de individual en el estudio fue de 27,1 %, resultado menor en comparación con los estudios realizados a nivel nacional en animales adultos donde se han reportado resultados en la Sabana de Bogotá de 50%, 59% y 83% (Parra, 1994; Gongora, 1995; Jaime, 1996), Córdoba sucre 56% (Otte, 1985), Cesar 46% (Peña, 2011), Pasto 32,7% (Quevedo, 2011), Caquetá (Cruz, 2014) 35,5% (motta, 2012), Boyacá 55,1%(Cruz, 2014). Así mismo, el 83,87% de los hatos analizados en el estudio tuvieron diagnóstico positivo de Acs, similar a lo reportado en diferentes estudios donde la prevalencia va desde 40 % hasta 80 % (Kobrak, 1997). Pudo suceder ya que se estimó prevalencias en animales jóvenes menores de un año, además, la prueba diagnóstica no detecta anticuerpos vacunales de virus muerto.

La edad en animales menores de 4 meses como factor asociado a la prevalencia serológica al BVDV en el estudio (OR= 4,9, IC 95% (2,52 - 9,56), P= 0,001), puede atribuirse a una exposición viral o con la presencia de anticuerpos maternos como consecuencia de exposición de la madre al virus (Muñoz-Zanzi *et al.*, 2002), estos pueden ser transmitidos a través del calostro y permanecer en hasta los 4 - 6 meses de vida en la mayoría de los casos (Zimmer *et al.*, 2004). Sin embargo, otros autores reportan que pueden persistir hasta los 8 a 12 meses (Muñoz-Zanzi *et al.*, 2002;). En el presente estudio, esta tendencia se mantuvo y por ello, los animales menores de 4 meses estuvieron asociados con una mayor proporción de animales positivos a la prueba de anticuerpos. Posterior a este tiempo se observó una disminución en la proporción de animales positivos lo cual que puede estar relacionado con la disminución de los anticuerpos calostrales (Muñoz-Zanzi *et al.*, 2002). Algunos autores sugieren que la seguridad de la detección de animales con o sin infección siendo estos jóvenes debe ser entre 8 a 12 meses, ya que a esta edad son normalmente libres de anticuerpos maternos contra BVDV y están expuestos a una infección aguda (Houe, 1995; Sandvik, 1999). Ya

sea por anticuerpos maternos o por contacto directo con el virus, los resultados de seroprevalencia de anticuerpos demostraron exposición de los animales en los hatos al BVDV.

Los animales seropositivos provenientes de una madre con histórico de aborto estuvieron asociados con la exposición al virus de la BVDV, con más posibilidades de presentar anticuerpos comparados con animales sin esta historia (OR= 6,4, IC 95% (3,91 – 10,46) P = 0,001). El aborto es una consecuencia reproductiva de la infección aguda por BVDV). Algunos autores han demostrado los efectos negativos de la infección viral y su impacto en términos de reproducción dependiendo del momento de infección representado en mortalidad embrionaria, abortos, presentación de lesiones congénitas, infección aguda fetal con nacimiento a término o nacimientos de terneros débiles, además de la infección persistente (Moerman *et al.*, 1994; Grooms, 2006; Blanchard *et al.*, 2010).

La historia presentación de diarrea en los animales fue uno de los factores asociados con la exposición al BVDV que incrementa la posibilidad de presentar anticuerpos contra el virus, comparados con los que no presentan este histórico de diarrea (OR= 2,6, IC 95% (1,58 – 4,46), P= 0,010). Algunos autores sugieren que el BVDV posee relación directa con la enteritis en terneros, causando atrofia de las vellosidades duodenales e inflamación de la mucosa en el intestino. Así mismo, reportan que su interacción con el rotavirus bovino puede resultar en una enfermedad entérica más severa (Brodersen *et al.*, 1998; Kelling *et al.*, 2002). Aunque se ha reportado la diarrea como una característica clínica de la enfermedad (Ridpath, 2010), se debe profundizar la investigación sobre la asociación con el BVDV ya que existen múltiples agentes etiológicos que pueden ser responsables de la presentación de esta entidad clínica y que no fueron evaluados en el presente estudio. (Baker, 1995).

