

**Factores asociados a la presentación de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos
bovinos del municipio de Tauramena, Casanare 2015**

Estudiantes

Laura Yaneth Cifuentes Sánchez

Laura Andrea Hurtado Ibáñez

**Trabajo de grado para optar por el título de Bacteriólogo y Laboratorista
Clínico**



**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de ciencias de la salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D.C.
2019**

**Factores asociados a la presentación de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos
bovinos del municipio de Tauramena, Casanare 2015**

Estudiantes

Laura Yaneth Cifuentes Sánchez

Laura Andrea Hurtado Ibáñez

Asesora interna

MSc. Johanna Marcela Moscoso Gama

Asesora externa

Paula Alejandra Luque Isaza

Bacterióloga y laboratorista clínico



**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de ciencias de la salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D.C.
2019**

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación lo dedicamos principalmente a nuestros padres por su amor, trabajo y sacrificio en estos años. Gracias a ellos hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que hoy somos. También por acompañarnos y por el apoyo moral que nos brindaron a lo largo de esta etapa de nuestras vidas. A todas las personas que nos han apoyado y han hecho que este trabajo se realice con éxito, en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecemos a nuestra familia por habernos dado la oportunidad de formarnos en esta prestigiosa universidad y haber sido un gran apoyo durante este tiempo.

Agradecemos a nuestras asesoras, Johanna Moscoso y Paula Luque, por la dedicación y apoyo que nos brindaron para el desarrollo de este trabajo, por el respeto a nuestras sugerencias e ideas.

Asimismo, agradecemos al laboratorio Zoolab por confiar en nosotras, abrirnos las puertas y permitirnos realizar todo el proceso investigativo, brindándonos todas las herramientas necesarias y por haber compartido sus conocimientos.

Queremos agradecer a nuestros jurados: Ruth Páez, Ingrid Pinillos y Alejandro Castaño por la dedicación y el tiempo para realizar todas las observaciones y recomendaciones necesarias que aportaron a nuestro trabajo final.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. ANTECEDENTES.....	4
3. MARCO TEÓRICO	8
3.1 Historia.....	8
3.2 Agente etiológico	8
3.2.1 Taxonomía.....	8
3.2.2 Propiedades y características del virión	9
3.2.3 Genotipos y biotipos	10
3.3 Transmisión de la enfermedad.....	11
3.3.1 Transmisión vertical.....	11
3.3.2 Transmisión horizontal.....	12
3.4 Patogénesis	13
3.5 Respuesta inmune	15
3.6 Manifestaciones clínicas	17
3.6.1 Infección aguda	17
3.6.2 Síndrome hemorrágico	19
3.6.3 Infección congénita.....	20
3.6.4 Infección persistente (PI).....	21
3.6.5 Enfermedad de las mucosas (EM)	22
3.7 Factores de riesgo	24
3.8 Diagnóstico	27
3.9 Vacunas	29
3.10 Epidemiología en Colombia	30
3.11 Epidemiología en América Latina.....	31
4 OBJETIVOS.....	32
4.1 Objetivo general	32
4.2 Objetivos específicos	32
5 METODOLOGÍA.....	33
5.1 Tipo de estudio.....	33
5.2 Población	¡Error! Marcador no definido.
5.4 Tamaño de la muestra	33

5.5 Recolección de la información	33
5.6 Toma y recolección de muestras	33
5.7 Pruebas diagnósticas.....	35
5.8 Programas utilizados	35
5.10 Variables.....	36
5.11 Criterios de exclusión.....	37
5.12 Criterios de inclusión.....	37
5.13 Técnica de análisis	37
6 RESULTADOS	38
7 DISCUSIÓN.....	55
8. CONCLUSIONES.....	61
9. RECOMENDACIONES	62
10. REFERENCIAS.....	63
ANEXOS	77

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características sociodemográficas por veredas de la población bovina incluida en el estudio	39
Tabla 2. Características sociodemográficas por raza y sexo de la población bovina incluida en el estudio	40
Tabla 3. Características sociodemográficas por edad en meses de la población bovina incluida en el estudio	41
Tabla 4. Pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnova para variables cuantitativas (edad en meses)	42
Tabla 5. Seropositividad para el Virus de Diarrea Viral Bovina mediante la técnica ELISA.....	43
Tabla 6. Seropositividad (Re categorizada) para el Virus de Diarrea Viral Bovina mediante la técnica ELISA.....	43
Tabla 7. Variables ambientales y de infraestructura incluidas en la encuesta epidemiológica.....	45
Tabla 8. Análisis descriptivo según la variable (propósito) del ganado bovino incluido en el estudio.....	46
Tabla 9. Análisis descriptivo según el tipo de explotación del ganado bovino incluido en el estudio.....	46
Tabla 10. Asociación de seropositividad del VDVB con variables ambientales y de infraestructura.....	47
Tabla 11. Asociación de seropositividad del VDVB con las variables de sexo y raza de los bovinos incluidos en el estudio.....	48
Tabla 12. Asociación de seropositividad del VDVB con las variables de tipo de explotación y propósito de los bovinos incluidos en el estudio	48
Tabla 13. Asociación de seropositividad del VDVB con edad en meses	48
Tabla 14. Prueba de muestras independientes para la edad en meses	49
Tabla 15. Muestras positivas para el VDVB discriminadas por mes.....	49
Tabla 16. Casos agrupados por veredas y el número de animales seropositivos y seronegativos con respecto al total de bovinos muestreados.....	51
Tabla 17. Resumen del modelo de regresión logística	52
Tabla 18. Clasificación de la variable seropositividad según el modelo de regresión logística.....	52
Tabla 19. Variables en la ecuación incluidas en el estudio de regresión logística ...	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síndromes de la infección con VDVB.....	11
Figura 2. Descarga ocular purulenta y conjuntivitis.	18
Figura 3. Descarga nasal y congestión hemorrágica.....	18
Figura 4. Fetos abortados entre los 4 y 6 meses de gestación.	21
Figura 5. Detección de Anticuerpos mediante la técnica ELISA.....	28
Figura 6. Sexo de la población bovina incluida en el estudio.	40
Figura 7. Raza de la población bovina incluida en el estudio	41
Figura 8. Frecuencias de edad en meses de la población bovina	42
Figura 9. Resultados para VDVB mediante la técnica de ELISA.....	44
Figura 10. Resultados (Re categorizados) para VDVB mediante la técnica ELISA.	44
Figura 11. Muestras seropositivas para VDVB por mes	50
Figura 12. Porcentaje de seropositividad para VDVB por mes en Tauramena, Casanare.....	50
Figura 13. Gepreferenciación según seropositividad del VDVB en veredas de Tauramena, Casanare.....	55

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Total de bovinos por municipio en el año 2016	61
Anexo 2. Formato de encuesta realizada a los los dueños de los bovinos del municipio de Tauramena, Casanare	63
Anexo 3. Kit comercial de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB)	66
Anexo 4. Montaje del ensayo de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).....	66
Anexo 5. Reacción colorimétrica del ensayo de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).....	67
Anexo 6. Lectura del ensayo de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) mediante el programa Gen 5 versión 2.05.....	67
Anexo 7. Encuesta diligenciada por los dueños de los bovinos del municipio de Tauramena, Casanare.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
DVB	Diarrea Viral Bovina
VDVB	Virus de la Diarrea Viral Bovina
PI	Persistentemente Infectados
Ac	Anticuerpos
EM	Enfermedad de las mucosas
Ag	Antígenos
CP	Citopático
NCP	No Citopático
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
OR	Odds Ratio
IC	Intervalo de Confianza
FEDEGAN	Federación Colombiana de Ganaderos
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
TI	Transitoriamente infectados
IFN	Interferón
IHQ	Inmunohistoquímica
PP	Placas de Peyer
CD	Células dendríticas
TLAM	Tejido linfoide asociado a mucosas
TLAI	Tejido linfoide asociado a intestino
CPA	Células presentadoras de antígeno
Ig	Inmunoglobulinas
PPY	Placas de peyer yeyunales
PPI	Placas de peyer ileales

CMH	Complejo mayor de histocompatibilidad
NK	Natural Killer
Hpb	Haptoglobina
CDF	Células dendríticas foliculares
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal

RESUMEN

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) hace parte de la familia *Flaviviridae*, del género *Pestivirus*. Es caracterizado por su gran variabilidad genómica; tiene dos genotipos, varios subgrupos genómicos y dos biotipos: citopático (CP) y no citopático (NCP). Presenta una distribución mundial, es capaz de desarrollar diferentes presentaciones clínicas en las que afecta la salud de bovinos, agente causal del complejo diarrea viral bovina/enfermedad de las mucosas, entre otras, generando importantes pérdidas económicas. Mediante este estudio descriptivo, analítico de corte cuyo objetivo fue determinar la seropositividad y posibles factores asociados a la presentación del VDVB en un total de 2000 bovinos provenientes de diferentes predios distribuidos en 23 veredas del municipio de Tauramena, Casanare. Los datos se obtuvieron a través de una encuesta epidemiológica. Se utilizó una prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra VDVB, la descripción de las variables se realizó mediante análisis univariado, análisis bivariados con las pruebas estadísticas chi cuadrado y regresión logística para posibles factores de asociación. La seropositividad promedio del VDVB fue del 31,9% y los factores asociados a la presentación del VDVB fueron: la presencia de un río, presencia de aljibe, ser de raza bovina pura y animales destinados al tipo de explotación intensivo. Este estudio permitió evidenciar que la DVB prevalece en los hatos bovinos de las diferentes veredas del municipio e identificar factores asociados a la presentación de la misma, lo cual contribuye al conocimiento de la enfermedad en el municipio de Tauramena, Casanare.

Palabras Claves: Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), epidemiología, seropositividad y factores asociados.

1. INTRODUCCIÓN

El departamento del Casanare, es el segundo departamento con mayor hato bovino en Colombia, el cual es eminentemente ganadero¹. Dentro de éste, el municipio de Tauramena, contribuye supliendo las necesidades del consumo de leche y carne a nivel nacional, además de la exportación de ganado. Esta actividad representa un alto porcentaje de los ingresos que genera el país².

La producción y reproducción de calidad y alta eficiencia en bovinos, son características indispensables para que la industria ganadera resulte rentable y sostenible en un país. Estos procesos pueden verse alterados por las inadecuadas prácticas sanitarias que facilitan la presencia de enfermedades respiratorias, entéricas y reproductivas. Dentro de los agentes infecciosos que tienen implicaciones en el desarrollo de estas patologías se encuentra el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB)³, el cual tiene una alta capacidad de mutación, lo que le atribuye su variabilidad antigénica, presentando diferentes manifestaciones clínicas, que van desde cuadros respiratorios, gastrointestinales de distinta gravedad o inclusive pueden pasar desapercibidos, siendo difícil su control. Una de las implicaciones más importantes, es a nivel reproductivo, donde se llega a incrementar el número de abortos, muerte neonatal, inmunotolerancia, defectos congénitos y nacimiento de terneros débiles, que posteriormente, presentaran una disminución en la producción lechera y de carne^{4, 5}.

El impacto de la misma depende del momento y duración de la infección, inmunidad del rebaño, virulencia de la cepa, el nivel de producción e infecciones secundarias. Cabe destacar el problema de la poca cobertura de vacunación contra VDVB, puesto que ésta no es obligatoria ni tampoco existe un plan voluntario de control y, los ganaderos piensan que este tipo de vacunas retrasara el tiempo de engorde de los bovinos⁶.

Aunque existen estudios que evidencian la presencia del VDVB en Colombia, no se han realizado suficientes estudios que den a conocer la seropositividad y factores asociados para la presentación del mismo en el territorio nacional, por lo cual no se

ha establecido el estatus sanitario de la enfermedad en los diferentes departamentos de Colombia; como en el departamento del Casanare. Por lo tanto, la situación epidemiológica actual no es clara y dificulta el desarrollo de estrategias específicas para un efectivo control y prevención de la enfermedad.

El presente estudio pretende brindar a los investigadores, información representativa sobre la seropositividad y los factores que pueden conducir a la presentación del VDVB, que se presentan en el municipio de Tauramena, como material de apoyo a futuros estudios. De igual manera se busca que la información obtenida favorezca a los ganaderos del municipio, para establecer e incorporar medidas preventivas y de control en las fincas, a las instituciones gubernamentales y demás asociadas, se suministran datos importantes sobre el estado real de la enfermedad, ya que es una enfermedad poco investigada por no ser de control oficial ante el ICA en nuestro país.

2. ANTECEDENTES

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB), fue reconocido por primera vez en los Estados Unidos por Olafson, en 1946, al detectar en hatos bovinos un síndrome agudo caracterizado por fiebre, diarrea, anorexia y tos⁶. En 1953, se presentaron casos de una enfermedad esporádica que ocasionaba en los animales descarga nasal mucopurulenta, diarrea profusa, hemorragias y ulceraciones en la mucosa del tracto digestivo, con una mortalidad del 100%, a la cual denominaron enfermedad de las mucosas (EM). Gracias a ello se pudo establecer que el mismo virus era el responsable de los dos síndromes⁷.

Posteriormente, en 1957, se realizó el aislamiento del virus de la DVB (VDVB) en cultivos celulares de un posible caso de enfermedad de las mucosas (EM), pero este virus se caracterizó por producir cambios morfológicos en los cultivos celulares denominándose cepa citopática (CP)⁸. En el mismo año, se realizó otro aislamiento de un virus, de casos crónicos de la enfermedad de las mucosas (EM), el cual no inducía cambios morfológicos en los cultivos celulares denominándose cepa no citopática (NCP), sin que se llegaran a relacionar las dos cepas de virus CP y NCP con la presentación de esta enfermedad⁹.

En la década de los 60, se habló de DVB como una enfermedad enzoótica en varios países. Por otro lado, en estudios experimentales, se observó la presencia de abortos, terneros con malformaciones genéticas o congénitas, que mueren en los primeros días, evidenciando pérdidas económicas por alteraciones reproductivas y en la salud del hato en general^{10, 11}.

Por otra parte, el primer reporte de diarrea viral bovina (DVB), diagnosticado en Colombia, fue en 1975, en un grupo de terneras enfermas importadas desde Holanda, las cuales presentaban un cuadro de diarrea severa que desencadenó una alta tasa de mortalidad¹². Además, en 1982, se hizo un muestreo serológico en bovinos lecheros, en nueve subregiones de Colombia el cual evidenció una seroprevalencia de anticuerpos del 47% para animales y el 82% para predios distribuidos en diferentes regiones del país¹³.

En 1991, hacia el norte de Colombia, se realizó un estudio en bovinos que no tenían la respectiva vacunación contra VDVB, donde se encontró que el número de animales seropositivos para DVB, era significativo para los toros con un 9.5% y, que la presencia de estos animales en los hatos, representaba una alerta para la diseminación viral tras el contacto directo con las vacas¹⁴.

En el año 1994, se reportó una seropositividad para el virus de la DVB del 89% en animales de fincas de la Sabana de Bogotá y se identificaron coinfecciones con otras enfermedades donde se encontraba la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR)¹⁵.

En el año 1996, se realizaron reportes diagnósticos de bovinos persistentemente infectados (PI), los cuales se encargan de diseminar la enfermedad en mayor proporción y que presentan inmunotolerancia al virus. La detección del virus se realizó a través del cultivo de células polimorfonucleares y por medio de la técnica de inmunoperoxidasa indirecta, siendo el primer reporte de la presencia de PI, con una seroprevalencia del 1 a 2% en animales de la Sabana de Bogotá¹⁶.

En Colombia, los estudios referentes a factores asociados a la presentación de esta enfermedad son escasos. En el año 2007, se realizó un estudio epidemiológico en el ganado bovino de la zona rural de Montería en Córdoba, Colombia. Éste evidenció una seropositividad para DVB del 29.4%, en todas las fincas muestreadas. También se hizo un análisis estadístico de la presencia del virus asociado con factores como lo es la edad y el sexo, donde se evidenció la presencia de DVB en animales de cualquier edad del ciclo reproductivo; con respecto al sexo, se encontró una alta proporción de hembras seropositivas con un 28% por finca, donde había la presencia de toros que resultaban infectados (aproximadamente el 40%), por lo tanto, los toros infectados son una importante fuente de transmisión del VDVB¹⁷.

Por otra parte, en el año 2011, en hatos lecheros de Pasto, mediante un estudio epidemiológico, se evidenció una seropositividad para el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) de 32,77%. Además, se determinaron factores de riesgo asociados a DVB, donde las variables estudiadas en este estudio, indicó que el origen externo de los reemplazos, ya sea de mercados u otras granjas, era un factor de riesgo para la presentación de esta enfermedad en los bovinos incluidos en el estudio¹⁸.

En el mismo año, Fedegan publicó un listado de las enfermedades que afectan a los bovinos tanto a nivel productivo como reproductivo, dentro de las cuales se incluyó la DVB. Estas no cuentan con ningún presupuesto asignado para su prevención, control y erradicación; indicando que los ganaderos no tienen apoyo oficial para reducir el impacto que estas patologías generan en su economía¹⁹.

En el año 2013, se realizó un estudio epidemiológico en el departamento del Caquetá, Colombia, donde se determinó y comparó la seroprevalencia del virus de la DVB y el Herpesvirus bovino (IBR), en hatos de doble propósito y mixtos, que incluyeron bovinos y bufalinos. En el caso del virus de la DVB, hubo una seroprevalencia en tres de los hatos mixtos que correspondió al 15.7%, 58% y 81.1%, respectivamente, de igual forma en los predios de hatos bovinos solo un predio presentó una seroprevalencia del 87%, lo cual evidencia que la mayoría de las infecciones con el virus de la DVB reportadas se refieren a los bovinos, ya que no hubo evidencias de infección en búfalos en el departamento del Caquetá²⁰.

El ICA en el 2015, en base al listado de la OIE de enfermedades, infecciones e infestaciones que afectan a la producción pecuaria, reafirma las enfermedades de control oficial. Pese a que la DVB no es una enfermedad de control oficial, si está dentro de las enfermedades que deben ser declaradas al ICA, para prevenir la introducción y/o propagación de la misma, la cual puede tener un impacto socioeconómico considerable²¹.

En el año 2016, una investigación en el ganado lechero del municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia, determinó la seroprevalencia y los factores de riesgo asociados a la presentación de DVB e IBR. En esta, se tuvieron en cuenta bovinos no vacunados entre mayo y junio de 2014, factores de riesgo asociados al hato, los cuales se seleccionaron y correlacionaron con la serología de estas enfermedades. Los resultados obtenidos en cuanto a la seroprevalencia del animal para VDVB fueron del 75,7%, los cuales estaban distribuidos en todas las fincas muestreadas. En cuanto a los factores asociados a la presencia del VDVB, en el análisis estadístico se evidenció que ninguna variable se asociaba con el aumento de la seroprevalencia para VDVB²².

En el año 2017, mediante un estudio epidemiológico, se determinó la asociación entre seropositividad de algunos agentes infecciosos y el reporte de alteraciones reproductivas en animales de diferentes fincas que presentaban ocurrencia de abortos en Boyacá, Colombia, está demostró una la seropositividad para DVB del 76.4%, en el total de animales muestreados, los cuales no tenían registro de vacunación contra el complejo reproductivo bovino (IBR, DVB y Leptospira). El análisis de la seropositividad asociada a la ocurrencia de abortos permitió considerar como factor de riesgo el ser positivo serológicamente a un agente infeccioso, donde se encontraba el virus de la DVB para la ocurrencia de abortos aislados independientemente de la finca a la que perteneciera²³.

En el año 2018, se realizaron estudios epidemiológicos donde se determinó la seroprevalencia y factores asociados a la exposición al virus de la DVB en hatos lecheros de la Sabana de Bogotá y en el departamento de Santander, Colombia, donde se evidenció una seroprevalencia del 27,1% y 29.7%, respectivamente. Por otra parte, se realizó un análisis estadístico de la presencia del virus de la DVB asociado con factores como: animales menores de 4 meses de edad, que sugiere la presencia de anticuerpos maternos transferidos a través del calostro, así como el efecto de la vacunación con virus vivo modificado en las terneras y, por último, la presencia de diarrea en terneras, entre otras posibles causas. Este estudio permitió confirmar la alta exposición al virus en los hatos, lo cual contribuye al conocimiento epidemiológico de la enfermedad para el control de esta en el país^{24,25}.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Historia

El VDVB fue conocido por primera vez en los Estados Unidos por Olafson en 1946, al detectar en hatos un síndrome agudo caracterizado por fiebre, diarrea, anorexia y tos⁶. Ramsay y Chivers en 1953, describieron una enfermedad esporádica caracterizada por diarrea profusa, caquexia, ulceraciones en la mucosa del tracto alimenticio, que presentaba una alta mortalidad⁷.

En 1957, se hizo el aislamiento del virus de la DVB de un posible caso de enfermedad de las mucosas (EM), este virus se caracterizó por producir cambios morfológicos en los cultivos celulares, denominándose así cepa citopática (CP)⁸. En el mismo año, se realizó otro aislamiento de un virus, de posibles casos crónicos de la enfermedad de las mucosas (EM), el cual no inducía cambios morfológicos en los cultivos celulares, denominándose así cepa no citopática (NCP). Cabe resaltar que la relación entre estos dos biotipos aislados se desconocía en ese momento^{15,26}

Posteriormente, se estableció que la EM ocurre solo en animales persistentemente infectados (PI) después de la sobreinfección con una cepa viral CP que es antigénicamente similar a una cepa viral NCP, los cuales desarrollan una diarrea aguda con erosiones en todo el tracto digestivo²⁷.

3.2 Agente etiológico

3.2.1 Taxonomía

La diarrea viral bovina (DVB) es una enfermedad endémica en la mayoría de ganaderías bovinas, producida por un virus de la familia *Flaviviridae*, del género *Pestivirus*. La familia *Flaviviridae* está conformada por virus que poseen una envoltura pequeña con genoma de ARN; está dividida en 4 géneros y cada uno tiene características diferentes, infectando animales del orden Artiodactyla ^{28, 29}.

El género *Pestivirus* infecta a mamíferos, y se transmite a través del contacto con secreciones infectadas (gotas de la respiración, orina o heces). Estas infecciones

pueden llegar a ser subclínicas o causar enfermedades entéricas, hemorrágicas o debilitantes, donde se incluye el virus de la diarrea viral bovina (DVB) y el virus de la peste porcina clásica, los cuales desarrollan enfermedades que se han asociado a problemas reproductivos como: abortos, baja calidad de semen, aumento de los días abiertos sin preñez, costos del tratamiento de animales enfermos y demás complicaciones que afectan el desempeño del hato en conjunto, por lo cual tienen implicaciones a nivel económico^{30, 31}.

3.2.2 Propiedades y características del virión

Los viriones del VDVB, tienen aproximadamente entre 40 y 60 nm de diámetro ^{31,32}. La morfología de los viriones presenta una bicapa lipídica con proteínas de envoltura alrededor de la cápside, ésta a su vez contiene el genoma de RNA simple de cadena de polaridad positiva (+) de aproximadamente 9,0 a 13 kbp ^{29, 33, 34, 35}.

Estos viriones están conformados por cuatro proteínas estructurales: una proteína básica de núcleo de nucleocápside C, encargada de empaquetar el material genético e interviene en el anclamiento de la envoltura del virión, y tres glicoproteínas de envoltura, E rns, E1 y E2, la proteína E rns posee una actividad de RNAsa, que *in vitro* tiene capacidad de inmunosuprimir, efectos citotóxicos y de apoptóticos para los linfocitos de bovinos, la E2 es una proteína altamente antigénica, produce anticuerpos neutralizantes y tiene una región hipervariable propensa a mutaciones³⁶ en comparación con la glicoproteína E1 que no desencadena la producción de anticuerpos que neutralicen eficientemente al virus³⁷.

Por otra parte, los Pestivirus codifican ocho proteínas no estructurales (NS) de las cuales: N pro es una autoproteasa, NS23 tiene propiedades de elicasa y proteasa, importantes para la replicación viral y se ha descubierto que p7 tiene un papel en la maduración del virus³⁸.

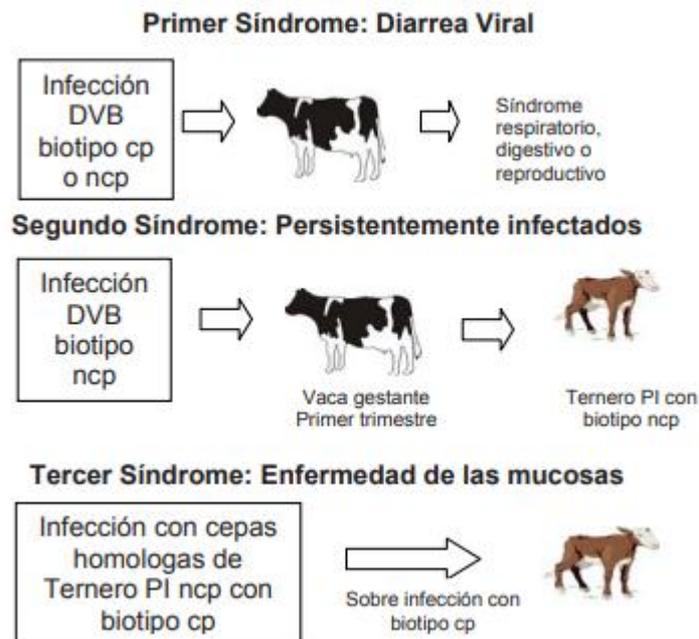
3.2.3 Genotipos y biotipos

Éste virus se ha dividido tradicionalmente en 2 genotipos: VDVB tipo 1 y VDVB tipo 2³⁹, donde, el virus de la diarrea viral bovina genotipo 1 (VDVB-1), suele presentar signos clínicos leves e inaparentes, caracterizados por fiebre leve y la presencia de pequeñas lesiones en el aparato digestivo y en órganos del sistema linfático. En vacas gestantes este genotipo puede inducir abortos y otras patologías reproductivas. Los aislamientos del genotipo 1, suelen emplearse en el desarrollo de vacunas, métodos de diagnóstico e investigaciones de las mismas^{40, 41}. Además, éste genotipo tiene más segregación en subgenotipos (1a y 1b), según estudios realizados en América del Norte⁴².

Por otra parte, los aislamientos del VDVB genotipo 2 (VDVB-2), están asociados con enfermedades agudas severas⁴³⁻⁴⁵, en algunas ocasiones caracterizándose por presentar un cuadro hemorrágico agudo, conocido como síndrome hemorrágico, que causa la muerte de los animales^{46, 47}. En estos procesos no se ven involucrados aislamientos del VDVB-1. Sin embargo, es poco probable que las cepas del VDVB-2 causen enfermedad aguda severa, siendo la de tipo 1 más virulenta^{48,49}.

Independientemente del genotipo y en función del efecto que se produce sobre los cultivos celulares, el VDVB puede ser clasificado en 2 biotipos: citopático (CP) y no citopático (NCP). Los biotipos CP, aislados en cultivos celulares, provocan efecto citopático sobre cultivos de células epiteliales bovinas, como la vacuolización citoplasmática y muerte celular⁵⁰. Por otra parte, los biotipos NCP se replican en las células y provocan cambios morfológicos en un periodo de tiempo más prolongado que los biotipos CP, estos son menos evidentes en estos cultivos, sin descartar que los biotipos NCP, no sean patogénicos. Además, el biotipo NCP es el más frecuente en la naturaleza⁵¹. Por otra parte, el biotipo CP suele aislarse de animales con enfermedad de las mucosas (EM) y se origina por mutación a partir del biotipo NCP; esto puede presentarse por deleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral⁵².

Figura 1. Síndromes que ocasiona la infección con VDVB



El diagrama muestra los diferentes síndromes ocasionados por el VDVB; el primer síndrome, es la forma clásica de la enfermedad, la cual ocasiona una infección subclínica o enfermedad severa. Los animales persistentemente infectados, se debe a la exposición al virus en el primer tercio de la gestación cuando el sistema inmune del feto está en desarrollo. La enfermedad de las mucosas, se desarrolla a partir de animales PI que adquieren un virus citopático⁵³.

3.3 Transmisión de la enfermedad

3.3.1 Transmisión vertical

En la trasmisión vertical, dado que el biotipo NCP tiene una importancia particular ya que puede infectar a hembras durante cualquier etapa de la gestación y atravesar placenta, afectando al embrión o al feto directamente: Si la infección ocurre en el primer trimestre de la gestación, es probable que se presente una momificación o se desarrollen defectos congénitos⁵⁴. Por otro lado, si la infección ocurre en el segundo trimestre (días 45-120), momento en que el feto no ha desarrollado su sistema inmune, por lo tanto, es incapaz de montar una respuesta efectiva. El feto irá asimilando al VDVB como parte de su organismo además de crear inmunotolerancia a la cepa viral, produciendo un animal persistentemente infectado (PI) los cuales adquirieron la infección en la etapa prenatal, y son portadores del virus⁵⁵, permitiendo

la replicación viral en los tejidos y secreciones sin llegar a detectarse^{56, 57}. Finalmente, si ésta ocurre en el tercer trimestre de gestación (>150 días), puede ocasionar aborto o nacimiento de terneros débiles, pero aquí el sistema inmune ya ha madurado y será capaz de controlar y eliminar la infección viral⁵⁴. En estos casos, los terneros nacen con seropositividad frente al VDVB, ya que tuvieron contacto con el virus y son capaces de generar una respuesta inmune, los cuales nacen sanos y no son portadores del virus⁵⁸.

3.3.2 Transmisión horizontal

El virus puede ser transmitido de forma horizontal, por la interacción entre animales infectados y animales susceptibles (aquellos que están inmunosuprimidos, que ingresan a un hato donde está presente dicha enfermedad o que no han sido vacunados), bien sea por contacto directo o por medio de aerosoles⁵⁹, ya que estos animales son infectados transitoriamente (TI), y eliminan el virus en cantidades bajas, por cortos periodos de tiempo cuando la infección es aguda. El riesgo de infección aumenta cuando circulan cepas de alta virulencia del VDVB en el medio ambiente⁶⁰. Se ha demostrado la alta supervivencia ambiental que tiene el VDVB, esto dependiendo de la temperatura y los niveles de humedad, presentando una viabilidad máxima de tres semanas a 5 °C en el hato bovino y de 3 días a una temperatura de 20°C⁶¹.

La transmisión horizontal también puede ocurrir en animales que son PI, los cuales eliminan el virus durante toda su vida, a través de sus secreciones corporales (descargas nasales y oculares, leche / calostro, semen, orina y heces)⁶². Además, se han reportado animales seropositivos no virémicos que constantemente excretan el virus en la eyaculación, esto 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 inmune⁶³.

Esta transmisión es relevante, tanto económica como sanitariamente, ya que permite una correcta evaluación de las pajillas antes de ser utilizadas en hatos bovinos; dicha evaluación comprende características macroscópicas y microscópicas del semen,

como la motilidad o movimiento en masa de los espermatozoides⁶⁴. Para el examen microbiológico se mide el grado de contaminación de una dosis de semen con un método normalizado. Si posteriormente se encuentra en este caso la presencia de VDVB se debe realizar un aislamiento viral o identificación del agente por inmunoperoxidasa o inmunofluorescencia o ELISA a una muestra de semen congelado de cada partida⁶⁵.

Cuando las pajillas se encuentran infectadas por cepas del biotipo NCP, el semen puede ser de calidad aceptable, pero con baja fertilidad por la presencia de anomalías espermáticas y baja motilidad. Además, por medio del semen contaminado, se puede transmitir el virus a vacas inseminadas artificialmente y es posible que el semen de toros que presenten infecciones testiculares persistentes pueda infectar a la vaca y presentar la enfermedad de DVB³⁷. Estos toros pueden engendrar descendencia clínicamente normal o pueden originar descendencia PI por recirculación viral en vacas susceptibles (persistencia viral en el tracto reproductivo)⁶⁶.

3.4 Patogénesis

La principal vía de infección del virus de la DVB es oro-nasal u oro-fecal, este se replica en mucosas, llega al torrente sanguíneo, pasa a ser una viremia y, posteriormente, se disemina a todo el organismo por circulación sistémica, estando presente en suero o asociado a células como linfocitos y/o monocitos. El principal punto de infección del virus es el tejido linfoide, en una infección aguda y la replicación viral en este tejido se propaga rápidamente⁶⁷, debido a que el virus tiene tropismo por este tejido y puede ser detectado en células de timo, bazo, nódulos, tonsilas y placas de peyer (PP). Aunque, se han notificado elevados títulos virales en pulmón, ya que cuando el virus infecta al animal, entra directamente a la mucosa de la cavidad nasal y puede migrar a pulmón⁶⁸.

Se ha demostrado que el biotipo CP se replica en la mucosa nasal, con títulos más significativos que el biotipo NCP, dando como resultado una rápida diseminación en animales susceptibles⁶⁹. La replicación del virus comienza con la adhesión a la membrana plasmática, la cual tiene un receptor específico (CD46), que es una proteína de superficie de macrófagos y linfocitos del huésped⁷⁰, por mediación de la

proteína de envoltura E2 del VDVB. Además, ocurre fusión de la envoltura con la membrana endosomal, y el virus ingresa al citoplasma mediante endocitosis mediada por receptor y libera su genoma en el citosol^{71, 72}.

La diseminación ocurre cuando el virus está libre en el suero o en leucocitos infectados, generalmente linfocitos, monocitos, linfoblastos circulantes y células precursoras de macrófagos^{69, 73}.

En el caso de infección aguda con el VDVB-NCP, este infecta a animales que son inmunocompetentes pero que no habían tenido contacto con el virus, produciendo una viremia transitoria, ya que pueden desarrollar una respuesta inmune adaptativa al VDVB que termina la infección⁷⁴, la cual puede llegar a desencadenar leucopenia⁷⁵, linfopenia y/o trombocitopenia^{76, 77} a corto plazo; también podría ocasionar apoptosis celular e inmunosupresión⁶⁸. Esta inmunosupresión, permite la infección de otros agentes infecciosos, o intensifica las infecciones existentes⁷⁸, puesto que el VDVB tiene un efecto sobre los linfocitos T y B circulantes⁵⁷, además de la apoptosis de los linfocitos en el tejido linfoide intestinal^{79, 80}.

Por otra parte, se producen diferencias importantes para producir apoptosis entre los dos biotipos del VDVB. Lo que podría explicar hallazgos patológicos de la muerte celular observada en la EM como resultado de la infección por el VDVB-CP, mientras que dichas lesiones no se observan en terneros persistentemente infectados (PI) con el VDVB-NCP⁸¹.

La infección persistente, se produce por la infección del feto con VDVB-NCP al inicio de la gestación (40-125 días), antes del desarrollo del sistema inmune humoral⁸². Los interferones de tipo I (IFN), son mediadores importantes de las respuestas inmunes innatas hacia los virus, y la infección por el VDVB interviene en la señalización de IFN de tipo I, siendo un factor que contribuyente en el establecimiento de animales PI. Además, los macrófagos infectados con el VDVB-NCP, de relevancia para la infección persistente, no inducen IFN tipo I ya que no hay presencia de óxido nítrico el cual potencializa la acción del IFN⁸³, mientras que los macrófagos infectados con el VDVB-CP (de relevancia para la enfermedad de las mucosas) si lo inducen⁸⁴. Del mismo modo, en un estudio, tras la infección de fetos bovinos de 60 días con VDVB-NCP se

demonstró que este no da lugar a IFN-a/b detectable en el líquido amniótico, mientras que el IFN-a/b si se detectó en el líquido amniótico después de la infección con el VDVB-CP⁸⁵.

3.5 Respuesta inmune

Las mucosas permiten crear una protección entre el medio externo e interno del organismo, siendo así, una importante barrera de entrada de microorganismos. El tejido linfoide asociado a mucosas (TLAM), se conforma por agrupaciones y, según su localización, se denominan tejido linfoide asociado a bronquios (TLAB) y tejido linfoide asociado a intestino (TLAI). Las tonsilas, hacen parte del TLAB, haciendo parte de un grupo de órganos linfoides secundarios relacionados con la inmunidad de las mucosas, interviniendo así en procesos de reconocimiento y excreción de microorganismos extraños, que son inhalados o ingeridos, protegiendo el tracto respiratorio y digestivo⁸⁶. Estas están localizadas en la entrada de la faringe, donde los microorganismos patógenos pueden ser captados por las células M, las cuales son células especializadas en la captación de antígenos e inducir una respuesta inmune⁸⁷.

Cabe destacar que las tonsilas no están completamente desarrolladas en las primeras semanas de vida, estas se desarrollan aproximadamente a los dos meses de vida. En cierta forma, esto explicaría la alta incidencia de enfermedades infecciosas en los primeros meses de vida del ternero. El epitelio de las tonsilas está infiltrado por numerosos linfocitos, leucocitos polimorfonucleares, macrófagos, células dendríticas (CD) o células de Langerhans localizadas entre las células epiteliales. Las CD, son las células presentadoras de antígeno (CPA) más eficientes, facilitan la captación de antígenos y permiten la interacción entre las células⁸⁸.

Los linfocitos que median la respuesta inmune son principalmente de tipo T, siendo escasa la presencia de linfocitos B. Se destaca el alto número de linfocitos T $\gamma\delta$ en esta localización, especialmente en los animales más jóvenes, estos linfocitos constituyen una primera línea de defensa contra los patógenos⁸⁹. El elevado número de linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T CD8+ en esta localización confiere una inmunidad

celular temprana en las primeras semanas de vida hasta que las tonsilas alcancen su completa madurez inmunológica⁸⁷.

La respuesta inmunológica activa de la mucosa intestinal es dada por el TLAI, siendo capaz de inducir o suprimir la respuesta inmune periférica. Esto es posible ya que hay producción de inmunoglobulinas (Ig)-A en las mucosas, las cuales bloquean la adhesión, neutralizan y/o expulsan antígenos virales⁹⁰. En el intestino de los ruminantes hay dos tipos de placas de peyer (PP): las PP yeyunales, las cuales persisten en animales adultos, siendo eficiente en la inducción de la respuesta inmune en la mucosa intestinal⁹¹ y, las PP ileales las cuales involucionan a edad temprana al igual que el timo, representando un 80-90% del tejido de las mismas⁹².

La respuesta a la infección con cepas CP del VDVB en infecciones agudas, se produce una respuesta temprana, local con la liberación de IFN tipo I por parte de los monocitos-macrófagos o las células dendríticas, responsables de activar a las células que ejercen la respuesta inmune innata como lo son los eosinófilos, los macrófagos y las células NK, limitando así la replicación del virus a nivel de las mucosas. Posteriormente los antígenos son capturados por medio de las células dendríticas después de su maduración para así migrar hacia nódulos linfáticos locales para presentar el antígeno a través del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) a los linfocitos T, los cuales migrarán hacia el tejido dañado para eliminar al virus y a las células afectadas⁹³. Sin embargo, en estos animales no se producirían niveles detectables de IFN tipo I en suero, lo que sugiere que la infección permanecerá a nivel de las mucosas⁹⁴.

Cuando se da una infección por cepas NCP del VDVB, no se ve estimulada una respuesta temprana a nivel local con liberación de citoquinas, ya que no hay una respuesta inmune a nivel de las mucosas. Por ello, la replicación del virus no estará limitada y se diseminará rápidamente por todo el organismo, lo que dará paso a que el virus se dirija hacia los nódulos linfáticos locales donde interactuara con células dendríticas, las cuales van a producir IFN α , aumentando a su vez la activación de estas células y limitando la replicación vírica. Se genera así una respuesta inmune primaria efectiva⁹⁵, pero no evita la diseminación del virus⁹³. Esta fuerte respuesta de IFN tipo I induce una elevación transitoria de los niveles de las proteínas de fase

aguda como son la haptoglobina (Hpb) y el amiloide A sérica (AAS), siendo sobretodo la Hpb un indicador de la gravedad de la infección. Esta respuesta innata es seguida de una respuesta inmune adaptativa que se ve reflejada en la producción de anticuerpos⁷⁵.

En fases tempranas de la EM, los centros germinales de los folículos linfoides se verán afectados por una intensa depleción de linfocitos B donde se observarán escasas células dendríticas foliculares (CDF), asociándose a la propia depleción de los linfocitos B o a efectos citotóxicos de linfocitos T CD4+. En fases avanzadas de la EM, se presenta un elevado número de CDF activadas en los centros germinales⁹⁶.

La respuesta inmune humoral se produce por una respuesta inmune activa después de una exposición al antígeno o por inmunidad pasiva mediante la ingestión de los anticuerpos presentes en el calostro. La presencia de altas concentraciones de anticuerpos maternos puede bloquear la respuesta inmune mediada por células B al vacunar con el VDVB. Aunque la vacunación en presencia de anticuerpos maternos parece ser efectiva, ya que estos anticuerpos protegen al animal de infecciones intranasales del VDVB. También se podría dar una respuesta mediada por células T⁹⁷. La adquisición de los anticuerpos neutralizantes maternos por los animales persistentemente infectados (PI) reduce temporalmente la viremia, aunque no la frena⁷⁴.