Los programas de vacunación tienen como objetivo aumentar la inmunidad a nivel del hato, reducir el impacto de las manifestaciones clínicas de la enfermedad y la circulación viral (Newcomer *et al.*, 2015), En el estudio se observó una variación en la prevalencia de anticuerpos en los hatos vacunados desde 0 - 90%, mientras que la prevalencia en hatos no vacunados estuvo entre 0 - 83%,(P>0.05) las comparaciones son difíciles dada la

importancia del manejo de la bioseguridad en cada hato pero en cualquier caso la exposición viral puede ser causada por contacto con animales que poseen infección aguda o con animales PI. Hatos no vacunados y vacunados con virus muerto y negativos a la prueba diagnóstica contra BVDV p80 pueden sugerir ausencia de infección (Houe, 1995; Sandvik, 1999),

Es muy importante anotar que debido a que este es un estudio de prevalencia, los resultados deben ser interpretados con precaución dado que son un único muestreo sin seguimiento en el tiempo, pero pueden servir como base para el diseño de un estudio de cohorte que permita de manera más precisa estimar factores de riesgo para la enfermedad. El estudio permitió establecer una prevalencia de animales PI individual y de hato de 0,8 % y 22,6 % respectivamente. Además sugiere la posibilidad de realizar grupos de muestras de varios animales en pool sin afectar los resultados de la prueba, maximizando las posibilidades de diagnóstico y reduciendo los costos asociados. Finalmente, se observaron los siguientes factores asociados con la exposición: la edad en animales menores de 4 meses (OR= 4,9 IC: 95% (2,52 -9,56), P= 0,001), aborto histórico (OR= 6,4 IC: 95% (3,91 – 10,46) P=0,001), prevalencia mayor al promedio de seropositividad en hato (OR= 17,3 IC: 95% (11,32 – 26,50) P= 0,001) y la diarrea (OR= 2,6 IC: 95% (1,58 – 4,46), P= 0,010),

En Colombia no existe un programa de control oficial o de erradicación del BVDV. Por ello es importante avanzar en el estudio de la epidemiología e identificación del estado infección y exposición para ejecutar medidas efectivas y así disminuir las pérdidas económicas por las consecuencias clínicas de la enfermedad.

Conclusiones y recomendaciones

1.1 Conclusiones

- La distribución mundial de la Diarrea Viral Bovina, la prevalencia del virus en la mayoría de estudios realizados y su impacto negativo en las ganaderías, hacen de este un patógeno de importancia en la salud de los bovinos. El primer requisito para planear un programa de erradicación y control es el conocimiento del status infeccioso a nivel regional. Para el estudio la prevalencia de animales PI en la Sabana de Bogotá fue de 0,8 % (7/930) en el 22,6% de las fincas analizadas (7/31). Esto demuestra la circulación viral en nuestro medio y fortalece la importancia del diagnóstico de animales PI ya que son considerados la principal fuente de infección en las fincas.
- Este estudio estableció factores asociados al riesgo de exposición al BVDV dependiendo de un único resultado (prevalencia de antígenos y anticuerpos). Para el caso de los animales PI, La identificación de factores asociados fue difícil dada su baja prevalencia (0,8%), haciendo que el análisis estadístico fuera no significativo en las variables analizadas.
- La presencia de anticuerpos contra la proteína P80 del BVDV es consecuencia de la exposición viral, la presencia de anticuerpos maternos o la vacunación con virus vivo modificado. La prevalencia de estos en el estudio fue de 27,1 % diagnosticados en el 83,9 % de fincas analizadas, demostrando así exposición viral en los animales de la mayoría de las fincas incluidas en el estudio.
- Para evaluar los factores asociados a la exposición viral se usó la respuesta de anticuerpos al BVDV por parte de los animales, La edad en animales menores de 4 meses presentan asociación a la presencia de anticuerpos contra BVDV p80

(OR= 4,9, IC: 95% (2,52 -9,56) P= 0,001), esto puede obedecer a la presencia de infección viral o la presencia de anticuerpos maternos consecuencia de exposición de la madre al virus, estos últimos pueden ser transmitidos a través del calostro y permanecer en el animal en promedio hasta los 4 a 6 meses de vida en la mayoría de los casos.

- Los efectos negativos de la exposición en términos de alteraciones reproductivas estuvieron asociadas en el estudio. El hecho de que la madre del animal muestreado hubiera presentado historial de aborto incrementó 6,4 veces el riesgo de presentar Ac al virus (OR= 6,4, IC: 95% (3,91 – 10,46) P= 0,001). mostrando que donde hay mayor circulación viral puede haber asociación con los efectos negativos en reproducción.
- La historia de presentación de diarrea en los animales es un factor asociado a la exposición al BVDV e incrementa la posibilidad de presentar anticuerpos al virus (OR: 2,6, IC: 95% (1,58 – 4,46), P= 0,010), comparados con los que no presentan este histórico de diarrea. Existen múltiples agentes etiológicos que pueden ser responsables de la presentación de esta entidad clínica, condiciones de atención al neonato y de salud de hato pueden prevenir esta patología y no necesariamente estar relacionada con BVDV.
- Se evidenció en el estudio menor seroprevalencia de anticuerpos en animales vacunados, esto puede reflejar la disminución de la circulación y exposición viral en las fincas donde se realiza vacunación como método para aumentar la inmunidad del hato y disminuir las manifestaciones clínicas de la enfermedad (P= 0,001).

1.2 Recomendaciones

Este estudio epidemiológico se basó en el diagnóstico de animales PI y seroprevalencia de anticuerpos relacionando variables de manejo como posibles factores asociados a su presentación. El conocimiento de la epidemiología de la Diarrea viral Bovina y de nuestro status infeccioso es vital para ejecutar planes que permitan establecer programas de control, y erradicación, por esto, es necesario realizar más investigaciones en diagnóstico y factores asociados a la presentación de la enfermedad.

Continuar con el estudio sobre el virus de la Diarrea Viral Bovina, específicamente en el diagnóstico y eliminación de animales PI es necesario para reducir el impacto en fallas reproductivas y pérdidas económicas para las fincas infectadas, teniendo en cuenta que los factores de riesgo asociados a la enfermedad pueden ser puntos críticos en el control de la misma.

Conocer los factores que pueden estar asociados a la exposición del BVDV, nos puede permitir tomar medidas de control y mitigación del impacto por la infección de la misma, los resultados del presente pueden servir como base para el diseño de un estudio de cohorte que permita estimar de manera más precisa factores de riesgo para la enfermedad

Realizar estudios donde se pueda estimar el costo beneficio del diagnóstico y eliminación de animales PI, así como el efecto de la vacunación en el control de la disminución del impacto negativo de la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Baker JC., 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* v. 11, n. 3, p. 425-45.
2. Barlow RM.; Nettleton PF.; Gardiner AC.; Greig A.; Campbell JR.; Bonn JM., 1986. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in a bull. *Vet. Rec.* v. 118 p. 321–324.
3. Bedekovic T.; Jemersic L.; Lojkic I.; Lemo N.; Keros T.; Balatinac J.; Brnic D.; Ivkovic T.; Madic J., 2012. Bovine viral diarrhoea: Ag ELISA and reverse transcription polymerase chain reaction as diagnostics tools in pooled serum samples from persistently infected cattle *Veterinarski arhiv.* v. 82 n. 3. P. 295-301.
4. Betancur H.; Gogorza LM.; Martinez FG., 2007. Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina en Montería (Cordoba, COLOMBIA). *Analeca veterinaria.* v 27: p. 11-16.
5. Birk A.; Dubovi E.; Gohen –Gould L.; Donis R.; Szeto H.; citoplasmic vacuolization responses to citopathic bovine viral diarrhea virus. *Virus Research* 2008. V. 32 p. 76-85.
6. Bitsch V.; Ronsholt L., 1995. Control of bovine viral diarrhea virus infection without vaccines. *Vet Clin North Am Food Anim Pract,* v. 11, n. 3, p. 627-40.
7. Bolin SR.; McClurkin AW.; Cutlip RC.; Coria MF., 1985. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus by superinfection with cytopathogenic bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Res.* v. 46 p. 573–576.
8. Bolin S. R.; Ridpath J F., 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves. *Am J Vet Res,* v. 53, n. 11, p. 2157-63.
9. Blanchard PC.; Ridpath JF.; Walker JB.; Hietala SK., 2010. An outbreak of late-term abortions, premature births, and congenital deformities associated with a Bovine viral diarrhea virus 1 subtype b that induces thrombocytopenia. *J Vet Diagn Invest.* V. 22 p. 128–131
10. Borda A. 1975. Diarrea viral bovina en terneros y terneras procedentes de Holanda. Tesis de pregrado, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
11. Braun U.; Schweiz A. T., 1997. Epidemiologic studies of the occurrence of bovine virus diarrhea/mucosal disease in 2892 cattle in 95 dairy farms. v. 139, n. 4, p. 172-6.