3.6 Manifestaciones clínicas

Las diferentes formas de transmisión y el momento en que se dé la infección por el VDVB, 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 animales⁹⁸. Este virus presenta las siguientes formas clínicas:

3.6.1 Infección aguda

Cuando la infección es postnatal, en animales inmunocompetentes, en especial animales entre 6 y 24 meses de edad y es causada, en su mayoría, por virus DVB-NCP⁵⁶, conduce al síndrome de Diarrea Viral Bovina (DVB), luego de un período de

incubación de 5 a 7 días. Puede afectar el sistema respiratorio y digestivo, resultado de la difusión activa del virus; capaz de potenciar la acción de otros microorganismos patógenos bacterianos y vírales⁹⁹.

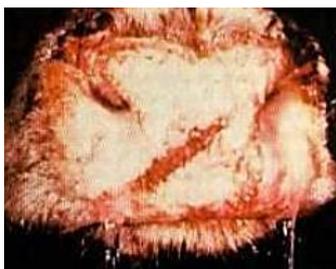
Los signos clínicos se caracterizan por fiebre, inapetencia, complicaciones respiratorias y/o reproductivas, leucopenia transitoria, trombocitopenia, diarrea, pérdida general del estado, secreción nasal y ocular. Los bovinos pueden llegar a sufrir episodios de diarrea o neumonía por la capacidad del 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 de 3 a 4 semanas después de la infección y pueden persistir por toda la vida, aunque tienden a disminuir con la edad¹⁰⁰. Estos procesos cursan con una morbilidad generalmente alta y una mortalidad muy baja o nula⁶⁸.

Figura 2. Descarga ocular purulenta y conjuntivitis



La imagen muestra la descarga ocular purulenta en bovino infectado por VDVB. Fotografía tomada por la SAG¹⁰¹.

Figura 3. Descarga nasal y congestión hemorrágica



La imagen muestra la descarga nasal y congestión hemorrágica de un bovino infectado por VDVB¹⁰².

La infección aguda puede presentarse en toros adultos, afectando eventualmente la calidad del semen. Además, se ha presentado casos donde se demuestra que el virus puede replicarse en el tejido testicular por más de 6 meses aunque, no siempre, el aislamiento viral del semen es exitoso¹⁰³.

Por otro lado, cuando una vaca cursa con esta infección, puede llegar a verse alterada la función ovárica y, por tanto, reducción de la fertilidad. El virus puede causar ooforitis intersticial no purulenta, necrosis de células de la granulosa y de oocitos. La detección del antígeno viral puede efectuarse, entre los 6 a 60 días, en macrófagos y células del estroma ovárico, post infección; en distintos estados de la maduración podrían detectarse en células foliculares y oocitos. Además, las infecciones agudas causan alteraciones en el desarrollo de los folículos pre-ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos, disminución del nivel de estradiol durante la fase folicular y descenso o ausencia de la hormona luteinizante pre-ovulatoria o contratiempos del pico de dicha hormona¹⁰⁴.

La infección con el VDVB tras la monta directa o inseminación artificial, disminuye la tasa de gestación, y las vacas que no quedan preñadas vuelven a quedar en celo a los 20-21 días después del servicio infértil¹⁰⁵. Del mismo modo, las vacas que pierden el embrión o feto, retornan en celo, comúnmente, 30 días después del servicio¹⁰⁶. Los altos niveles del VDVB en el fluido folicular del ovario y oviducto hacen referencia al tropismo del virus por este tipo de tejidos y sus implicaciones en el desarrollo reproductivo, en gran medida, en la tasa de gestación¹⁰⁷.

3.6.2 Síndrome hemorrágico

Representa una forma clínica muy grave, causada por el biotipo NCP del VDVB tipo 2, con una mortalidad del 25%, aproximadamente⁵¹. Los animales que sufren esta forma se caracterizan por presentar pirexia, diarrea sanguinolenta, congestión en conjuntiva y mucosas, hemorragias petequiales y equimosis en mucosas, llegando a producirse sangrados constantes. También, se caracteriza por presentar una marcada trombocitopenia, leucopenia y neutropenia¹⁰⁸. La marcada trombocitopenia se da ya que se alteran gravemente las funciones plaquetarias puesto que se ha descubierto antígeno viral en los megacariocitos y, por consiguiente, una disminución

en la producción de plaquetas ya que la interacción de estas células con el virus no permite que se dé una adecuada agregación plaquetaria debido a la inhibición de ciertas sustancias. Además, se destaca por presentar vacuolización de células del epitelio basal de la mucosa, depleción de órganos linfoides, incremento de la apoptosis de linfocitos y vasculitis en diversos órganos¹⁰⁹.

3.6.3 Infección congénita

En una infección congénita, la gravedad y complejidad de las lesiones ocasionadas en el feto dependen, en gran medida, del momento en el que se dé la infección. Comúnmente, las infecciones tempranas suelen provocar daños leves a diferencia de las infecciones tardías, indicando la existencia de una respuesta inmunológica. En la infección transplacentaria (entre los 50-100 días), pueden verse involucrados ambos genotipos del virus, aunque, solamente el biotipo NCP puede causar infección fetal¹¹⁰, provocando abortos, muerte fetal intrauterina, efectos teratogénicos o una infección congénita que persiste en el ternero neonatal^{56, 111}.

Figura 4. Fetos abortados entre los 4 y 6 meses de gestación



La imagen muestra un feto abortado entre los 4 y 6 meses de gestación tras la infección por VDVB. Fotografía tomada por UST, Med. Veterinaria¹⁰¹.

Es difícil establecer que un aborto haya sido causado por VDVB, pero, en algunos casos, este puede aislarse del tejido fetal o se puede hallar el antígeno o el genoma viral¹¹². Estos abortos se producen a partir de los 10 días post-infección hasta incluso tres meses después. Normalmente, el porcentaje de abortos es bajo y éstos sólo se presentan en rebaños que no han estado antes en contacto con el virus y, por tanto, no poseen ningún tipo de inmunidad⁵⁸.

El VDVB también tiene la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica del feto, produciendo graves lesiones en el sistema nervioso central, principalmente en cerebelo (hipoplasia cerebelosa); las severidades en las lesiones se ven incrementadas de acuerdo a la edad del feto al momento de la infección. También se han reportado casos de braquignatismo mandibular, alopecia, deformación esquelética, de miembros posteriores, frontales doblados, anomalías en cabeza y mandíbula^{113, 114}, otros casos de cataratas, degeneración retiniana, neuritis óptica, hipotricosis y retraso general del crecimiento¹¹⁵⁻¹¹⁷.

Esta forma se ha presentado con una alta morbilidad y mortalidad, es causada por el biotipo NCP del VDVB-2, altamente virulento, infectando a animales de cualquier edad^{46,118}. Se caracteriza por presentar una fiebre alta (39,7 a 41°C), alteraciones respiratorias, agalaxia y diarrea acuosa, a menudo llegando a la muerte del animal después de las 48 horas. También suelen presentar una disminución del conteo de linfocitos circulantes y una marcada trombocitopenia, además de las ulceraciones en la mucosa oral, lesiones neumónicas y depleción de los órganos linfoides⁶⁸. En algunos casos, este proceso evoluciona hacia una forma más grave denominada síndrome hemorrágico⁴⁷.

3.6.4 Infección persistente (PI)

El biotipo NCP, tiene una característica importante, es capaz de atravesar placenta e infecta al feto, dando como resultado el nacimiento de animales PI, los cuales son inmunotolerantes al virus y la principal fuente de infección de otros animales, ocasionando manifestaciones clínicas y subclínicas dentro del hato, presentando alteraciones de la producción y pérdidas económicas a nivel de finca¹¹⁵.

Un animal PI es aquel en el que es posible aislar el virus en muestras de sangre o en tejidos en dos ocasiones sucesivas con un intervalo no menor a dos semanas. Estos animales son virémicos durante toda su vida y no producen anticuerpos contra la cepa que les origina inmunotolerancia. La infección persistente debe ser considerada en todo ternero, con escaso desarrollo y ligera ganancia de peso, débil y con cuadros recurrentes de enfermedad respiratoria y digestiva¹¹⁹.

La infección persistente es inducida por la infección del feto con NCP del VDVB al comienzo de la gestación entre los primeros 40-125 días antes del desarrollo del sistema inmune humoral^{120, 82}. Para persistir, el virus evita tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa. Los interferones tipo I (IFN) son importantes mediadores de las respuestas inmunes innatas a los virus^{84, 121}. Los macrófagos infectados con cepas NCP del VDVB, siendo relevantes para la infección persistente, no inducen IFN tipo I, mientras que los macrófagos infectados con cepas CP del VDVB, relevantes en la enfermedad de la mucosa, liberan IFN tipo I^{95, 122, 123}.

Se ha podido identificar si un ternero es PI antes de tomar calostro lo cual sería lo ideal para diagnosticar los animales PI y realizar la erradicación ya que son el problema más importante de diseminación del virus a nivel mundial¹²⁴.

Un evento raro, posiblemente provocado por una infección aguda durante la pubertad, puede provocar una infección persistente de los testículos y, por lo tanto, toros fuertemente seropositivos⁶³. Esto también se ha observado después de la vacunación con un virus atenuado¹²⁵.

Generalmente, estos animales tienen una vida útil corta, y es común que los mismos mueran antes de cumplir los dos años. También, se ha visto que las vacas PI, siempre dan a luz a terneros infectados persistentemente, pero la mayoría de los terneros engendrados por un toro infectado persistentemente no se infectarán con el virus en el útero¹²⁵.

3.6.5 Enfermedad de las mucosas (EM)

El biotipo CP, es incapaz de establecer infecciones persistentes. Sin embargo, cuando infecta a individuos que han sufrido una infección intrauterina previa por una cepa NCP antigénicamente homóloga, puede dar lugar al desarrollo de una forma letal de la DVB conocida como enfermedad de las mucosas la cual es poco frecuente pero altamente mortal¹²⁶.

Esta condición solo ocurre en animales persistentemente infectados (PI) que sufren una sobreinfección con biotipos CP antigénicamente homólogos. El origen del VDVB

citopático suele ser interno, como resultado de una mutación del biotipo NCP persistente. En esos casos, el virus CP, es antigénicamente similar al virus NCP. Los orígenes externos para el VDVB -CP incluye otras vacunas para el ganado y virus vivos modificados. El ganado que desarrolla enfermedad de las mucosas debido a la exposición a un virus CP de origen externo, a menudo produce anticuerpos antivirales. La prevalencia de infección persistente generalmente es baja y muchos bovinos infectados persistentemente no desarrollan enfermedad de las mucosas, independientemente de la exposición¹²⁶.

Es importante su reconocimiento ya que es una forma esporádica, fatal, de curso agudo o crónico y se caracteriza por severa leucopenia, diarrea profusa, erosiones y ulceraciones en el sistema digestivo⁸⁵. Además, se ha comprobado que una cepa CP homóloga antigénicamente, no necesariamente da lugar a la EM, sino que este hecho también depende de otros factores inmunológicos como el número de linfocitos T circulantes que durante los primeros meses de vida parecen proteger a los animales PI de padecer la EM¹²⁷. En consecuencia, el diagnóstico confirmatorio de la enfermedad de las mucosas debe incluir el aislamiento de la cepa CP del virus en el ganado afectado. Este biotipo se puede aislar en sangre. No obstante, también se puede recuperar de manera más consistente de una variedad de tejidos como lo son el tejido intestinal y en las placas de Peyer⁸⁴.

Los signos clínicos de la enfermedad de las mucosas crónica pueden durar varias semanas o meses y son menos graves que los de la enfermedad de las mucosas aguda. La diarrea intermitente y el desgaste gradual son comunes. Coronitis y lesiones eruptivas en la piel de la hendidura interdigital causan cojera en algunos bovinos. Las lesiones encontradas en la necropsia son menos pronunciadas, pero similares a las observadas en la enfermedad de las mucosas aguda. A menudo, las únicas lesiones graves que se observan son ulceraciones focales en la mucosa del ciego, colon proximal o recto, y la mucosa sobre los parches de Peyer del intestino delgado puede aparecer hundida¹²⁸.

Este síndrome afecta a todas las edades del ganado PI, pero a menudo ocurre entre las edades de 6 meses y 2 años. La ulceración extensa del tracto gastrointestinal es la lesión más característica. La mucosa sobre los parches de Peyer puede ser

hemorrágica y necrótica. En el examen microscópico se observa una necrosis extensa de los tejidos linfoides, especialmente el tejido linfoide asociado al intestino.

3.7 Factores de riesgo

En Montería, Colombia, mediante un análisis estadístico sobre la seropositividad de DVB asociado a ciertos factores de riesgo, se pudo evidenciar seropositividad para DVB en animales de cualquier edad del ciclo reproductivo sin que ningún rango en específico fuese un factor de riesgo; con respecto al sexo, se encontró una alta proporción de hembras seropositivas, (28% por finca), y un 40% de toros que resultaban infectados, concluyendo que la infección por DVB en vacas se podría relacionar con la presencia de toros infectados en el hato¹⁷.

Por otra parte, mediante un estudio epidemiológico, en hatos lecheros de Pasto, Nariño que no tenían antecedentes de vacunación contra DVB, ni animales con problemas reproductivos; se determinaron factores de riesgo asociados a DVB, determinando el origen de los reemplazos, indicando que el de origen externo (OR 34.90; IC 6.30 - 193.43; P <0,0001) era un factor asociado a la presentación de la enfermedad, ya que los animales que van a ser parte del hato bovino, no tienen ningún control en cuanto a enfermedades virales. Otro factor relevante en el estudio fue el tipo de reproducción que se manejaba (monta directa) (OR 22.70; IC 4.21 - 122.42; P <0,0001), puesto que normalmente no todos los predios cuentan con un toro para la reproducción, debido a altos costos. Generalmente, se alquila un toro para montar vacas de diferentes predios y no se tiene control alguno de las enfermedades infecciosas que éste pueda tener¹⁸.

En Boyacá, Colombia, demostraron una alta seropositividad para DVB en el total de animales muestreados, los cuales no tenían evidencia de vacunación contra el complejo reproductivo bovino (IBR, DVB y *Leptospira*). El análisis de la seropositividad asociada a la ocurrencia de abortos, permitió considerar como factor de riesgo el ser positivo serológicamente a un agente infeccioso (OR: 10.1; límites de confianza del 95% [LC95%]: 2.4-42.1), donde se encontraba el virus de la DVB, para la ocurrencia de abortos en los animales individuales, independientemente de la finca a la que perteneciera²³.

En un estudio, realizado en el área semiárida de Paraíba, Brasil, se determinaron algunos factores de riesgo para la DVB en la población bovina. Los factores de riesgo identificados fueron: intercambio de animales entre predios (OR 4.95); es un factor de riesgo importante ya que es común intercambiar animales sin realizar pruebas de diagnóstico de DVB¹²⁹. El área de la granja ≤ 120 hectáreas (OR 3.06) y alta densidad animal (OR 3.48); lo que sugiere una mayor aglomeración y contacto directo entre los animales y, esta es la forma más eficiente de transmitir el virus, lo que favorece su diseminación¹³⁰. Otros factores fueron: la edad de destete de ≤ 60 días (OR 10.99); los rumiantes recién nacidos muestran bajos niveles de gammaglobulina, que solo aumenta cuando se ingiere calostro de calidad, por un tiempo adecuado¹³¹. Aproximadamente a los 60 días de vida, los terneros comienzan a desarrollar su propia inmunidad; por lo tanto, si se destetan antes de este período, se vuelven más vulnerables a los agentes infecciosos presentes en el medio ambiente¹²⁹.

Un estudio epidemiológico, realizado en el ganado lechero en Jordania, determinó dos factores de riesgo asociados a la presentación de DVB. Los factores de riesgo que se encontraron fueron: el no aislar animales recién comprados (OR 1.1; $P < 0.05$), ya que no se tiene ninguna certeza de que estos animales estén libres de enfermedades para poder ingresarlos con el resto del hato y, el otro factor, fue el tener visitas de intercambio entre agropecuarios de predios adyacentes (OR 0.9; $P 0.043$), debido a que estos utilizan en todas las granjas, las mismas prendas e instrumentos de trabajo que pueden ya estar contaminadas con el virus¹³².

En la Sabana de Bogotá, se hizo un estudio en hatos lecheros para determinar factores de riesgo asociados con DVB en terneras menores de un año. Donde se encontraron que los animales seropositivos provenientes de una madre con historial de aborto estuvieron asociados con la exposición al virus de la DVB (OR 6,4; $P 0,001$)²⁴. El aborto es una consecuencia reproductiva de la infección aguda por VDVB¹³³. Algunos estudios han reportado los efectos negativos de la infección viral y su impacto sobre la gestación, ya que según el momento en el que se dé la infección pueden producir diferentes manifestaciones clínicas como mortalidad embrionaria,

aborto, presentación de lesiones congénitas, infección aguda fetal, nacimientos de terneros débiles, terneros congénitamente infectados e infecciones persistentes^{66,77}.

Por otra parte, la historia de presentación de diarrea en las terneras, se pudo asociar con la exposición al VDVB (OR 2,6; P 0,010)²⁴. Se conoce que el virus puede causar enteritis y atrofia de las vellosidades duodenales e inflamación de la mucosa en el intestino^{24, 134}. Otro factor de riesgo fue la presencia de animales menores de 4 meses (OR 4,9; P 0,001)²⁴, debido a la presencia de anticuerpos maternos como consecuencia de la exposición de la madre al virus, ya sea por vía natural o por efecto de la vacunación con virus vivo¹³⁴. Estos virus pueden ser transmitidos a través del calostro y permanecer entre 4 y 6 meses en la mayoría de los casos¹³⁵. Después de esta edad, se puede observar una disminución en la proporción de animales positivos, lo cual está relacionado con la disminución de los anticuerpos adquiridos por el calostro^{60, 134}.

En el año 2016, se reportó un estudio sobre los factores de riesgo frente al VDVB en el noreste de México. Donde se obtuvieron diferencias significativas entre la seropositividad de un virus determinado en diferentes zonas rurales¹³⁶. Esta heterogeneidad puede estar relacionada con la densidad de las granjas; diferencias en la seroprevalencia y factores tales como el tamaño del rebaño, las medidas de control de la enfermedad, el tipo de reproducción y la edad del animal¹³⁷.

La introducción de animales fue un factor de riesgo importante para el VDVB (OR 6.21), lo que supone la compra de animales con infecciones agudas o PI. Se informó que la compra de vacas para un hato, en rebaños pequeños aumentó la seroprevalencia y el riesgo de infección por VDVB en comparación con los tamaños de hatos medianos y grandes¹³⁸. En otro estudio, en el ganado lechero en España, encontraron que la seropositividad de las vacas compradas en ferias era mucho mayor que para las vacas cuyo origen era la granja. Sin embargo, los animales seropositivos no son el principal riesgo de infección de VDVB, sino la falta de identificación diagnóstica temprana de animales PI, los cuales suelen ser seronegativos, en la manada¹³⁹.

En el sureste de México, otro estudio también evaluó los factores de riesgo para la DVB como lo son la edad, sistema de producción, sexo, línea de producción, entre otros. Donde la introducción de nuevos animales al hato (OR 6.21) y el tamaño de la manada entre 201-500 cabezas (OR 4.11) fueron considerados factores de riesgo en esa zona del país, ya que estaban en hacinamiento y tenían constante contacto entre animales, lo cual propicia la infección y diseminación de enfermedades en toda la manada¹³⁶.

3.8 Diagnóstico

El diagnóstico de la infección por el VDVB, se basa en la identificación de antígenos virales, directamente en tejidos infectados o en realizar aislamientos en cultivos celulares, siendo estos dos últimos los procedimientos de mayor significancia en comparación de la medición de la respuesta inmune¹⁴⁰.