12. Brodersen B W.; Kelling CL., 1998. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infection on respiratory tract and enteric diseases in calves. *Am J Vet Res*, v. 59, n. 11, p. 1423-30.
13. Brownlie J., 2013. Controlling BVD. *Vet Rec*, v. 172, n. 14, p. 371.
14. Brownlie J.; Clarke M C.; Howard CJ., 1984. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet. Rec.* v.114 p. 535–536.
15. Burbano C.; Vera V.; Ramirez G., 2006. Detección de biotipos del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) a través de RT-PCR. *Revista Medicina Veterinaria*. N. 11, p. 7 - 14.
16. Cruz, A.; Figueredo G. M.; Medrano K G.; Martinez JA. 2014. Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y el Virus de Diarrea Viral Bovina y su relación con el desempeño reproductivo de hembras bovinas del municipio de Oicatá (Boyacá). *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. V. 9. p. 238 -47.
17. Deregt D.; Loewen KG., 1995. Bovine viral diarrhoea virus: biotypes and disease. *Can. Vet. J.* v. 36 p. 371–377.
18. Dubovi, E. J., 2013. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals*, v. 41, n. 1, p. 8-13.
19. Felmer R.; Zuñiga J.; Lopez A.; Miranda H., 2009. Prevalencia y distribución espacial de brucelosis, leucosis bovina, diarrea viral bovina y rinitis infecciosa bovina a partir del análisis ELISA de estanques prediales en lecherías de la IX Región, Chile. *Arc. Medicina Veterinaria*. v. 41. p.17- 26.
20. Fourichon C.; Beaudeau F.; Bareille N.; Seegers H., 2005. Quantification of economic losses consecutive to infection of a dairy herd with bovine viral diarrhoea virus. *Prev Vet Med*, v. 72, n. 1-2, p. 177-81.
21. Fray, M. D.; Paton, D. J.; Alenius, S., 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Animal Reproduction Science*, v. 60–61, n. 0, p. 615-627.
22. Fredriksen B.; Sandvik T.; Loken T.; Odegaard SA., 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec*, v. 144, n. 5, p. 111-4.
23. Fulton RW.; Purdy CW.; Confer AW.; Saliki JT.; Loan RW.; Briggs RE.; Burge LJ., 2000. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza*3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Canadian journal of veterinary research*. v. 64 p. 151 – 159.