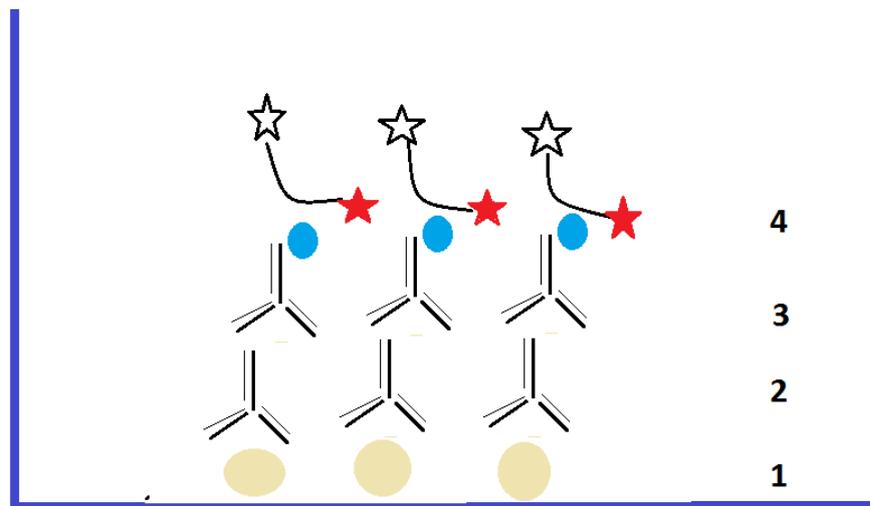
El aislamiento viral es el método de referencia, es altamente específico y sensible. Sin embargo, es muy costoso para poder emplearse en un laboratorio para el diagnóstico de animales PI¹⁴¹. El cultivo celular ha permitido la identificación de biotipos NCP, empleando anticuerpos anti-VDVB marcados con peroxidasa o fluorocromos. Se realiza preferentemente en cultivo primario de células de riñón, células de la mucosa nasal o testículo bovino¹⁴².

La detección de antígenos mediante enzimoimmunoensayo (ELISA), utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para detectar los antígenos del VDVB en muestras de sangre. Comparado con el aislamiento viral, es un método rápido y económico, por lo tanto, es el método de preferencia para la detección a gran escala de animales PI¹⁴¹. El análisis serológico de una pequeña muestra de sangre tomada al azar de terneros de 6 a 12 meses de edad, permite distinguir hatos con infección activa, de hatos sin bovinos PI, para tener un alto grado de seguridad se deben realizar dos muestreos en momentos epidemiológicos diferentes, en un tiempo mayor de dos semanas entre cada muestreo¹⁴³⁻¹⁴⁵.

La detección de anticuerpos (Ac) mediante enzimoimmunoensayo (ELISA), se puede realizar en muestras de suero, plasma y leche. Esta técnica utiliza placas de

microtitulación con un antígeno (Ag) del VDVB (p80/p125), los AC presentes en la muestra analizada, se unen al Ag de la placa (complejo Ag-Ac), los residuos se eliminan mediante lavados. Este complejo se detecta gracias a un conjugado de peroxidasa, los residuos se eliminan mediante lavados y, por último, se añade una solución de sustrato-cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato reacciona con el cromógeno, generando una coloración, esta reacción se frena con una solución acida¹⁴⁶. Es de limitado por la interferencia de estas pruebas debido a anticuerpos postvacunales, ya sea de vacunas inactivadas como de vacunas vivas modificadas¹⁴⁷.

Figura 5. Detección de Anticuerpos mediante la técnica ELISA



Detección de Ag mediante Inmunohistoquímica (IHQ), se realiza en tejido fijado en formalina y embebido en parafina; permite el estudio de muestras de nódulos linfáticos, piel, cerebro, glándula tiroidea, placenta, abomaso y en tejido auricular, enviadas para examen histopatológico y permite realizar una asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histológicas¹⁴¹. Se emplea para la detección de altos niveles de viremia en animales PI, como método diagnóstico para la detección del VDVB en fetos, aunque el resultado no se ve afectado por la presencia de Ac adquiridos mediante el calostro; la sensibilidad de la prueba es baja¹⁴⁸.

La detección del ácido nucleico viral por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido, sensible, que detecta el VDVB y permite

investigar un gran número de muestras en corto tiempo¹⁴⁹. Su sensibilidad permite detectar el virus en varias muestras de sangre y leche de tanque^{150, 151}. Sin embargo, su elevada sensibilidad puede originar resultados falsos positivos¹⁵¹.

3.9 Vacunas

La vacuna contra el VDVB tiene como objetivo prevenir la presencia de terneros Persistentemente infectados (PI) en un hato, los cuales actúan como reservorios del virus(152). Además, puede prevenir la forma aguda de la enfermedad y ejercer una prevención prolongada de desórdenes de la fertilidad. Sin embargo, se deben seguir manejando medidas sanitarias eficientes como lo son: monitoreo serológico continuo del rebaño, uso de medidas de bioseguridad del personal que tenga contacto con los bovinos y eliminación de animales PI en el hato^{153, 154}. Recientemente, varias vacunas contra el VBVD han sido autorizadas para ejercer la protección fetal con al menos 365 días de duración de inmunidad. Aunque, a pesar de ello, se han presentado informes de infección fetal en terneros nacidos de vacas vacunadas, ya que se ha suministrado cuando estaban en periodos de gestación o con vacunas atenuadas¹⁵⁵.

Existen dos tipos de vacunas disponibles a nivel mundial contra el VDVB: vacunas inactivadas y vacunas vivas modificadas¹⁵⁶:

El uso de vacunas inactivadas genera una mayor seguridad para ser suministradas en los animales, ya que no son inmunosupresoras ni patógenas para el feto bovino. Una de las desventajas de las vacunas inactivadas es la necesidad de administrar varias dosis de la vacuna para lograr generar un nivel de alto anticuerpos en el animal. El inicio de la inmunidad de las vacunas inactivadas puede tardar de cuatro a seis semanas desde el momento de la vacunación inicial¹²³.

En comparación con las vacunas inactivadas, las vacunas vivas modificadas, estimulan la producción de niveles más altos de anticuerpos neutralizantes; de las proteínas estructurales del VDVB, la glicoproteína E2 es el objetivo principal para generar anticuerpos neutralizantes⁷², que ayudarán a evitar la enfermedad después de la exposición al virus homólogo¹⁵⁷. Así mismo, estimula la inmunidad mediada por células y son capaces de producir reacción cruzada¹⁵⁸. Se puede evidenciar un rápido

inicio de la inmunidad cuando se usan vacunas vivas modificadas; se ha demostrado una protección parcial contra la exposición virulenta al VDVB en tan solo 3 días después de una dosis única de vacuna viva modificada con protección completa observada a los 5 días después de la administración de la vacuna. Esta se debe saber administrar según la etapa de desarrollo en la que se encuentre el animal¹⁵⁹.

3.10 Epidemiología en Colombia

En Colombia, los primeros reportes de la enfermedad de DVB datan de 1975, tras el ingreso al país de terneros enfermos importados desde Holanda⁵⁵. Se hicieron necropsias y pruebas serológicas a estos animales, los resultados permitieron el diagnóstico de la Enfermedad de las Mucosas (EM). Posteriormente, se realizaron diferentes estudios en el país, que comprobaron la presencia de la misma, reportando así, por primera vez en el país, un caso de EM con aislamiento e identificación de los dos biotipos: NCP y CP¹⁶⁰. En cuanto a la seroprevalencia en Colombia, se ha llegado a identificar, en la Sabana de Bogotá para el VDVB que está alrededor del 47%-88%¹⁶¹.

A lo largo del año 2010, los centros de diagnóstico y las unidades locales del ICA, que constituyen la base del Sistema de Información y Vigilancia Epidemiológica, notificaron los episodios de las enfermedades sujetas a Programas Nacionales de Control y, algunas patologías confirmadas mediante pruebas de laboratorio y signos clínicos o lesiones. Con respecto a años anteriores se identifica un incremento marcado en el diagnóstico de enfermedades gastrointestinales y reproductivas como lo es en el caso de la DVB. Estos entes sugieren la atención de los productores para que se establezcan programas sanitarios que eviten las pérdidas económicas que conllevan los tratamientos y en el peor de los casos la mortalidad de animales^{162, 163}.

Para el año 2011 y 2012 se notificaron en hatos bovinos diversas condiciones patológicas en 2.690 predios localizados en 26 (81%) departamentos. En general y al igual que en años anteriores, IBR, leptospirosis, DVB, Anaplasmosis y Babesiosis volvieron a presentar una frecuencia alta de registros en predios afectados. El IBR y la DVB registraron la tasa de incidencia más alta^{163, 164}.

El ICA, en su publicación Colombia, Sanidad Animal 2014, describe la situación epidemiológica en Colombia en cuanto a las enfermedades de la lista de la organización mundial de sanidad animal (OIE). En el caso de DVB las tasas de morbimortalidad en explotaciones de tipo intensivo y extensivo fueron de 236 bovinos y la población en riesgo de 13.406 individuos^{165, 166}.

3.11 Epidemiología en América Latina

La diarrea viral bovina (DVB) tiene una distribución mundial y es una infección que tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. En la mayoría de estudios en los diferentes países alcanza niveles seropositividad del 60% al 80 %, también se han encontrado un rango de 0,5% a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI)^{167, 168}. En Suramérica, la seroprevalencia del VDVB varía entre países con reportes en hatos, esta enfermedad afecta la reproducción en ganado bovino. Aunque la seroprevalencia de la infección varía entre los diferentes relevamientos, la infección tiende a ser endémica en muchas poblaciones y alcanza un nivel máximo de 2% de animales PI y 35% al 85% de ganado con serología positiva⁵⁵.

La seroprevalencia del VDVB suele incrementarse con la edad debido a que los títulos de anticuerpos se mantienen, generando una buena respuesta inmunitaria. La alta difusión del DVB en los animales de distintas comunidades cercanas, sugiere similares deficiencias en las prácticas de manejo, como pasturas, fuentes de agua comunes, compra y venta de animales entre los criadores de las comunidades aledañas y falta de bioseguridad que promueven la transmisión de la infección viral¹⁷¹.

Para ejecutar un programa de control exitoso en cualquier hato se requiere conocer el estatus de la enfermedad, detectar la presencia de animales PI, determinar las características del hato (abierto o cerrado, número de animales, tipo de producción, entre otras) para implementar el siguiente paso: la eliminación paulatina de animales PI, la vacunación y el empleo de medidas de bioseguridad⁵³.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar la seropositividad y los factores asociados a la presentación del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en bovinos del municipio de Tauramena, Casanare 2015.

4.2 Objetivos específicos

Caracterizar la población de bovinos analizados según la seropositividad para VDVB en el municipio de Tauramena, Casanare.

Establecer los factores asociados a la presentación del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en los hatos bovinos de Tauramena, Casanare.

5 METODOLOGÍA

5.1 Tipo de estudio

Estudio descriptivo -analítico, de cohorte.

5.2 Población

La población de estudio se determinó por medio de un censo realizado por el ICA a nivel nacional, para el año 2016 (anexo1), donde se pudo estimar que el municipio de Tauramena, Casanare tenía 123.695 bovinos.-

5.4 Tamaño de la muestra

La muestra obtenida fue de 2000 bovinos distribuidos en 23 veredas del municipio de Tauramena, Casanare. El tamaño de la muestra se estimó por conveniencia debido a que el laboratorio Zoolab contaba con estas muestras de suero de bovinos, las cuales fueron proporcionadas para la realización de este estudio.

5.5 Recolección de la información

Se realizó una encuesta epidemiológica (anexo 2) donde incluía la información individual de cada animal muestreado, así como la información de georreferenciación, presencia de pozo profundo, presencia de río, presencia de abrevadero, presencia de aljibe, presencia de acueducto, corral, manga, brete, botalón, calceta, establo, cercas perimetrales, puertas. Esto con el fin de establecer las variables que podrían ser posibles factores asociados a la presentación del VDVB. Las variables que fueron incluidas en el análisis epidemiológico fueron divididas en variables ambientales, propósito, tipo de explotación, edad, sexo y raza. Las variables incluidas fueron categóricas en su mayoría, casi todas dicótomas (1=SI y 2=NO).

5.6 Toma y recolección de muestras

Se tomaron muestras de 2000 bovinos, donde participaron hembras y machos de diferentes edades. Para la obtención de las muestras de sangre, se hizo punción de la vena coccígea, siguiendo los pasos de la guía para la correcta toma de sangre en bovinos¹⁷⁰:

Para empezar, se debe disponer de todos los materiales tanto de protección personal, así como los necesarios para poder realizar una adecuada toma de muestra. También, es de vital importancia hacer un adecuado lavado de manos y cambio de materiales por cada animal muestreado.

El segundo paso a seguir, es definir el lugar de punción, ya sea de la vena coccígea o yugular. Teniendo en cuenta que la vena coccígea suele ser de fácil acceso y que no necesita más de dos personas para poder realizarlo, todas muestras fueron tomadas de esta.

Se debe rotular los tubos para la toma de la muestra, con los datos de identificación del animal.

Por otra parte, para poder acceder fácilmente al sitio de punción, es necesario que la cabeza del bovino esté sujeta en un brete con una la ayuda de lazos o cabezal. Después, se procede a levantar la cola del animal con suavidad hasta colocarla en posición vertical, sujetándola en el tercio medio de la cola.

Se debe realizar una adecuada limpieza de la zona en la cual se realizará la punción, retirando los residuos de materia fecal. Se prosigue, a palpar la vena en la línea media, justo caudal de la inserción de los pliegues de la piel de la cola. La antisepsia con alcohol 70% o con Yodo povidona al 10%, en una zona de piel de unos 10 cm de diámetro alrededor del sitio de punción. Además, es importante desinfectar el tapón de goma del tubo con alcohol 70%.

Insertar la aguja craneal a la protuberancia ósea del proceso laminar en la línea media a una profundidad de 8- 12 milímetros en ángulo recto, hasta que la sangre empiece a brotar.

Por último, se debe estabilizar la funda y la aguja con la mano, colocar el pulgar de la otra mano en la parte inferior del tubo y en las aletas de la funda. La sangre fluirá dentro del mismo.

Cuando ya se hayan cumplido los anteriores pasos, se retira la aguja, se encaja un segundo tubo en la camisa y se mantiene la funda estable, hasta consumir todo el vacío y retirar el tubo. Se debe ejercer presión sobre la zona de punción con una gasa durante unos segundos. En necesario invertir varias veces el tubo, desechar las agujas en el guardián y el resto de materiales contaminados en la bolsa roja.

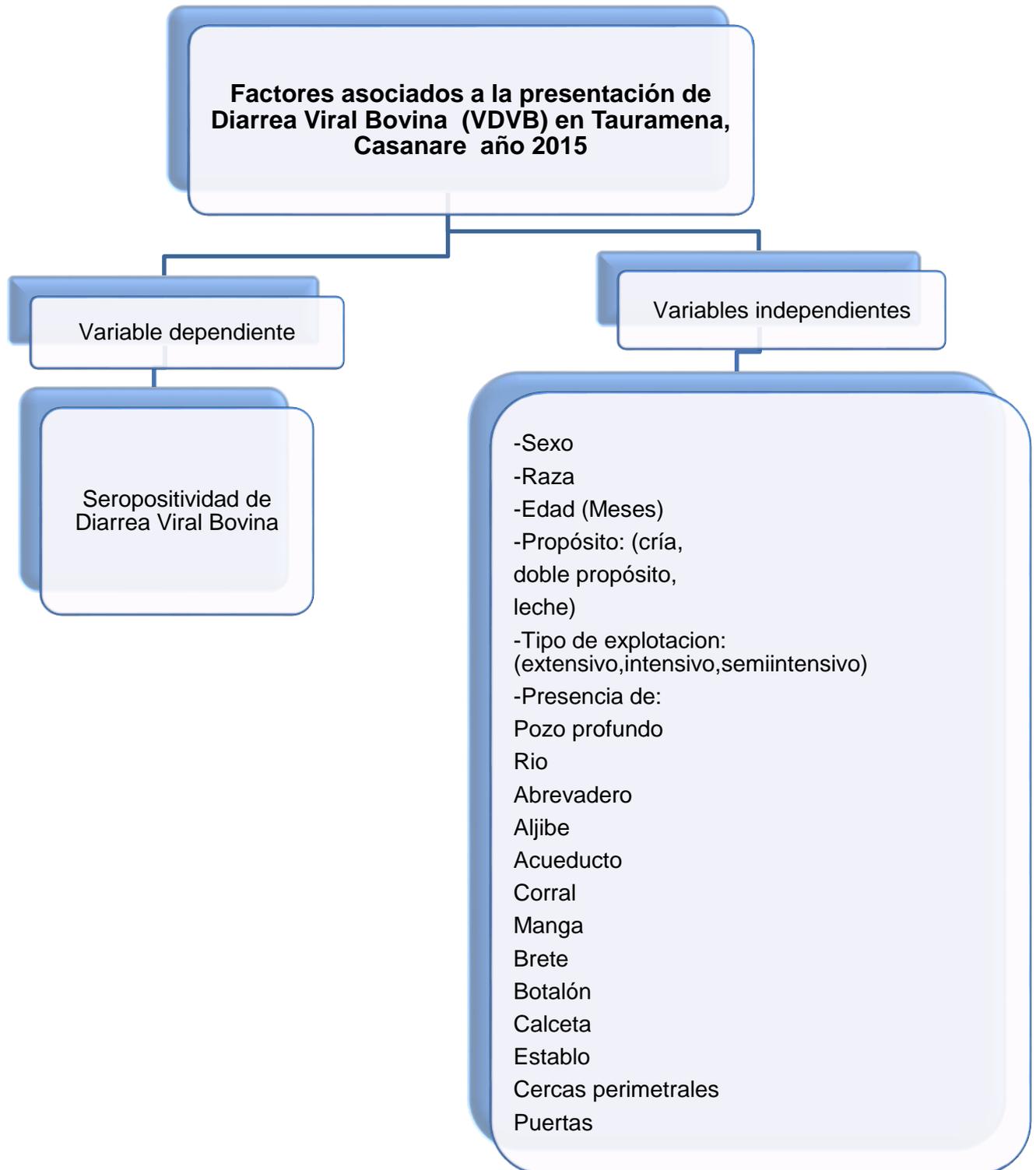
5.7 Pruebas diagnósticas

Para la estimación de la seropositividad de Ac contra VDVB p80/p125, la prueba diagnóstica que se usó fue: ELISA competitiva para la detección de anticuerpos del Virus de la Diarrea Viral Bovina a partir de muestras de suero (INgezim Pestivirus Compac. R.12.BVD.K3). Cabe resaltar que la prueba diagnóstica detecta anticuerpos frente la proteína p80/125, está basado en el principio de competición entre el anticuerpo bovino y una peroxidasa unida a un anticuerpo monoclonal anti-p80/125. Esta prueba no puede detectar los anticuerpos que se generan después de suministrar la vacunar.

5.8 Programas utilizados

SPSS versión 25.0, EPI INFO versión 7.2.2.2.1, EXCEL - 2013 y WORD - 2013.

5.10 Variables



5.11 Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión para este estudio fueron: muestras que no tenían el rotulo con los datos de identificación, animales que presentaban antecedentes de vacunación contra VDVB y que no contaban con la encuesta totalmente diligenciada.

5.12 Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión para este estudio fueron: todas las muestras que tenían rotulo con todos los datos de identificación, que contaban con su respectiva encuesta totalmente diligenciada y que no tenían antecedentes de vacunación.

5.13 Técnica de análisis

La descripción de las variables se realizó mediante análisis univariado, para las variables cualitativas se obtuvo frecuencia relativas y para variables cuantitativas medidas de tendencia central y dispersión adicionalmente se realizó un análisis de la distribución la cual fue contrastado con la distribución normal a partir de la prueba de Kolmogorov - Smirnov, posteriormente se realizaron análisis bivariados con las pruebas estadísticas chi cuadrado, prueba exacta de Fisher y T de student (con aplicación del teorema delimitado central) con los posibles factores de asociación obtenidos de la base de datos de Diarrea Viral Bovina en el proyecto Tauramena llevado a cabo por Zoolab SAS, la variable dependiente fue presencia o ausencia del VDVB analizada mediante la técnica ELISA. Para las variables objeto de estudio se calculó OR (razón de probabilidad) con un intervalo de confianza (IC) del 95%, Adicionalmente se realizó una curva epidemiológica con los casos positivos para cada mes y un mapa de casos agrupados.