24. Gard J A.; Givens MD.; Stringfellow DA., 2007. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): epidemiologic concerns relative to semen and embryos. *Theriogenology*, v. 68, n. 3, p. 434-42.
25. Gates, M. C.; Wollhouse M.E.J.; Gunn G.J.; Humphry R.W. 2013. Relative associations of cattle movements, local spread, and biosecurity with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) seropositivity in beef and dairy herds. *Prev Vet Med*, v. 112, n. 3-4, p. 285-95.
26. Gongora A.; Villamil LC.; Vera V.; Ramirez G.; Parra JL.; Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de la Sabana de Bogotá. Énfasis en rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB). *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*: 37 - 42 p. 1995.
27. Greiser-Wilke, I.; Grummer, B.; Moennig, V., 2003. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. *Biologicals*, v. 31, n. 2, p. 113-8.
28. Griffiths. Factores de infertilidad y pérdidas económicas en ganado de leche en Colombia: División de Disciplinas Pecuarias ICA 1982
29. Grooms D. L., 2006. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, v. 66, n. 3, p. 624-8.
30. Guarino H.; Nuñez A.; Repiso MV.; Gil A.; Dargatz DA., 2008. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 85, n. 1-2, p. 34-40.
31. Hoar BR.; McQuarry AC.; Hietala SK., 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy-breed steers in a feedlot. *J Am Vet Med Assoc*. v. 230 n.7 p. 1038-43.
32. Houe H., 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, v. 11, n. 3, p. 521-47.
33. Houe H., 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*. v. 64 p.89 – 107
34. Huamán J C.; Rivera H.; Arainga M.; Gavidia C.; Manchego A. 2007, Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche de la irrigación de Majes, Arequipa. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, v. 18, p. 141-149.
35. Jaime J.; Villamil LC.; Vera V.; Ramírez GC., 1996. Infección persistente con el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos lecheros de la Sabana de Bogotá. *Revista De La Facultad De Medicina Veterinaria Y De Zootecnia*. v.49 p. 46 – 53.

36. Jimmy K.; Travis L.; Roman L.; Hruska US., 1993. Development of a Method for the Serological Differentiation Between Animals Either Vaccinated with Killed Virus Vaccine or Infected by Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV). Meat Animal Research Center: 340 p.
37. Kampa J.; Stahl K.; Renstrdm LHM.; Alenius S., 2007. Evaluations of a comercial E^{rns} capture ELISA for detection of BVDV in routine diagnostic cattle serum samples. *Acta Veterinaria Scandinava*, 49 :7
38. Kelling CL.; Steffen DJ.; Cooper VL.; Higuchi DS.; Eskridge KM., 2002 Effect of infection with bovine viral diarrhoea virus alone, bovine rotavirus alone, or concurrent infection with both on enteric disease in gnotobiotic neonatal calves. *Am J Vet Res.* v. 63 n.8 p. 1179-86
39. Kobrak A.; Webwe EL., 1997. Bovine diarrhoea virus: an update. *Rev. Argent. Microbiol.* v 29. p. 47-61.
40. Kuhne S.; Schoeder C.; Holmquist G.; Wolf G.; Homer S.; Brem G.; Ballagi A. 2005. Detección of bovine viral Diarrhoea virus infected cattle – testing tissue samples derived for eartagging using an E^{rns} capture ELISA. *J Vet Med B infect Dis Vet Public Health.* v. 52, n. 6, p. 272 – 277.
41. Laureyns, J.; Ribbens, S.; de Kruijff, A., 2010. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. *Vet J*, v. 184, n. 1, p. 21-6.
42. Lindberg, A.; Houe, H., 2005. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control. *Prev Vet Med*, v. 72, n. 1-2, p. 55-73.
43. Lindberg A.; Brownlie J.; Gunn GJ.; Houe H.; Moenning V.; Saatkamp HW.; SandvikT.; Valie PS., 2006. The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. *Rev Sci Tech off int epiz*, v. 25, n. 3, p. 961-79.
44. Mainar R. C.; Berzal B.; Arias P.; rojo F.A., 2001. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral-diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev Vet Med*, v. 52, n. 1, p. 63-73.
45. Makoschey B.; Janssen MGJ.; Vrijenhoek MP.; Korsten JHM.; Marel PVD., 2001. An inactivated bovine virus diarrhoea virus (BVDV) type 1 vaccine affords clinical protection against BVDV type 2. *Vaccine*, v. 19, n. 23-24, p. 3261-8.
46. Mendigaña C.; Vera V.; Villamil C.; jaime J., 1994. Caracterización proteica de cepas colombianas citopáticas y no citopáticas del virus de la Diarrea Viral Bovina. v.42 p. 52-57.