6 RESULTADOS

6.1 Análisis descriptivo

Tabla 1. Veredas de la población bovina incluida en el estudio

Veredas		
Característica	n = 2450	Porcentaje %
Aceite alto	65	2,6
Agua Blanca	54	2,2
Batallera	125	5,1
Bendiciones	52	2,1
Cabañas	216	8,8
Chaparral	57	2,3
Chitamena	110	4,4
Chitamena Bajo	45	1,8
Delicias	119	4,8
El Oso	32	1,3
El Palmar	44	1,7
El aguamaco	87	3,5
Guira	277	11,3
Iquia	88	3,6
Jaguito	151	6,2
Juve	24	0,9
La Esmeralda	187	7,6
Monserate	28	1,1
Pinalito	14	0,6
El raizal	171	7,0
Villa Rosa	48	2,0
Visinaca	85	3,4
Yaguaros	356	14,5

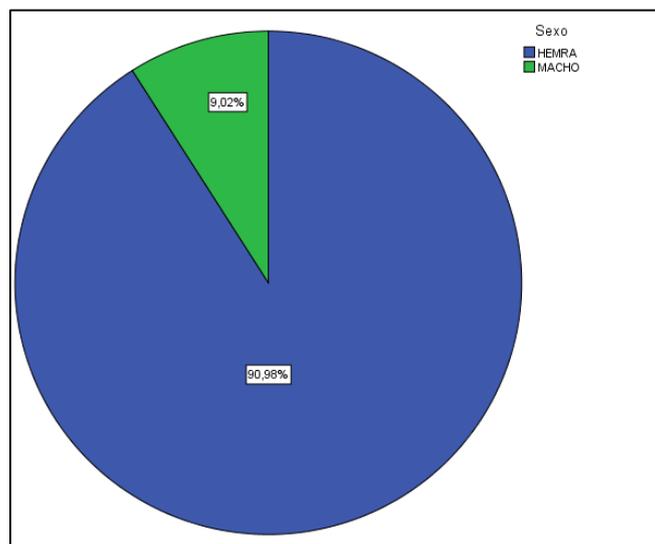
El porcentaje por veredas de la población bovina, indicó que el mayor número de bovinos provenían de las veredas de Yaguaros, Guira con un 11.3% y 14.5 %, respectivamente y, el menor número de bovinos provenía de Pinalito con un 0.6%.

Tabla 2 Raza y sexo de la población bovina incluida en el estudio

Características		n = 2450	Porcentaje %
Sexo	Hembra	2229	91,0
	Macho	221	9,0
Raza	Bovina pura	1344	54,9
	Bovina cruce	1106	45,1

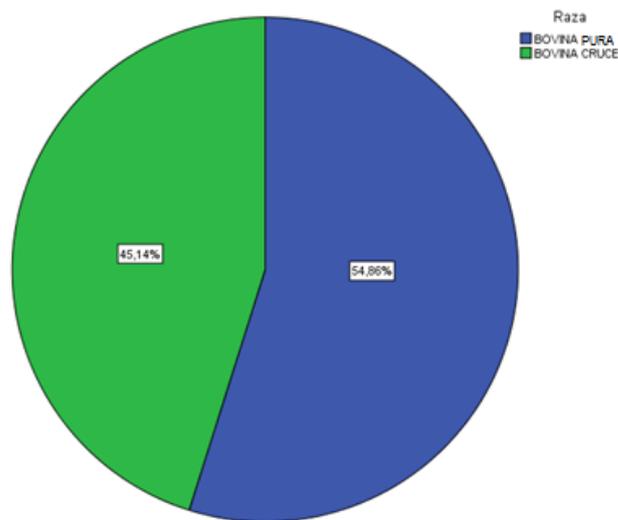
La proporción del sexo y la raza de la población bovina, indicó que la mayor población correspondiente al 91 % eran hembras, mientras que en machos fue del 9 %. Con respecto a la raza, la mayor población correspondiente al 54.9% era bovina pura, mientras que la raza bovina cruce fue del 45.1%.

Figura 6. Sexo de la población bovina incluida en el estudio



La grafica ilustra la distribución del porcentaje de bovinos según el sexo, mostrando la predominancia de hembras con un 90.96% en comparación con los machos que comprenden un 9.02% del total de la población incluida en el estudio.

Figura 7. Raza de la población bovina incluida en el estudio



La grafica ilustra la distribución del porcentaje de bovinos según la raza, mostrando la mayor población correspondiente al 54.86% de raza bovina pura, en comparación con la raza bovina cruce con un 45.14% del total de bovinos incluidos en el estudio.

Tabla 3. Edad en meses de la población bovina incluida en el estudio

Edad en Meses		
Medidas descriptivas	Estadístico	Error estándar
Media	56,36	0,609
Varianza	909,982	
Desviación estándar	30,166	
Mínimo	3	
Máximo	180	
Rango	177	
Rango intercuartílico	36	

La edad en meses de la población bovina, demostró una media de edad en meses de 56,36 con una desviación estándar de 30,1 meses en el total de bovinos incluidos en el estudio.

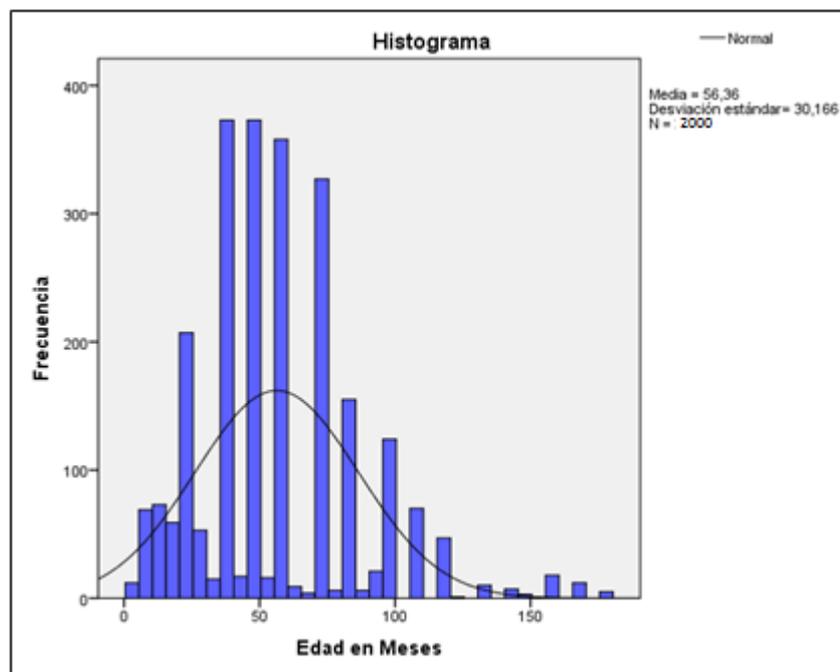
Tabla 4. Pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov^a para variables cuantitativas (edad en meses)

Kolmogorov-Smirnov ^a			
	Estadístico	gl	Sig.
Edad en Meses	0,118	2450	0,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para variables cuantitativas en edad por meses de bovinos incluidos en el estudio, indicó que la variable edad no sigue una distribución normal ($p < 0.0001$).

Figura 8. Frecuencias de edad en meses de la población bovina



El histograma, ilustra la distribución de las frecuencias de edad en meses de bovinos, mostró que los bovinos muestreados incluidos en el estudio tenían un rango de edad entre 26 a 86 meses.

Tabla 5. Seropositividad para el virus de la Diarrea Viral Bovina mediante la técnica ELISA

Resultado prueba DVB		
Característica	n= 2450	Porcentaje %
Negativo	1668	68,1
Positivo	410	16,7
Sospechoso	372	15,2

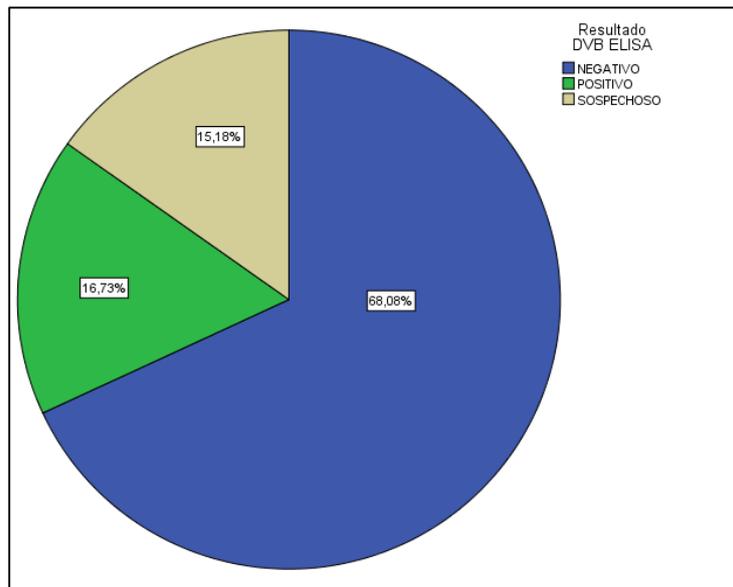
La seropositividad para el VDVB mediante la técnica ELISA, indicó que la mayor población correspondiente al 68.08% fueron negativos, el 16.73% positivos y el 15.18% sospechosos del total de bovinos muestreados incluidos en el estudio.

Tabla 6. Seropositividad (Re categorizada) para el virus de la Diarrea Viral Bovina mediante la técnica ELISA

Seropositividad DVB (Re categorizada)		
Característica	n= 2450	Porcentaje %
Positivo	782	31,9
Negativo	1668	68,1

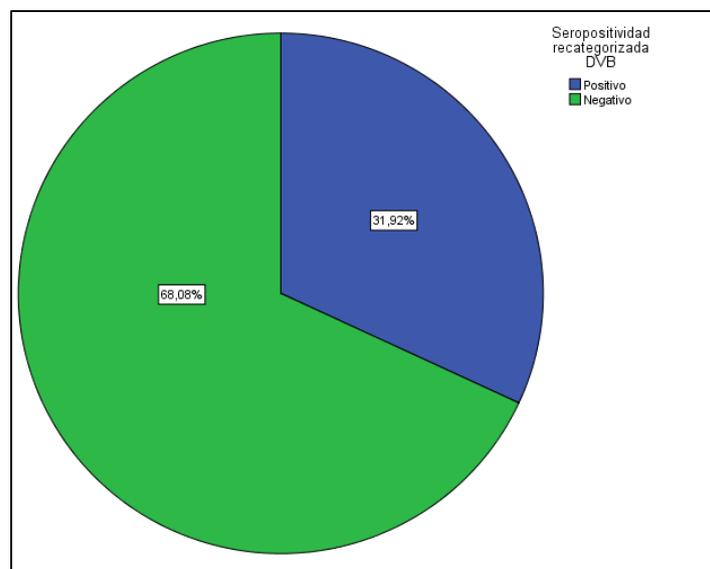
La seropositividad re categorizada para el VDVB mediante la técnica ELISA, indicó que la mayor población correspondiente al 68.1% fueron negativos, con respecto al 31.9% que fueron positivos en el total de bovinos muestreados incluidos en el estudio.

Figura 9. Resultados para VDVB mediante la técnica de ELISA



La grafica ilustra la variable de resultados para VDVB mediante la técnica ELISA, mostrando la mayor población correspondiente al 68.08% que fueron negativos, el 16.73% fueron positivos y el 15.18% fueron sospechosos del total de bovinos muestreados incluidos en el estudio.

Figura 10. Seropositividad (Re categorizada) para VDVB mediante la técnica ELISA



La grafica ilustra las variables dependientes de seropositividad re categorizada para VDVB mediante la técnica ELISA, mostrando la mayor población correspondiente al

68.08% que fueron negativos, con respecto al 31.92% que fueron positivos en el total de bovinos muestreados incluidos en el estudio.

Tabla 7. Variables ambientales y de infraestructura incluidas en la encuesta epidemiológica

Variables	n= 2450	Porcentaje %
Pozo profundo	842	47,1
Presencia de rio	427	23,9
Presencia de abrevadero	839	47,0
Presencia de aljibe	523	29,3
Presencia de acueducto	834	46,7
Corral	1783	99,8
Manga	1635	91,5
Brete	352	19,7
Botalón	503	28,1
Calceta	303	17,0
Establo	556	31,1
Cercas perimetrales	1569	87,8
Puertas	1571	87,9

*Datos perdidos 663 (27,1%)

Las variables ambientales e infraestructurales que fueron incluidas en la encuesta epidemiológica, indicaron que alrededor del 47 % de los predios contaban con pozo profundo o presencia de un abrevadero, cerca de la mitad de los predios contaban con acueducto, más del 90% de los predios contaban con corral y manga de bovinos, alrededor del 88% de los predios contaban con Cercas perimetrales y puertas.

Tabla 8. Análisis descriptivo según la variable (propósito)

Propósito		
Características	n= 2450	Porcentaje %
Cría	1000	56,0
Doble propósito	767	42,9
Leche	20	1,1

*Datos perdidos 663 (27,1%)

El análisis descriptivo según la variable (propósito) del ganado bovino incluido en el estudio, indicó que más del 50 % de los bovinos estaban destinados a la producción de cría, cerca de un 43% a doble propósito y alrededor del 1% a producción de leche.

Tabla 9. Análisis descriptivo según el tipo de explotación

Tipo de explotación		
Características	n= 2450	Porcentaje %
Extensivo	983	55,3
Intensivo	180	10,1
Semi- intensivo	615	34,6

*Datos perdidos 672 (27,4%)

El análisis descriptivo según el tipo de explotación del ganado bovino incluido en el estudio, indicó que más de la mitad de los predios tiene un tipo de explotación extensivo, el 10 % es Intensivo y cerca del 35% semi- intensivo.

7.2 Análisis bivariado

Tabla 10. Asociación de seropositividad del VDVB con variables ambientales y de infraestructura

	Seropositividad del VDVB							
	Positivo		Negativo		p	OR	IC	
	n	%	n	%			95%	
Pozo profundo	263	31,2%	579	68,8%	,043*	1,236	1,007	1,517
Presencia de río	159	37,2%	268	62,8%	,000*	1,661	1,319	2,091
Presencia de abrevadero	288	34,3%	551	65,7%	,000*	1,641	1,336	2,016
Presencia de aljibe	179	34,2%	344	65,8%	,001*	1,426	1,145	1,775
Presencia de acueducto	275	33,0%	559	67,0%	,000*	1,445	1,177	1,775
Corral	513	28,8%	1270	71,2%	0,007			
Manga	475	29,1%	1160	70,9%	0,712	1,072	0,740	1,554
Brete	141	40,1%	211	59,9%	,000*	1,882	1,475	2,401
Botalón	149	29,6%	354	70,4%	0,687	1,048	0,835	1,314
Calceta	118	38,9%	185	61,1%	,000*	1,734	1,340	2,245
Establo	213	38,3%	343	61,7%	,000*	1,894	1,528	2,347
Cercas perimetrales	476	30,3%	1093	69,7%	,000*	1,880	1,316	2,685
Puertas	469	29,9%	1102	70,1%	,020*	1,490	1,062	2,090

* Prueba χ^2 , Prueba exacta de Fisher, estadísticamente significativo p <0,05

La asociación de seropositividad del VDVB con las variables ambientales y de infraestructura, mostró una asociación estadísticamente significativa para mayor seropositividad del VDVB con la mayoría de las variables a excepción de presencia de Manga (P >0,712) y de Botalón (P >0,687).

Tabla 11. Asociación de seropositividad del VDVB con las variables de sexo y raza de los bovinos incluidos en el estudio

		Seropositividad VDVB				p	OR	IC 95%	
		Positivo		Negativo					
		n	%	n	%				
Sexo	Hembra	708	31,8%	1521	68,2%	0,601	0,925	0,690	1,240
	Macho	74	33,5%	147	66,5%				
Raza	Bovina Pura	401	29,8%	943	70,2%	,015*	1,809	1,682	1,960
	Bovina cruce	381	34,4%	725	65,6%				

* Prueba χ^2 , Prueba exacta de Fisher, estadísticamente significativo p <0,05

La asociación de seropositividad del VDVB con las variables de sexo y raza, mostró una relación estadísticamente significativa asociada a mayor seropositividad del VDVB en animales de raza bovina pura (P <0,015).

Tabla 12. Asociación de seropositividad del VDVB con las variables de tipo de explotación y propósito de los bovinos incluidos en el estudio

		Seropositividad VDVB				p	OR	IC 95%
		Positivo		Negativo				
		n	%	n	%			
Tipo de explotación	Extensivo	219	22,3%	764	77,7%	,000*		
	Intensivo	80	44,4%	100	55,6%			
	Semiintensivo	205	33,3%	410	66,7%			
Propósito	Cría	259	25,9%	741	74,1%	,005*		
	Doble propósito	250	32,6%	517	67,4%			
	Leche	8	40,0%	12	60,0%			

* Prueba χ^2 , Prueba exacta de Fisher, estadísticamente significativo p <0,05

La asociación de seropositividad de DVB con las variables de tipo de explotación y propósito, mostró diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de explotación extensivo (P <0,000) y el propósito de cría (P <0,005) con la presencia de DVB.

Tabla 13. Asociación de seropositividad del VDVB con edad en meses

Seropositividad DVB		Estadísticas de grupo			
		N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Edad en Meses	SI	782	59,86	28,619	1,023
	NO	1668	54,73	30,736	0,753

La asociación de seropositividad del VDVB con edad en meses, indicó una diferencia estadísticamente significativa con una media de 59,8 meses para la población seropositiva y una media de 54,7 meses para la población seronegativa para DVB.

Tabla 14. Prueba de muestras independientes para la edad en meses

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
Edad en Meses	Se asumen varianzas iguales	6,686	0,010	3,940	2448	0,000	5,135	1,304	2,579	7,691
	No se asumen varianzas iguales			4,042	1630,653	0,000	5,135	1,270	2,644	7,627

Prueba T de student estadísticamente significativo $p < 0,05$

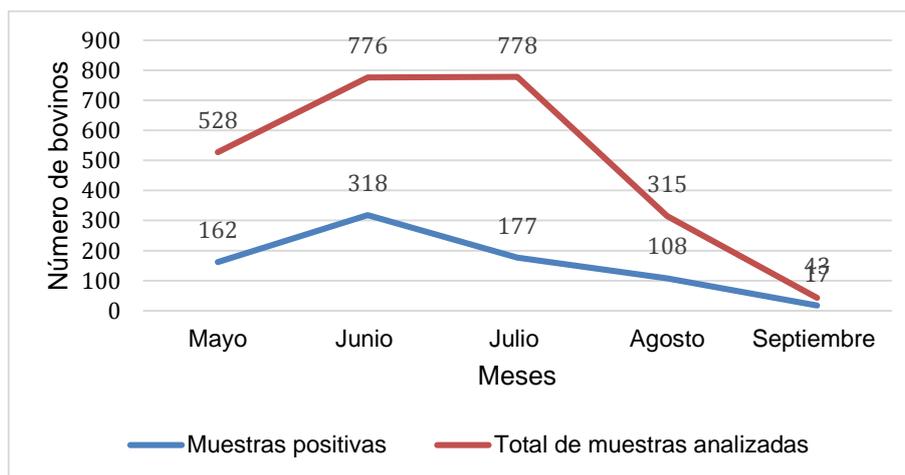
La prueba de muestras independientes para la edad en meses, Prueba de T student, indicó que no se asumen varianzas iguales para la edad en meses de los bovinos muestreados.

Tabla 15. Muestras positivas para VDVB discriminadas por mes

	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre
Muestras positivas	162	318	177	108	17
Total de muestras analizadas	528	776	778	315	43
% de muestras positivas	31%	41%	23%	34%	40%

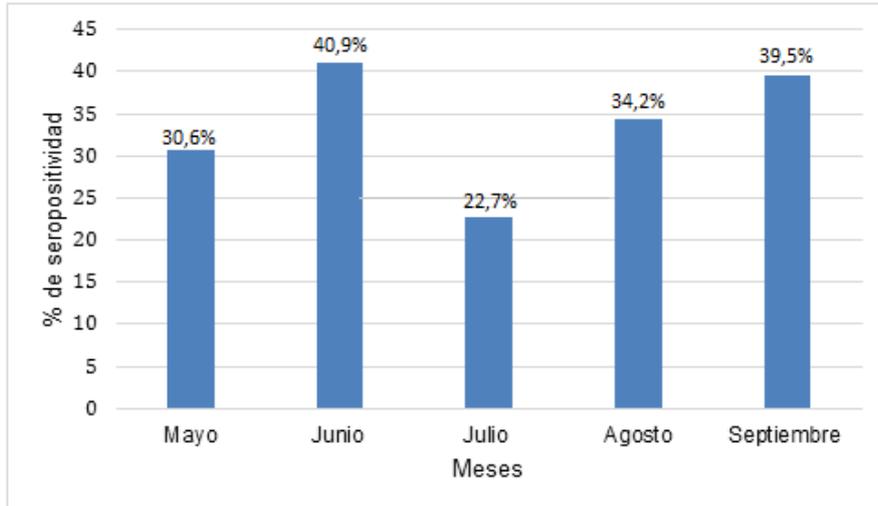
Las muestras positivas para VDVB discriminadas por mes, indicaron una seropositividad alta en los meses de Julio y Septiembre con 318 (41%) y 17 (40%) animales seropositivos, respectivamente, según en número de muestras analizadas en el respectivo mes.

Figura 5. Muestras seropositivas para VDVB por mes



El diagrama lineal, ilustra la seropositividad para VDVB por meses, indicó una seropositividad alta en los meses de Julio y septiembre con 318 y 17 animales seropositivos, respectivamente, según en número de muestras analizadas en el respectivo mes.

Figura 12. Porcentaje de seropositividad para VDVB por mes en Tauramena, Casanare



El diagrama de barras, ilustra el porcentaje de seropositividad para VDVB por mes, demostrando un mayor porcentaje de seropositividad en los meses de Julio con un 40.97 % y en el mes de septiembre 39.53% con respecto al total de muestras analizadas.

Tabla 16. Casos agrupados por veredas y el número de animales seropositivos y seronegativos

Vereda	Número de seropositivos	Número de seronegativos	Total general
Aceite alto	25	40	65
Agua Blanca	14	40	54
Batallera	23	102	125
Bendiciones	19	33	52
Cabañas	70	146	216
Chaparral	17	40	57
Chitamena	39	71	110
Chitamena Bajo	24	21	45
Delicias	41	78	119
El Oso	1	31	32
El Palmar	15	29	44
Esmeralda	25	61	86
El aguamaco	22	65	87
Guira	55	222	277
Iquia	34	54	88
Jaguito	82	69	151
La Esmeralda	49	52	101
Monserate	10	18	28
Pinalito	9	5	14
Raizal	16	155	171
Villa Rosa	25	23	48
Visinaca	35	50	85
Yaguaros	112	244	356
Total general	782	1668	2000

Los casos agrupados por veredas y el número de animales seropositivos y seronegativos con respecto al total de bovinos muestreados, indicó que el mayor número de animales seropositivos estaba en la vereda de Juve con 24 bovinos seropositivos para VDVB.

7.5 Regresión logística

Se realizó una regresión logística para evaluar la influencia que tienen los factores estadísticamente significativos encontrados en el análisis bivariado y asociados al VDVB, con el fin de generar un modelo explicativo para la variable dependiente.

Tabla 17. Resumen del modelo de regresión logística

Logaritmo de la verosimilitud -2	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1952,026 ^a	0,089	0,128

El resumen del modelo, indicó un coeficiente de determinación R² que explicaría entre el 8,9% y 12,8 % de la varianza de la variable dependiente (R² de Nagelkerke 0,128 - R² de Cox y Snell 0,089).

Tabla 18. Clasificación de la variable seropositividad según el modelo de regresión logística

Tabla de clasificación				
		Pronosticado		
		Seropositividad DVB RegLog		Porcentaje correcto
		0	1	
Seropositividad DVB RegLog	0	1196	74	94,2
	1	426	78	15,5
Porcentaje global				71,8

La clasificación de la variable seropositividad según el modelo de regresión logística, indicó que, a partir solo de la constante, se puede predecir el 71,8% de los casos acertadamente.

Tabla 19 Variables en la ecuación incluidas en el estudio de regresión logística

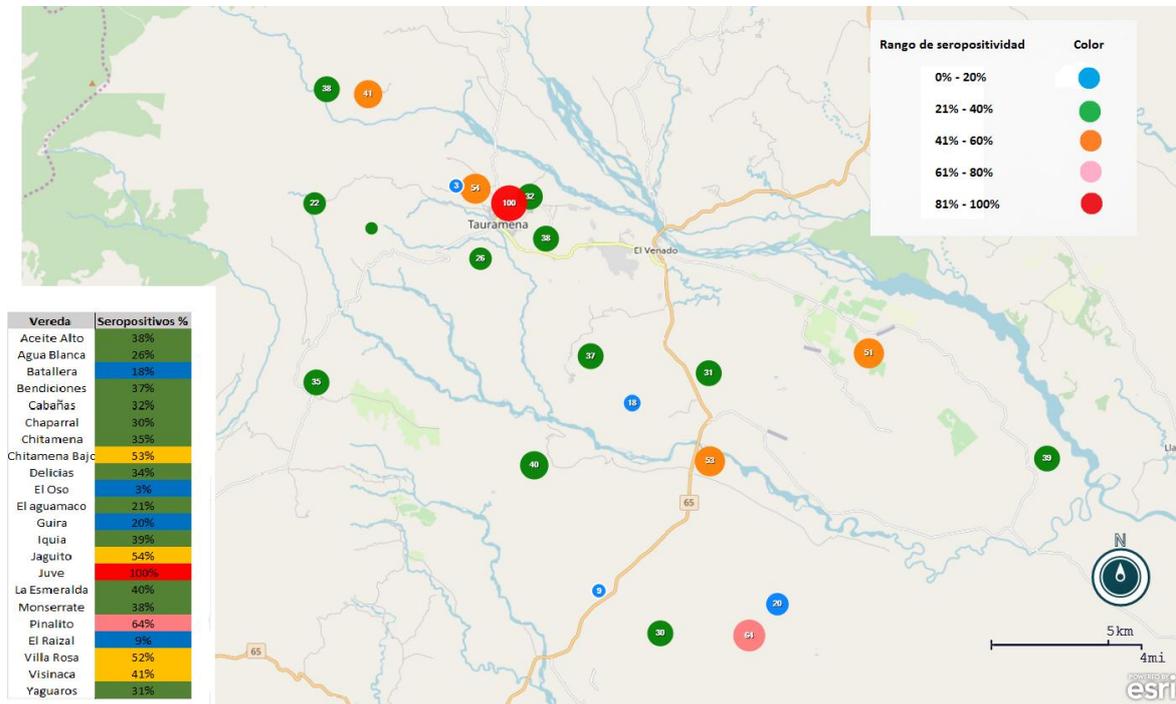
Variables en la ecuación								
	B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Raza (1)	-0,316	0,126	6,320	1	0,012	1,729	0,570	0,933
Propósito			7,165	2	0,028			
Propósito (1)	0,617	0,626	0,973	1	0,324	1,854	0,544	6,322
Propósito (2)	0,928	0,619	2,250	1	0,134	2,531	0,752	8,514
Pozo profundo (1)	0,242	0,147	2,712	1	0,100	1,273	0,955	1,697
Presencia de río (1)	0,446	0,139	10,309	1	0,001	1,562	1,190	2,050
Presencia de abrevadero (1)	0,080	0,127	0,402	1	0,526	1,084	0,845	1,390
Presencia de aljibe (1)	0,358	0,135	7,016	1	0,008	1,430	1,097	1,863
Presencia de acueducto (1)	0,431	0,151	8,186	1	0,004	0,539	0,145	0,768
Corral (1)	- 22,943	20096,236	0,000	1	0,999	0,000	0,000	
Brete (1)	0,232	0,268	0,748	1	0,387	1,261	0,746	2,131
Calceta (1)	0,113	0,271	0,175	1	0,676	1,120	0,659	1,903
Establo (1)	-0,016	0,143	0,012	1	0,913	0,985	0,744	1,303
Puertas (1)	-0,187	0,307	0,372	1	0,542	0,829	0,455	1,513
Tipo de explotación			40,995	2	0,000			
Tipo de explotación (1)	-0,583	0,137	18,069	1	0,000	0,558	0,426	0,730
Tipo de explotación (2)	0,594	0,192	9,590	1	0,002	1,811	1,244	2,638
Constante	20,207	20096,236	0,000	1	0,999	596526644,123		

Prueba de regresión logística estadísticamente significativo $p < 0,05^*$

Las variables en la ecuación incluidas en el estudio de regresión logística, indicaron que: la raza bovina pura ($P < 0,012$), la presencia de un río ($P < 0,001$), aljibe (P

<0,008), acueducto (P <0,004), tipo de explotación extensivo (P <0,002), son factores asociados a una mayor probabilidad de presentar seropositividad para VDVB.

Figura 1. Georreferenciación según seropositividad de DVB en veredas de Tauramena, Casanare



La georreferenciación de casos agrupados del porcentaje de animales seropositivos se encuentra distribuidos de forma dispersa, evidenciando que la vereda de Juve tuvo un 100% de animales seropositivos; en las veredas Batallera, Guira, El Oso, y El Raizal no superaron el 20% de animales seropositivos.

7 DISCUSIÓN

La caracterización serológica para VDVB en este estudio (Tabla 6), se hizo mediante la prueba de (ELISA) competitiva, que detecta Ac presentes en muestras de suero. La seropositividad obtenida fue del 31,9%, del total de bovinos muestreados (n = 2450). Este resultado se acerca al rango de valores de seropositividad que han sido reportados en otras investigaciones desarrolladas en nuestro país: Vera V et al (1996), reporto porcentajes de seropositividad del 89%¹⁶¹ en la Sabana de Bogotá, Betancur H et al (2007) 29.4% en Montería, Córdoba, del mismo modo Buitrago H (2018) 27,1%¹⁷, Cedeño et al (2011) 32,7% en Pasto, Nariño¹⁸, Motta G et al (2013) seropositividad de 81.1%, 15.7% y 58% en hatos mixtos y 87% en hatos bovinos en el departamento de Caquetá²⁰, Ramírez V et al (2016) 75.7% en Milagros, Antioquia²², Moreno F et al (2017) 76.4% en Boyacá²³, Buitrago H et al (2018) 27.1% en la Sabana de Bogotá²⁴ y Vargas N et al (2018) 29.7% en el departamento de Santander²⁵.

Así mismo, se han realizado estudios de seropositividad para la DVB en países de Suramérica, como lo han reportado: Obando R (1999) 42% en Venezuela¹⁷¹, Odeon A et al (2001) 45% en Argentina¹⁷², Ståhl K et al (2003) 82%¹⁷³ y Cárdenas A et al (2011) 96% en Perú¹⁷¹, Reinhardt G et al (2002) 72.5% y Guarino H (2008) 83% en Chile¹⁷⁴, Batista M (2009) 72% en Brasil¹⁷⁸ y Saa et al (2012) 36.2% en Ecuador¹⁷⁰. Aunque la seropositividad de la infección varía entre las diferentes investigaciones, algunos de los valores reportados se acercan al resultado obtenido en el presente estudio y se demuestra que la infección del VDVB prevalece alcanzando un 27% a 97% de ganado con serología positiva¹⁷¹.

Por otro lado, en este estudio no se debe descartar la presencia de animales PI, ya que estos no evidencian una serología fácilmente detectable. Para este caso sería recomendable repetir el muestreo y realizar una segunda prueba de ELISA, por lo menos con 3 semanas de diferencia, como se menciona en la literatura internacional consultada para la identificación de estos animales^{55, 140}. El resultado de esta prueba, constituye un parámetro importante para determinar la presencia de animales PI, siendo una técnica rápida y sencilla para el diagnóstico de esta enfermedad, de

manera que se podría implementar un sistema de control de la enfermedad a nivel predial con grandes ventajas sobre otros métodos más engorrosos como el aislamiento e identificación del virus en cultivos de células o también se podría realizar una prueba de ELISA para la detección de antígeno viral¹⁴⁵.

Muñoz et al (2004), en su estudio acerca del efecto de la infección por el VDVB, sobre la fertilidad de las vaquillas lecheras y Betancur H et al (2007), en su estudio sobre seroepidemiología de la diarrea viral bovina en Montería, Colombia, encontraron que los bovinos mayores a 4 años (48 meses) de edad, mostraban un aumento en la seropositividad para DVB, a comparación con aquellos animales de menor edad, esto se puede presentar ya que son animales que llevan muchos años destinados a la reproducción y han tenido predisposición a estados de inmunodepresión, lo cual facilita la infección con diferentes agentes virales, por lo que se concluye que esta enfermedad puede presentarse en cualquier edad del ciclo productivo de los animales pero los índices de seropositividad aumentan conforme al aumento de la edad de los animales^{19,34}. Lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio (Tabla 3), ya que la media de la edad en meses de los bovinos muestreados fue de 56 meses, lo que indica que han tenido una mayor exposición al virus a lo largo de su vida productiva.

En cuanto a la asociación de seropositividad y la variable raza (Tabla 11) en el presente estudio, demostró que la raza bovina pura (OR=1,72; IC 95% 1,57 – 1,933), fue un factor asociado a la presentación del VDVB, evidenciando el riesgo que tienen estos animales para contraer enfermedades reproductivas. Lo que concuerda con Dickerson (1969), en investigaciones relacionadas con la adecuada utilización de los cruces, donde identifica las ventajas, tanto a nivel reproductivo como a nivel productivo, que tienen estos respecto a bovinos de raza pura, ya que la variación genética entre razas es un recurso natural que ha sido implementado en las ganaderías para una producción animal más eficiente¹⁷⁴. Maltecca et al (2006), VanRaden et al (2003) y Lopez et al (2000), en estudios sobre el alta tasa concepción y la rentabilidad de los cruces de razas bovinas, hablan sobre una alternativa para mejorar ciertas características como lo son: aumento y facilidad de partos, salud, longevidad, calidad de la leche, fertilidad y mayor resistencia a enfermedades

reproductivas generando mayores beneficios por heterosis y complementariedad lo cual no proporcionan los animales de raza pura ^{175,176,177}.

Mediante regresión logística, se hizo la asociación de seropositividad del VDVB y variables de abastecimiento de agua (Tabla 19), teniendo en cuenta que dentro de los predios muestreados se encontraron diferentes fuentes de agua para el abastecimiento del hato bovino, para este estudio la presencia de río (OR 1,56 IC95% 1,19 – 2,05) y aljibe (OR 1,43 IC95% 1,097 – 1,863), fueron factores asociados a una mayor seropositividad de DVB. Por el contrario, la presencia de acueducto (OR 0,539 IC 0,145 - 0,768), no fue un factor asociado. Esto concuerda con un estudio realizado por Villar (2015) en Perú, donde estable que el 29.7% de hatos bovinos que se abastecían de agua potable de acueducto evidenciaron menos animales seropositivos, mientras que el 51.4% de hatos que se abastecían de puquiales, canales, entre otras infraestructuras provisionales presentaron mayor seropositividad para VDVB, ya que no cuentan con una adecuada corriente de agua y ésta puede retener muchos más desechos y de mayor contaminación para los animales que se alimenten de estas aguas¹⁷⁸.

Sánchez (1998), en estudios sobre el control para DVB, manifiesta la importancia de la calidad del agua para la ganadería y la poca importancia que se tiene para el abastecimiento de los animales de producción, ya que, de acuerdo al origen de ésta, se podrían presentar diferentes riesgos de contaminación con agentes patógenos como el VDVB, entre otros. Teniendo en cuenta que las principales vías de acceso del virus al organismo son las vías oro nasal, también es posible la transmisión indirecta, ya sea por la ingesta de alimentos o agua contaminada¹⁷⁹. Asimismo, Lager et al (2000), en su estudio sobre la importancia de la calidad del agua en la producción lechera, evidenció que en la ganadería de alta calidad de producción y reproducción, es ideal que el agua que se suministra a los animales sea igual a la requerida para las zonas urbanas para que se reduzca el riesgo a infecciones¹⁸⁰.

La seropositividad del VDVB y variables de tipo de explotación (Tabla 19) en el estudio, demuestra que el tipo de explotación intensivo (OR 1,811; IC 1,24 - 2,638) es un factor asociado y el tipo de explotación extensivo (OR 0,558; IC 0,426 - 0,730) no fue un factor asociado. Ståhl et al (2008), en estudios sobre la seroconversión del

VDVB, demuestran que cuando el virus entra o está presente en hatos de explotación extensiva o semiextensiva, conformado por pocos animales, generalmente todos son infectados con consecuencias clínicas que varían, algunos de estos seroconvierten y crean una barrera de protección frente a una nueva infección, siendo ésta auto limitante¹⁸¹. Por otra parte, Renzo et al (2006) y Stahl et al (2006) en estudios acerca de patógenos reproductivos como el VDVB en la crianza intensiva exponen que cuando el virus entra en hatos bovinos donde se maneja este tipo de explotación, éste persiste en el hato, a menos de que se instaure un adecuado sistema de control y bioseguridad^{182,183}.

Otros estudios realizados por Waldner et al (2013) y Sheldon et al (2006), sobre el manejo del rebaño y eventos de historia reproductiva asociados con el riesgo de días abiertos sin preñez, hablan acerca de las condiciones de producción intensivas, las cuales se relacionan con predios de mayor presencia de enfermedades, ya sean reproductivas o no, asociándolas a una mayor tecnificación en los predios^{184, 185}. Por ejemplo, Villar et al (2015), en su estudio sobre los factores de riesgo para DVB y Neospora sp. en la región de Junin, relacionó el empleo del ordeño mecánico con la presentación de estas dos infecciones, donde haciendo uso de éste se puede tener un adecuado control y monitoreo individual en cuanto a la producción, pero no siempre se usan buenas prácticas a la hora de realizarlo, por lo que se ha observado muchas deficiencias en la mayoría de los hatos, ya que esto incrementa la posibilidad de trastornos y enfermedades en la ubre, disminución del estado de salud general y presentación de otras enfermedades en los animales¹⁷⁸.

Además, Manteca X y Temple D (2013) y Odeón M (2017), realizaron investigaciones acerca del estrés en el ganado, sus causas y efectos sobre la producción, donde afirman que en este tipo de explotación, se suele empelar un inadecuado manejo del ganado el cual lo expone a ciertos agentes estresores como lo son: el maltrato con látigos, descargas eléctricas, transporte de los animales cambiando drásticamente las condiciones de su entorno, perturbando el bienestar de los animales y se presentan varias alteraciones que pueden tener consecuencias adversas sobre el rendimiento de los bovinos. Estas pueden inducir cambios en la respuesta inmune, por consiguiente un aumento de la susceptibilidad a las enfermedades, disminución de la ingesta de alimento y de la rumia, que altera la producción, entre otros, que

posteriormente afectará negativamente la rentabilidad y viabilidad económica de la actividad ganadera^{186, 187}.

En cuanto a la georreferenciación, teniendo en cuenta que la distribución del ganado seropositivo fue homogénea para todo el municipio de Tauramena en el que se realizó el análisis de asociación. Se tomaron las coordenadas geográficas para su localización espacial y el número de casos que resultaron seropositivos para VDVB (Figura13), La alta seropositividad encontrada por predios se explica, dado que se considera a un predio positivo cuando al momento del muestreo se confirme uno o más casos seropositivos para VDVB, denotando que en más de la mitad de los predios se encontró al menos un bovino con titulación de anticuerpos positiva para el microorganismo, lo que sugiere que la enfermedad puede estar diseminada en el municipio de Tauramena, Casanare.

Benavides B et al (2010), en su estudio sobre los factores de riesgo asociados al aborto bovino, hablan sobre el VDVB ya que tiene grandes implicaciones a nivel reproductivo, por lo cual la vacunación, en el control de la enfermedad, genera un efecto benéfico en los animales, aun cuando no se practiquen pruebas diagnósticas para el agente infeccioso de manera rutinaria, como se recomienda en algunos programas preventivos¹⁸⁸. Esto tiene gran importancia en el presente estudio, ya que en la encuesta epidemiológica (Anexo 2), realizada a los propietarios de los predios muestreados de Tauramena, Casanare, refieren que no se ha practicado la correspondiente vacunación contra la DVB, lo cual no contribuye a un control de la enfermedad en el municipio.

Las enfermedades virales en el ganado seguirán siendo diversas y estarán presentes tras el paso de los años, el tener un adecuado control y la erradicación de las mismas requerirá de la implementación de sistemas de detección que sean flexibles y adaptables ante diferentes cambios¹⁸⁹. El desarrollo que se verá a futuro generará migraciones y el comercio continuará promoviendo la propagación de infecciones a otras poblaciones. Posiblemente el comercio de animales y sus productos derivados, los sistemas de producción industrial a gran escala, son de gran preocupación ya que generan las condiciones adecuadas para permitir la transmisión de enfermedades entre animales a pesar de las grandes distancia¹⁹⁰. Esto plantea la necesidad de

mejora y uso adecuado de los métodos diagnósticos y la detección temprana de animales PI, junto con una mayor conciencia y preparación de los ganaderos que trabajan con industrias bovinas y de entidades responsables de crear políticas.

8. CONCLUSIONES

La seropositividad obtenida para el VDVB fue del 31,9%. Este resultado se acerca al rango de valores de seropositividad que han sido reportados en otras investigaciones desarrolladas en diferentes departamentos y municipios de Colombia.