47. Meyling A.; Jensen A., 1988. Transmission of Bovine Virus Diarrhoea Virus (BVDV) by artificial insemination with semen from a persistently – infected bull. *Veterinary Microbiology*. V. 17. p. 97 – 105.
48. Moen A.D.; Sol J.; Sampimon O. 2005. Indication of transmission of BVDV in the absence of persistently infected (PI) animals. *Prev Vet Med*, v. 72, p. 93 -98.
49. Moennig V.; Houe H., Lindberg A., 2005. BVD con in Europe: current status and perspectives *Animal Health Research*. V. 6 n.1 p.63–74.
50. Moerman A.; Straver P.J.; Jong MCM.; Quak J.; Baanvinger TH.; Oirschot JT., 1994. Clinical consequences of a bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd: A longitudinal study. *Veterinary Quarterly*, v. 16, n. 2, p. 115-119.
51. Motta J.L.; Waltero I.; Abeledo M. A.; Fernandez O. 2012. Estudio retrospectivo de agentes infecciosos que afectan la reproducción bovina en el departamento del Caquetá, Colombia. *Revista de salud animal*. 34: p. 159 -164.
52. Muñoz-Zanzai C.; Thurmond M.; Hietala S., 2004. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. *Theriogenology* v. 61. p. 1085-1099.
53. Muñoz-Zanzi CA.; Thurmond MC.; Johnson WE.; Hietala SK., 2002. Predicted ages of dairy calves when colostrum derived bovine viral diarrhoea virus antibodies would no longer offer protection against disease or interfere with vaccination. v. 221, n. 5, p. 678-85.
54. Nettleton P.F.; Entrican G., 1995. Ruminant Pestiviruses. *Br. Vet. J.* v. 151. p. 615–642.
55. Newcomer B.W.; Walz P.H.; Givens M.D.; Wilson A.E. 2015. Efficacy of bovine viral diarrhoea virus vaccination to prevent reproductive disease: a meta-analysis. *Theriogenology*, v. 83, n. 3, p. 360-365.
56. Nickell, J S.; White B J.; Larson R L.; Renter D G.; Sanderson M W., 2011. A simulation model to quantify the value of implementing whole-herd Bovine viral diarrhoea virus testing strategies in beef cow-calf herds. *J Vet Diagn Invest*, v. 23, n. 2, p. 194-205.
57. Odeon A.C.; Spath E.J.A.; Paloma E.J.; Leunda M.R.; Fernandez I.J.; Perez S.E.; Kaiser G.G.; Draghi M.G.; Cetra B.M.; Cano A., 2001. Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, Herpesviruso Bovino y Virus Sincitial Respiratorio en Argentina. *Revista de medicina Veterinaria*. v. 82 n. 42 p. 216-20.
58. Obando R.C.; Hidalgo M.; Merza M.; Montoya A.; Klingeborn B.; Lopez M., 1999. Seroprevalence to bovine virus diarrhoea virus and other viruses of the bovine

respiratory complex in Venezuela (Apure State). Preventive Veterinary Medicine, v. 41, n. 4, p. 271-278.