Los factores asociados a la presentación del virus de la Diarrea Viral Bovina fueron: ser de raza bovina pura (OR=1,72; IC 95% 1,57 – 1,933); las fuentes de agua para el abastecimiento del hato bovino como la presencia de río (OR 1,56 IC95% 1,19 – 2,05) y aljibe (OR 1,43 IC95% 1,097 – 1,863) y el tipo de explotación intensivo (OR 1,811; IC 1,24 - 2,638).

Po otra parte, el tener acueducto como fuente de abastecimiento (OR 0,539 IC 0,145 - 0,768) y los bovinos destinados al tipo de explotación extensivo (OR 0,558; IC 0,426 - 0,730), no fueron factores asociados.

Como hallazgo de importancia se encuentra que en los predios muestreados no hay un plan vacunal contra VDVB.

La georreferenciación de casos agrupados del porcentaje de animales seropositivos, indicó que todas las veredas del municipio presentaron por lo menos un animal seropositivo, evidenciando la presencia y diseminación del virus en el mismo.

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda a las instituciones gubernamentales del municipio de Tauramena, Casanare, dar a conocer a los dueños de los predios la complejidad de la DVB, sus manifestaciones clínicas y la importancia de ejercer un plan de vacunación contra esta enfermedad.

Profundizar en este tipo de investigaciones en el municipio de Tauramena, considerando el status de los animales PI, su seroconversión y el status de otras enfermedades reproductivas en bovinos como la IBR, Leucosis y demás, según factores asociados a su presentación y las características similares que hay entre estas.

Realizar estudios con información completa de la población a estudiar, mejor distribución de los muestreos ya sea por predios, veredas o departamentos, en lo posible realizar muestreos pareados que permitan tener una idea más clara de seropositividad del VDVB.

Establecer estrategias entre los productores, sectores industriales involucrados con esta actividad, instituciones gubernamentales y las autoridades competentes, para diseñar y aplicar programas de prevención y control de DVB, como lo es la vacunación, basándose en los factores asociados a la presentación de la enfermedad.

10. REFERENCIAS

1. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Censo Pecuario Nacional para el año 2019. [Internet]. [Cited 2019 June 26]. Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>.
2. Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE. Informe de coyuntura económica regional. (Departamento de Casanare). 2015. [Internet] 2015. [cited 2018 April 11]:28-47. Available from: https://www.dane.gov.co/files/icer/2015/ICER_Casanare_2015.pdf.
3. Vargas DS, Góngora AO, Correa JJ. Enfermedades virales emergentes en ganado de leche de América Latina. Orinoquia [Internet]. 2012. [Cited 2018 April 13];16(2):88-96. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v16n2/v16n2a10.pdf>.
4. Khodakaram A, Farjanikish GH. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. Iranian journal of veterinary research. [Internet] 2017. [Cited 2018 April 15];18(3):154-63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5674437/>.
5. Richter V, Lebl K, Baumgartner W, Obritzhauser W, Käsbohrer A, Pinior B. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. The Veterinary Journal. [Internet] 2017. [cited 2018 April 15];220:80-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28190502>.
6. Olafson P. An apparently new transmissible disease of cattle. Cornell Vet. [Internet]. 1946 [cited 2018 April 24] 36:205-13. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0368174257800265>.
7. Huck RA. Mucosal disease complex. Journal of Comparative Pathology and Therapeutics. [Internet]. 1957 [Cited 2018 April 24];67:267-76. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0368174257800265>.
8. Underdahl NR, Grace OD, Hoerlein AB. Cultivation in Tissue-Culture of Cytopathogenic Agent from Bovine Mucosal Disease. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. [Internet] 1957 [Cited 2018 April 27] ;94(4):795-7. Available from: https://www.researchgate.net/publication/10134441_Cultivation_in_Tissue-Culture_of_Cytopathogenic_Agent_from_Bovine_Mucosal_Disease
9. Lee KM GJ. Propagation of virus diarrhoea virus of cattle in tissue culture. [Internet]1957. [cited 2018 Apr 27];18:952-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13470255?report=abstract>
10. Thomson RG, Savan M. Studies on Virus Diarrhoea and Mucosal Disease of Cattle. Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science. [Internet]. 1963 [cited 2018 April 27];27(9):207-14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1583701/>.
11. Malmquist WA. Bovine viral diarrhoea – Mucosal disease: Etiology, pathogenesis and applied immunity.1968; 4:10-3.
12. Rojas AB. Diarrea viral bovina en terneros y terneras procedentes de Holanda: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. [Internet]. 1975 [cited 2018 May 2]. Available from: https://books.google.com.co/books/about/Diarrea_viral_bovina_en_terneros_y_terne.html?id=Y9X1jgEACAAJ&redir_esc=y
13. Griffiths IB, Gallego Marín M, Villamil Jiménez L. Factores de infertilidad y pérdidas económicas en ganado de leche en Colombia. [Internet]. 1982 [cited 2018

- May 2]. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007070520160001002 13.
14. Orjuela J, Navarrete M, Betancourt L. Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia ICA [Internet]. 1991 [cited 2018 May10]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/u5700t/u5700T07.htm>.
15. Parra Arango JL. Influence of infection with bovine viral diarrhoea and of coinfection with VLB, Leptospira hardjo and IBR on the production of dairy cattle. [Internet]1994. Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do>.
16. Jaime VL, Vera V, Ramírez GC. Infección persistente con el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos lecheros de la Sabana de Bogotá. 1996; 49:46 – 53.
17. Betancur H CA GL, Martínez F G. Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en Montería (Cordoba, Colombia). Analecta veterinaria [Internet]. 2007 [cited 2018 May 18]:1-6. Available from: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11204/Documento_completo_.pdf?sequence=1.
18. Cedeño Quevedo D, Benavides Benavides B, Cárdenas G, Herrera C. Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVVB in dairy herds in Pasto, Colombia, in 2011. Revista Lasallista de Investigación. [Internet]. 2011 [cited 2018 May 18]:8:61-8. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v8n2/v8n2a07.pdf>.
19. Zúñiga IA. Módulo de salud animal. La salud del hato bovino. Fedegan [Internet]. 2011. [cited 2018 June 12]:10-8. Available from: <https://juanagro.files.wordpress.com/2014/02/302-salud-animal-bovina.pdf>
20. Motta Giraldo JL, Waltero García I, Abeledo MA. Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina, Herpesvirus bovino 1 y Herpesvirus bovino 4 en bovinos y búfalos en el Departamento de Caquetá, Colombia. Revista de Salud Animal. [Internet]. 2013[cited 2018 June 18]:35:174-81. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2013000300005.
21. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. El ICA establece 124 enfermedades que afectan la producción pecuaria, las cuales tienen que ser declaradas obligatoriamente 2015. [Internet]. [Cited 2018 June 26]. Available from: <https://www.ica.gov.co/Noticias/Agricola/2015/El-ICA-establece-124-enfermedades-que-afectan-la-p.aspx>.
22. Ramírez NF, Villar D, Fernández JA, Londoño J, Chaparro JJ, Olivera ME. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2016;11(1):15-25.
23. Moreno G, Benavides E, Guerrero B, Cruz A. Asociación entre seropositividad al virus de la diarrea viral bovina, leptospira interrogans y neospora caninum, y la ocurrencia de abortos en fincas de pequeños productores del cordón lechero de Boyacá, Colombia. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. [Internet]2017. [Cited 2018 June 26]:28:1002-9. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609911720170004000 26.
24. Buitrago ER, Jiménez C, Zambrano JL. Identificación de factores asociados con la exposición al virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en terneras de hatos lecheros de la sabana de Bogotá. Revista de Medicina Veterinaria. [Internet]2018. [Cited 2018 June 26]:63-73. Available from:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012293542018000100063&script=sci_abstract&tlng=es.

25. Vargas A, Vargas R J, Parra JA, Vásquez R M, Góngora O A, Mogollón E. Serological status of IBR, BVD, leucosis, Leptospira and Neospora caninum in bovine females of the department of Santander, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. [Internet] 2018. [cited 2018 June 30];23:6671-80. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012202682018000206671.
26. Underdahl NR GO, Hoerlein AB. Cultivation in tissue-culture of cytopathogenic agent from bovine mucosal disease. *Proc Soc Exp Biol Med*. [Internet]1957. [Cited 2018 July 10]; 4:795-802. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13431960?report=abstract>.
27. Sopp P, Hooper LB, Clarke MC, Howard CJ, Brownlie J. Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus p80 Protein in Subpopulations of Bovine Leukocytes. *J Gen Virol*. [Internet]1994. [Cited 2018 July 10];75(5):1189-94. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/pubmed/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-75-5-1189>
28. Dubovi EJ. Molecular biology of bovine virus diarrhoea virus. *Rev Sci Tech*. [Internet]1990. [Cited 2018 July 10]; 9:105-14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1966716>.
29. Simmonds P, Becher B, Bukh J, Gould EA., Meyers G., Monath T, Muerhoff S, Pletnev A, Rico R, Smith DB, Stapleton JT and ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Flaviviridae*. *Journal of General Virology*. [Internet] 2017. [Cited 2018 July 15]. Available from: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae#Citation.
30. Becher P, Thiel HJ, Tidona CA, Darai G, Büchen C. The Springer Index of Viruses. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [Internet] 2001. [Cited 2018 July 15]:327-31. Available from: <https://link.springer.com/referencework/10.1007/978-0-387-95919-1>
31. Heinz FX, Allison SL. Structures and mechanisms in flavivirus fusion. *Adv Virus Res*. [Internet] 2000. [Cited 2018 July 15]: 231-69. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065352700550052>
32. Iqbal M, Flick-Smith H, McCauley JW. Interactions of bovine viral diarrhoea virus glycoprotein Erns with cell surface glycosaminoglycans. *Journal of General Virology*. [Internet]2000. [Cited 2018 July 15];81(2):451-9. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/pubmed/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-81-2-451>
33. Kenny V, Brock, Ruitang D, Sylva M, Riblet. Nucleotide sequencing of 5' and 3' termini of bovine viral diarrhoea virus by RNA ligation and PCR. *Journal of Virological Methods*. [Internet]1992. [Cited 2018 July 20];38(1):39-46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016609349290167C?via%3Dihub>
34. Collett MS, Wiskerchen MA, Welniak E, Belzer SK. Bovine viral diarrhoea virus genomic organization. *Ruminant Pestivirus Infections*. *Arch Virol Suppl*. [Internet]1991. [Cited 2018 July 20];3:19-27. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9210922>
35. Becher P, Orlich M, Thiel HJ. Complete genomic sequence of border disease virus, a pestivirus from sheep. *Journal of virology*. [Internet]1998. [Cited 2018 July 23];72(6):5165-5173. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC110089/>

36. Brusckhe CJ, Hulst MM, Moormann RJ, van Rijn PA, Van JT. Glycoprotein Erns of pestiviruses induces apoptosis in lymphocytes of several species. *Journal of virology*. [Internet]1997. [Cited 2018 July 23];71(9):6692-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC191948/>
37. Gard JA, Givens MD, Stringfellow DA. Bovine viral diarrhea virus (BVDV): Epidemiologic concerns relative to semen and embryos. *Theriogenology*. [Internet]2007. [Cited 2018 July 25];68(3):434-442. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07001318?via%3Dihub>
38. Harada T, Tautz N, Thiel HJ. E2-p7 region of the bovine viral diarrhea virus polyprotein: processing and functional studies. *Journal of virology*. [Internet]2000. [Cited 2018 July 25];74(20):9498-9506. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC112379/>
39. Fulton RW, Ridpath JF, Confer AW, Saliki JT, Burge LJ, Payton ME. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *Biologicals*. [Internet]2003. [Cited 2018 July 25];31(2):89-95. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1045105603000216>
40. Ridpath JF, Bolin SR, Dubovi EJ. Segregation of Bovine Viral Diarrhea Virus into Genotypes. *Virology*. [Internet]1994. [Cited 2018 July 25];205(1):66-74. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042-6822\(84\)71620-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042-6822(84)71620-5)
41. Pellerin C, Van Den Hurk J, Lecomte J, Tijssen P. Identification of a New Group of Bovine Viral Diarrhea Virus Strains Associated with Severe Outbreaks and High Mortalities. *Virology*. [Internet]1994. [Cited 2018 July 27];203(2):260-8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042682284714838>
42. Fulton RW, Ridpath JF, Saliki JT, Briggs RE, Confer AW, Burge LJ, et al. Bovine viral diarrhea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can J Vet Res*. [Internet] 2002. [Cited 2018 July 27];66(3):181-90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC227002/>
43. Carman S, van Dreumel T, Ridpath J, Hazlett M, Alves D, Dubovi E, et al. Severe Acute Bovine Viral Diarrhea in Ontario, 1993–1995. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1998;10(1):27-35.
44. Ridpath JF, Bolin SR. Differentiation of types 1a, 1b and 2 bovine viral diarrhoea virus (BVDV) by PCR. *Mol Cell Probes*. [Internet]1998. [Cited 2018 August 02];12(2):101-106. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890-8508\(98\)90158-X](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890-8508(98)90158-X)
45. Jones LR, Weber EL. Application of Single-Strand Conformation Polymorphism to the Study of Bovine Viral Diarrhea Virus Isolates. *J Vet Diagn Invest*. [Internet] 2001. [Cited 2018 August 02];13(1):50-56. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/104063870101300110>
46. Corapi WV, Elliott RD, French TW, Arthur DG, Bezek DM, Dubovi EJ. Thrombocytopenia and hemorrhages in veal calves infected with bovine viral diarrhea virus. *J Am Vet Med Assoc*. [Internet] 1990. [Cited 2018 August 04];196(4):590-596. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2154423>
47. Stoffregen B, Bolin SR, Ridpath JF, Pohlenz J. Morphologic lesions in type 2 BVDV infections experimentally induced by strain BVDV2-1373 recovered from a field case. *Veterinary Microbiology*. 2000;77(1):157-162.
48. Pellerin C, Moir S, Lecomte J, Tijssen P. Comparison of the p125 coding region of bovine viral diarrhea viruses. *Veterinary Microbiology*. 1995;45(1):45-57.

49. Scherer CFC, Flores EF, Weiblen R, Caron L, Irigoyen LF, Neves JP, et al. Experimental infection of pregnant ewes with bovine viral diarrhoea virus type-2 (BVDV-2): effects on the pregnancy and fetus. *Veterinary Microbiology*. 2001;79(4):285-99.
50. Paton DJ. Pestivirus diversity. *Journal of Comparative Pathology*. 1995;112(3):215-236.
51. Bolin SR, Grooms DL. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2004;20(1):51-68.
52. Hamers C, Dehan P, Couvreur B, Letellier C, Kerkhofs P, Pastoret PP. Diversity Among Bovine Pestiviruses. *The Veterinary Journal*. [Internet] 2001. [Cited 2018 August 04];161 (2):112-122. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023300905045>
53. Vargas DS, Jaime J, Vera VJ. Perspectivas para el control del Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2009;22:677-88.
54. Nelson DD, Duprau JL, Wolff PL, Evermann JF. Persistent Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in Domestic and Wild Small Ruminants and Camelids Including the Mountain Goat (*Oreamnos americanus*). *Frontiers in Microbiology*. 2016;6(1415).
55. Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*. 1999;64(2):89-107.
56. Baker JC. The Clinical Manifestations of Bovine Viral Diarrhoea Infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. [Internet] 1995. [Cited 2018 August 07];11(3):425-445. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749072015304606?via%3Dihub>
57. Chase CL. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. *Biologicals*. [Internet] 2013. [Cited 2018 August 07];41(1):52-60. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1045-1056\(12\)00150-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1045-1056(12)00150-9)
58. McGowan M, Kirkland PD. Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Br Vet J*. [Internet] 1995. [Cited 2018 August 09]; 151 (3):263-270. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007193595801766>
59. Fredriksen B, Sandvik T, Løken T, Odegaard SA. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec*. [Internet] 1999. [Cited 2018 August 09]:111-114. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10070699>
60. Houe H. Epidemiology of Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. [Internet] 1995. [Cited 2018 August 09];11(3):521-47. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749-0720\(15\)30465-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749-0720(15)30465-5)
61. Bøtner A, Belsham GJ. Virus survival in slurry: Analysis of the stability of foot-and-mouth disease, classical swine fever, bovine viral diarrhoea and swine influenza viruses. *Veterinary Microbiology*. 2012;157(1):41-49.
62. Van Campen H, Rhyan J. The Role of Wildlife in Diseases of Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(1):147-161.
63. Voges H, Horner GW, Rowe S, Wellenberg GJ. Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non-viraemic bull. *Veterinary Microbiology*. 1998;61(3):165-175.
64. Animal Omds. Código zoosanitario internacional. Mamíferos, aves y abejas. [Internet] 2000. [Cited 2018 August 11] ;9:315-27. Available from: <https://www.oie.int/doc/ged/D6459.PDF>.

65. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Requisitos sanitarios para el comercio bilateral de semen de bovinos y bubalinos entre Colombia y Brasil. [Internet] 2007. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/4549e2da-38f6-4352-8290-b3a11e66c432/Semen-de-bovinos-y-bufalinos->.
66. Meyling A, Mikél Jensen A. Transmission of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from a persistently-infected bull. *Veterinary Microbiology*. 1988;17(2):97-105.
67. Brusckhe CJM, Weerdmeester K, Van Oirschot JT, Van Rijn PA. Distribution of bovine virus diarrhoea virus in tissues and white blood cells of cattle during acute infection. *Veterinary Microbiology*. 1998;64(1):23-32.
68. Wilhelmsen CL, Bolin SR, Ridpath JF, Cheville NF, Kluge JP. Experimental Primary Postnatal Bovine Viral Diarrhea Viral Infections in Six-month-old Calves. *Veterinary Pathology*. 1990;27(4):235-243.
69. Baule C, Kulcsár G, Belák K, Albert M, Mittelholzer C, Soós T, et al. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhoea virus type I. *Journal of clinical microbiology*. 2001;39(1):146-153.
70. Maurer K, Krey T, Moennig V, Thiel H-J, Rümenapf T. CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhoea virus. *J Virol*. [Internet] 2004. [Cited 2018 August 13];78(4):1792-1799. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747544>
71. Craig MJ, Perez D, Roy F, Merrick W, Donis RO. The NS5A protein of bovine viral diarrhoea virus interacts with the α subunit of translation elongation factor-1. *J Gen Virol*. [Internet] 2001. [Cited 2018 August 13]; 82(12):2935-2943. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/pubmed/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-82-12-2935>
72. Donis RO. Molecular Biology of Bovine Viral Diarrhoea Virus and its Interactions with the Host. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. [Internet] 1995. [Cited 2018 August 13];11(3):393-423. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S074907201530459X?via%3Dihub>
73. Bertrand G, Coste J, Segarra C, Schved J-F, Commes T, Marti J. Use of serial analysis of gene expression (SAGE) technology reveals new granulocytic markers. *J Immunol Methods*. [Internet] 2004. [Cited 2018 August 15];292(1):43-58. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-1759\(04\)00228-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-1759(04)00228-5)
74. Howard CJ, Clarke MC, Brownlie J. Protection against respiratory infection with bovine virus diarrhoea virus by passively acquired antibody. *Veterinary Microbiology*. 1989;19(3):195-203.
75. Müller D, Arquint A, Schaller P, Heegaard PMH, Hilbe M, Albin S, et al. Innate immune responses of calves during transient infection with a noncytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. [Internet] 2004. [Cited 2018 August 15];11(2):302-12. Available from: <https://cvi.asm.org/content/11/2/302>
76. Marshall DJ, Moxley RA, Kelling CL. Distribution of Virus and Viral Antigen in Specific Pathogen-free Calves Following Inoculation with Noncytopathic Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Veterinary Pathology*. 1996;33(3):311-318.
77. Blanchard PC, Ridpath JF, Walker JB, Hietala SK. An Outbreak of Late-Term Abortions, Premature Births, and Congenital Deformities Associated with a Bovine Viral Diarrhoea Virus 1 Subtype b that Induces Thrombocytopenia. *J Vet Diagn Invest*. [Internet] 2010. [Cited 2018 August 15];22(1):128-131. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20093701>

78. Potgieter LND. Immunology of Bovine Viral Diarrhea Virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* [Internet] 1995. [Cited 2018 August 15];11(3):501-520. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8581860>
79. Brodersen B, L Kelling C. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infection on respiratory tract and enteric disease in calves. *Am J Vet Res.* [Internet] 1998. [Cited 2018 August 18];1423-1430. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9829401>
80. Pedrera M, Gómez-Villamandos J, Risalde M, Molina Hernandez V, Sanchez-Cordon P. Characterization of Apoptosis Pathways (Intrinsic and Extrinsic) in Lymphoid Tissues of Calves Inoculated with Non-cytopathic Bovine Viral Diarrhoea Virus Genotype-1. *Journal of comparative pathology.* [Internet] 2011. [Cited 2018 August 18];146:30-39. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021-9975\(11\)00058-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021-9975(11)00058-2)
81. Gamlen T, Richards KH, Mankouri J, Hudson L, McCauley J, Harris M, et al. Expression of the NS3 protease of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus results in the induction of apoptosis but does not block activation of the beta interferon promoter. *J Gen Virol.* [Internet] 2010. [Cited 2018 August 18];91(1):133-144. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/pubmed/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.016170-0>
82. McClurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF, Bolin SR. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Canadian journal of comparative medicine : Revue canadienne de medecine comparee.* 1984;48(2):156-161.
83. Mena M, Riveron C. Óxido nítrico/sepsis. Controversias en su metabolismo, funciones y utilización. *Rev Cubana Pediatr.* [Internet] 1999. [Cited 2018 August 20]; 71 (4). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75311999000400009.
84. Schweizer M, Mätzner P, Pfaffen G, Stalder H, Peterhans E. "Self" and "nonself" manipulation of interferon defense during persistent infection: bovine viral diarrhoea virus resists alpha/beta interferon without blocking antiviral activity against unrelated viruses replicating in its host cells. *Journal of virology.* 2006;80(14):6926-6935.
85. Charleston B, Fray M, Baigent S, Carr B, Morrison W. Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *J Gen Virol.* [Internet] 2001. [Cited 2018 August 20]; 1893-1897. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/pubmed/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-82-8-1893>
86. Cocquyt G, Simoens P, Muylle S, Van den Broeck W. Anatomical and histological aspects of the bovine lingual tonsil. *Res Vet Sci.* [Internet]. 2008. [Cited 2018 August 21];84(2):166-173. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034-5288\(07\)00117-8](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034-5288(07)00117-8)
87. Manesse M, Delverdier M, Abella-Bourges N, Sautet J, Cabanié P, Schelcher F. An Immunohistochemical Study of Bovine Palatine and Pharyngeal Tonsils at 21, 60 and 300 Days of Age. *Anatomia, Histologia, Embryologia.* 1998;27(3):179-185.
88. Tang X, Hori S, Osamura RY, Tsutsumi Y. Reticular crypt epithelium and intra-epithelial lymphoid cells in the hyperplastic human palatine tonsil: An immunohistochemical analysis. *Pathology International.* 1995;45(1):34-44.