59. Parra JL.; Vera VJ.; Villamil LC.; Ramirez GC. Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina en explotaciones lecheras de la sabana de Bogotá. Revista medicina veterinaria y zootecnia p. 29-44
60. Parra J. Influencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina (DVB) y de la coinfección con el virus de leucosis bovina, leptospira y rinotraqueitis bovina infecciosa (IBR) sobre la producción en ganado de leche. Universidad Nacional de Colombia 1994.
61. Paton DJ., 1995. Pestivirus Diversity. J. Comp. Path. v. 112 p. 215–236.
62. Peña L.F. 2011. Estudio serológico de diarrea viral bovina en la microrregión delvalle del cesar. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* aica 1 p. 309 – 12.
63. Peterhans E.; Bachofen C.; Stalder H.; Schweizer M., 2010. Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. Vet Res, v. 41, n. 6, p. 44.
64. Polak M P.; Zmudzinski j F., 1999. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in bulls in artificial insemination centers in Poland. Vet Microbiol, v. 64, n. 2-3, p. 253-7.
65. Quevedo C.; Benavides B.; Cardenas G.; Herrera C., 2011. Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVBV in dairy herds in Pasto, Colombia, in 2011. Revista Lasallista de Investigación. V. 8 n.2. p. 61-8.
66. Ridpath, J F., 2010. Bovine viral diarrhoea virus: global status. Vet Clin North Am Food Anim Pract, v. 26, n. 1, p. 105-21.
67. Ridpath JF., 2015. Emerging pestiviruses infecting domestics and wildlife host. Animal health research reiew. v.16 n. 1 p. 55-59
68. Rondon I., 2006. Diarrea Viral Bovina: Patogénesis e inmunología. Rev MVZ Córdoba v.11 n.1 p. 694 – 704.
69. Rossmanith, W.; Janacek, R.; Wilhelm, E., 2005. Control of BVDV-infection on common grassland--the key for successful BVDV-eradication in Lower Austria. Prev Vet Med, v. 72, n. 1-2, p. 133-7.
70. Rumenapf T.; Linger G.; Strauss JH.; Thiel H-J. 1993. Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. J Virol. v. 67, n.6, p. 3288 - 94

71. Rweyemamu MM.; Fernandez AA.; Espinosa AM.; Shudel AA.; Lager IA.; Mueller SBK., 1990. Incidencia, epidemiología y control del Virus de la Diarrea Viral Bovina en Sur América. *Rev Sci Tech*, v. 9, n. 1, p. 207-21.
72. Saa L. R.; Perea A.; Bocanegra I.; Arenas AJ.; Jara DV.; Ramos R.; Carbonero A., 2012. Seroprevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. *Trop Anim Health Prod*, v. 44 p. 645-9.
73. Smith, A. K.; Grimmer, S. P., 2000. Birth of a BVDV-free calf from a persistently infected embryo transfer donor. *Vet Rec*, v. 146, n. 2, p. 49-50.
74. Sandvik, T., 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet Microbiol*, v. 64, n. 2-3, p. 123-34.
75. Sarrazin S.; Veldhuis A.; Meroc E.; Vangeel I.; Laureyns J.; Dewulf J.; Caij AB.; Piepers S.; Hooyberghs J.; Ribbens S.; Van Der Stede Y., 2013. Serological and virological BVDV prevalence and risk factor analysis for herds to be BVDV seropositive in Belgian cattle herds. *Prev Vet Med*, v. 108, n. 1, p. 28-37.
76. Ståhl K.; Rivera H.; Vagsholm I.; Moreno J., 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 56, n. 3, p. 193-202.
77. Ståhl, K.; Alenius, S., 2012 BVDV control and eradication in Europe--an update. *Jpn J Vet Res*, v. 60 p. S31-9.
78. Tinsley, M.; Lewis, F. I.; Brülisauer, F., 2012. Network modeling of BVD transmission. *Vet Res*, v. 43, n. 1, p. 11.
79. Vargas D.S.; Jaime J.; Vera V.; 2009. Perspectivas para el control del virus de la Diarrea Viral Bovina. *Rev colombiense de ciencias pecuarias*. v. 22 p. 677 -688
80. Vera V.; Parra J.; Ramirez G., et al., 1992. El virus de la DVB como agente contaminante en cultivo de tejidos animales. *Revista Biomédica, Instituto Nacional de Salud*. 12: p. 10 -14.
81. Voges H.; Horner GW.; Rowe S.; Wellenberg GJ.; 1998. Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non-viraemic bull. *Vet. Microbiol*. v. 61 p. 165–175.
82. Wittum TE.; Grotelueschen DM.; Brock KV.; Kvasnicka WG.; Floyd JG.; Kelling CL.; Odde KG., 2001. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in US beef herds. *Prev Vet Med*, v. 49, n. 1-2, p. 83-94.
83. Zimmer G. M.; Van maanen C.; De Goey I.; Brinkhof J.; Wentink G.H., 2004. The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Vet Microbiol*, v. 100 p. 145-9.