89. Rebelatto MC, Mead C, HogenEsch H. Lymphocyte populations and adhesion molecule expression in bovine tonsils. *Vet Immunol Immunopathol*. [Internet] 2000. [Internet]. 2008. [Cited 2018 August 21];73(1):15-29. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10678395>
90. Clough ER, Cebra JJ. Interrelationship of primed B cells with the potential for IgE and/or IgA expression. *Molecular Immunology*. 1983;20(9):903-915.
91. Mutwiri G, Watts T, Lew L, Beskorwayne T, Papp Z, Baca-Estrada ME, et al. Ileal and jejunal Peyer's patches play distinct roles in mucosal immunity of sheep. *Immunology*. 1999;97(3):455-461.
92. Reynolds JD, Morris B. The evolution and involution of Peyer's patches in fetal and postnatal sheep. *European Journal of Immunology*. 1983;13(8):627-635.
93. Palucka K, Banchereau J. How dendritic cells and microbes interact to elicit or subvert protective immune responses. *Current Opinion in Immunology*. [Internet] 2002. [Cited 2018 August 26];14(4):420-431. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0952791502003655>
94. Brackenbury LS, Carr BV, Charleston B. Aspects of the innate and adaptive immune responses to acute infections with BVDV. *Vet Microbiol*. [Internet] 2003. [Cited 2018 August 26]; 96(4):337-344. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113503002530>
95. Charleston B, Brackenbury LS, Carr BV, Fray MD, Hope JC, Howard CJ, et al. Alpha/beta and gamma interferons are induced by infection with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in vivo. *J Virol*. [Internet] 2002. [Cited 2018 August 30]; 76(2):923-927. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC136826/>
96. Hahn S, Gehri R, Erb P. Mechanism and Biological Significance of CD4-mediated Cytotoxicity. *Immunological Reviews*. 1995;146(1):57-79.
97. Endsley JJ, Roth JA, Ridpath J, Neill J. Maternal antibody blocks humoral but not T cell responses to BVDV. *Biologicals*. [Internet] 2003. [Cited 2018 August 30];31(2):123-125. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12770543>
98. Elvander M, Baule C, Persson M, Egyed L, Ballagi-Pordány A, Belák S, et al. An experimental study of a concurrent primary infection with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in calves. *Acta veterinaria Scandinavica*. 1998;39(2):251-264.
99. Young NJ, Thomas CJ, Collins ME, Brownlie J. Real-time RT-PCR detection of Bovine Viral Diarrhoea virus in whole blood using an external RNA reference. *J Virol Methods*. [Internet] 2006. [Cited 2018 August 30]; 138(1):218-222. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030066>
100. Fray MD, Paton DJ, Alenius S. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Animal Reproduction Science*. [Internet] 2000. [Cited 2018 September 02]; 60-61:615-627. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844229>
101. SAG SAyG. Ficha técnica: Diarrea Viral Bovina 2009. [Internet] 2009. Available from: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_diarrea_viral_bov.pdf.
102. Animal OMdS. Causas de enfermedades infecciosas y mecanismos de transmisión. [Internet] 2000. Available from: https://docplayer.es/78045782-Mecanismos-de-transmision.html#show_full_text.
103. Kirkland P, McGowan M, Mackintosh S, Moyle A. Insemination of cattle with semen from a bull transiently infected with pestivirus. *Vet Rec*. [Internet]1997. [Cited 2018 September 02]:124-127. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9042696>

104. Grooms DL, Brock KV, Pate JL, Day ML. Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology*. 1998;49(3):595-605.
105. Virakul P, Fahning ML, Joo HS, Zemjanis R. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of Bovine Viral Diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. *Theriogenology*. 1988;29(2):441-449.
106. Dubovi EJ. Impact of Bovine Viral Diarrhoea Virus on Reproductive Performance in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1994;10(3):503-514.
107. Booth P, Stevens D, Collins M, Brownlie J. Detection of bovine viral diarrhoea virus antigen and RNA in oviduct and granulosa cells of persistently infected cattle. *J Reprod Fertil*. [Internet]1995. [Cited 2018 September 08]: 17-24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7490710>
108. Rebhun WC, French TW, Perdrizet JA, Dubovi EJ, Dill SG, Karcher LF. Thrombocytopenia Associated With Acute Bovine Virus Diarrhoea Infection in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1989;3(1):42-46.
109. Kapoor A, Simmonds P, Scheel TKH, Hjelle B, Cullen JM, Burbelo PD, et al. Identification of rodent homologs of hepatitis C virus and pegiviruses. *Biology*. [Internet] 2013. [Cited 2018 September 08]; 4(2): e00216-13. Available from: <https://mbio.asm.org/content/4/2/e00216-13>
110. Wittum TE, Grotelueschen DM, Brock KV, Kvasnicka WG, Floyd JG, Kelling CL, et al. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in US beef herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 2001;49(1):83-94.
111. McGowan MR, Kirkland PD. Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *British Veterinary Journal*. 1995;151(3):263-270.
112. Lindberg A, Groenendaal H, Alenius S, Emanuelson U. Validation of a test for dams carrying foetuses persistently infected with bovine viral diarrhoea virus based on determination of antibody levels in late pregnancy. *Preventive Veterinary Medicine*. 2001;51(3):199-214.
113. Góngora A, Villamil L, Vera V, Ramírez G, Parra J. Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de la Sabana de Bogotá. énfasis en rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 1995;43(1):37-42.
114. Lertora WJ, Frías ML, Sánchez Negrette M. Detección inmunohistoquímica del antígeno del virus diarrea viral bovina en fetos y neonatos bovinos. *Rev vet*. [Internet] 2009. [Cited 2018 September 11]; 20: 31-35. Available from: <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/1879>
115. Deregt D, Loewen KG. Bovine viral diarrhoea virus: biotypes and disease. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*. 1995;36(6):371-378.
116. Grooms DL. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2004;20(1):5-19.
117. Khodakaram A, Ikede BO. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*. 2005;46(7):635-637.
118. Ridpath J. Sequence diversity and genotyping. symposium on bovine viral diarrhoea virus. 1996.
119. Brock KV. The persistence of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals*. [Internet] 2003. [Cited 2018 September 15]; 31(2):133-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12770545>

120. McClurkin A, Coria M, Cutlip R. Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1979;174(10):1116-9.
121. Charleston B, Fray MD, Baigent S, Carr BV, Morrison WI. Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *Journal of General Virology*. 2001;82(8):1893-7.
122. Adler B, Adler H, Pfister H, Jungi TW, Peterhans E. Macrophages infected with cytopathic bovine viral diarrhoea virus release a factor(s) capable of priming uninfected macrophages for activation-induced apoptosis. *Journal of virology*. 1997;71(4):3255-3258.
123. Adler H, Frech B, Meier P, W Jungi T, Peterhans E. Noncytopathic Strains of Bovine Viral Diarrhoea Virus Prime Bovine Bone Marrow-Derived Macrophages for Enhanced Generation of Nitric Oxide. 1994. 1562-1568.
124. Martin C, Baccili C, Silva B, Novo S, Sobreira N, Pituco E, et al. Detection of Bovine Viral Diarrhoea virus infection in newborn calves before colostrum intake. *Semina: Ciênc. Agrár.* [Internet] 2016. [Cited 2018 September 20]; 1379-1388. Available from: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/21732/19078>
125. Givens MD, Riddell KP, Walz PH, Rhoades J, Harland R, Zhang Y, et al. Noncytopathic bovine viral diarrhoea virus can persist in testicular tissue after vaccination of peri-pubertal bulls but prevents subsequent infection. *Vaccine*. 2007;25(5):867-876.
126. Brownlie J, C Clarke M, J Howard C. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus. *Res Vet Sci*. 1989; 307-311.
127. Kirkland P, Mackintosh S, Moyle A. The outcome of widespread use of semen from a bull persistently infected with pestivirus. *Vet Rec.* [Internet] 1994. [Cited 2018 September 21]. 527-529. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7879367>
128. Gruenberg W. Bovine Viral Diarrhoea and Mucosal Disease Complex. *MERCK Manual*. [Internet] 2003. Available from: <https://www.merckvetmanual.com/digestive-system/intestinal-diseases-in-ruminants/intestinal-diseases-in-cattle>.
129. Marques A, Assis A, Simões S, Tolentino MLD, Azevedo S. Risk factors associated with Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) infection in the semiarid of the state of Paraíba, in the northeast region of Brazil. *Semina: ciencias agrarias.* [Internet]2016. [Cited 2018 September 25]: 3095-3105. Available from: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/22493>
130. More AB, Butterworth, Calistri, Depner, Michel MAM, Nielsen, Raj, Sihvonen, Spooler J, Thulke, Velarde, Willeberg CW, Baldinelli, Broglia, Dhollander BB, Kohnle and Bicou D. Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): bovine viral diarrhoea (BVD). 2017; 15:7-15.
131. Tizard I. Imunidade no feto e no recém-nascido. (ed), *Imunologia Veterinária: uma introdução* 6ª ed Roca, São Paulo. 2002:233-246.
132. Talafha A, Hireche S, Ababneh M, Majali A. Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds in Jordan. *Trop Anim Health Prod.* [Internet] 2009. [Cited 2018 September 28]: 499-506. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18654834>

133. Grooms DL. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*. 2006;66(3):624-628.
134. Kelling C, Steffen DL, Cooper VS, Higuchi D, Eskridge K. Effect of infection with bovine viral diarrhoea virus alone, bovine rotavirus alone, or concurrent infection with both on enteric disease in gnotobiotic neonatal calves. 2002. 1179-1186.
135. Zimmer GM, Van Maanen C, De Goey I, Brinkhof J, Wentink GH. The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Veterinary Microbiology*. 2004;100(3):145-149.
136. Correa JC, Zapata CC, Obregón JO, Burnes J, Zavala R. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in North-Eastern Mexico. *Open veterinary journal*. 2016;6(2):143-149.
137. McDermott JJ, Kadohira M, O'Callaghan CJ, Shoukri MM. A comparison of different models for assessing variations in the sero-prevalence of infectious bovine rhinotracheitis by farm, area and district in Kenya. *Preventive Veterinary Medicine*. 1997;32(3):219-234.
138. Calderon JJ, Correa VM, Correa JC. Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*. [Internet] 2005. [Cited 2018 October 02]; 72(3):253-262. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16153725>
139. Jaime RC, Herranz B, Arias P, Vázquez FA. 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. *Preventive Veterinary Medicine*. 2001;52(1):63-73.
140. Celedon MO, Roco L, Quinteros G, Santibañez M, Berrios P. Puesta en evidencia del virus diarrea viral bovina en bovinos clínicamente afectados. *Archivos de medicina veterinaria*. 1997;29:189-195.
141. Brock KV. Diagnosis of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infections. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1995;11(3):549-561.
142. Saliki JT, Dubovi EJ. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. [Internet] 2004. [Cited 2018 October 04]; 20(1):69-83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15062475>
143. Foddai A, Stockmarr A, Boklund A. Evaluation of temporal surveillance system sensitivity and freedom from bovine viral diarrhoea in Danish dairy herds using scenario tree modelling. *BMC Vet Res*. [Internet]2016. [Cited 2018 October 04]: 118. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC47323903/>
144. Hove H. Serological analysis of a small herd-sample to predict presence or absence of animals persistently infected with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in dairy herds. *Research in Veterinary Science*. [Internet]1992. [Cited 2018 October 10];53(3):320-323. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/003452889290133M>
145. Reinhardt G, Riedemann S, Tadich N. Muestreo predial pequeño para predecir una infección activa por virus diarrea viral bovina (VDVB) en plantales lecheros de la Xª Región de Chile. *Archivos de medicina veterinaria*. 2002;34:97-101.
146. Alvarez RG, Pezo C y García V. Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. investig. vet. Perú*. [Internet] 2002. [Cited 2018 October 13]; 13 (1): 46-51. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172002000100007&script=sci_abstract

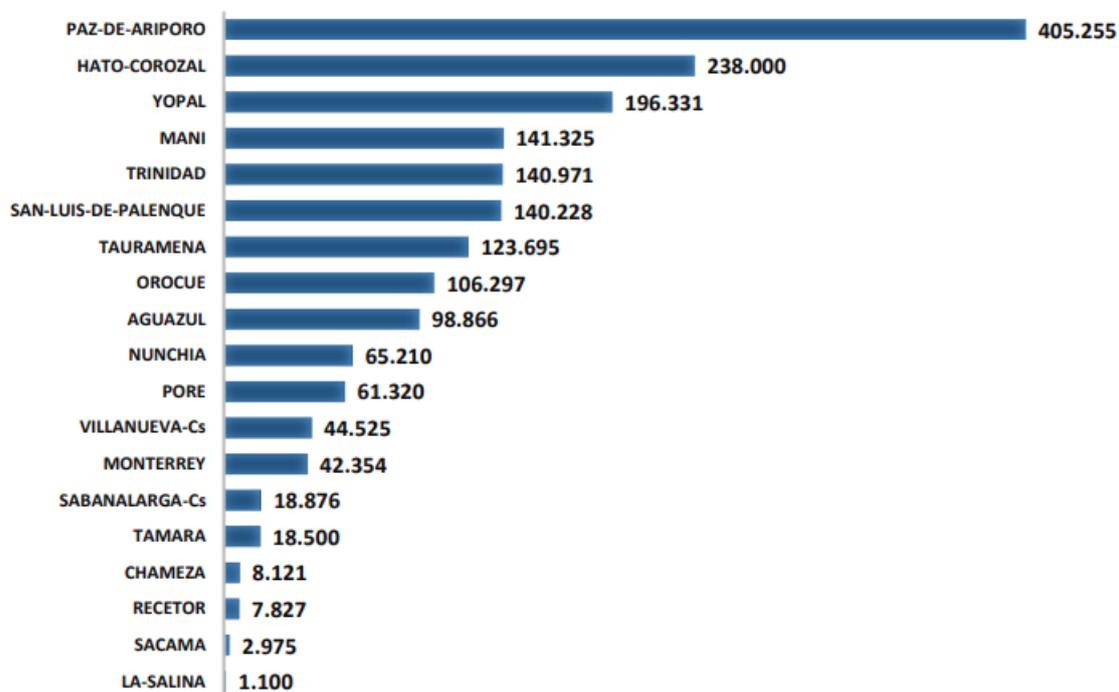
147. Laureyns J, Ribbens S, de Kruif A. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: Reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. *The Veterinary Journal*. 2010;184(1):21-26.
148. Organización, animal mds. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. 2008:246-52. Available from: <https://www.oie.int/es/normas/manual-terrestre/>
149. Ward P, Misra V. Detection of bovine viral diarrhoea virus, using degenerate oligonucleotide primers and the polymerase chain reaction. 1991. 1231-1236.
150. Laamanen UI, Neuvonen EP, Yliviuhkola EM, Veijalainen PML. Comparison of rt pcr assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (bvdv) in field samples. *Research in Veterinary Science*. 1997;63(3):199-203.
151. Renshaw RW, Ray R, Dubovi EJ. Comparison of Virus Isolation and Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Bulk Milk Tank Samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2000;12(2):184-186.
152. Dubovi EJ. Genetic diversity and BVD virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1992;15(3):155-162.
153. Negrón M, Raizman EA, Pogranichniy R, Hilton WM, Lévy M. Survey on management practices related to the prevention and control of bovine viral diarrhoea virus on dairy farms in Indiana, United States. *Preventive Veterinary Medicine*. 2011;99(2):130-135.
154. Walz PH, Grooms DL, Passler T, Ridpath JF, Tremblay R, Step DL, et al. Control of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Ruminants. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2010;24(3):476-486.
155. Bolin SR, Lim A, Grotelueschen DM. Genetic characterization of bovine viral diarrhoea viruses isolated from persistently infected calves born to dams vaccinated against bovine viral diarrhoea virus before breeding. *Am J Vet Res*. 2009;70:86.
156. Beer M, Wolf G. Vaccines against an infection with Bovine Viral Diarrhoea Virus/Mucosal Disease (BVD/MD): A short overview. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2003;116:252-258.
157. Fulton RW, Hessman BE, Ridpath JF, Johnson BJ, Burge LJ, Kapil S, et al. Multiple diagnostic tests to identify cattle with Bovine viral diarrhoea virus and duration of positive test results in persistently infected cattle. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*. 2009;73(2):117-124.
158. Woolums AR, Berghaus RD, Berghaus LJ, Ellis RW, Pence ME, Saliki JT, et al. Effect of calf age and administration route of initial multivalent modified-live virus vaccine on humoral and cell-mediated immune responses following subsequent administration of a booster vaccination at weaning in beef calves. *American Journal of Veterinary Research*. 2013;74(2):343-354.
159. Brock K, Widel P, Walz P, L Walz H. Onset of protection from experimental infection with type 2 bovine viral diarrhoea virus following vaccination with a modified-live vaccine 2007. 88-96 p.
160. Wyler R, Engels M, Schwyzer M. Infectious Bovine Rhinotracheitis / Vulvovaginitis (BHV1). 1989; 1-72.
161. Chase CCL, Letchworth GJ. Bovine herpesvirus 1 gIV-expressing cells resist virus penetration. *Journal of General Virology*. 1994;75(1):177-81.
162. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Colombia sanidad animal 2010. [Internet] 2010: 45-52. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/5822cada-667f-4541-8b86-c0258be04b64/2010.aspx>.

163. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Colombia, Sanidad Animal 2011. [Internet] 2011; 45-51. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/b66f6f33-43bb-4c2c-a8f6-e66ab31194e0/2011.aspx>.
164. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Colombia, Sanidad Animal 2012. [Internet] 2012; 40-55. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/bce28fb3-c2c7-4f46-99fc-6bae850353fc/2012.aspx>.
165. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Colombia, Sanidad Animal 2014. [Internet]2014; 43-49. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/986dd783-8f37-4ab3-bc33-39995bd8c065/2014.aspx>.
166. (OIE) OMdSA. Sanidad animal mundial en 2011. [Internet] 2011; (1): 57-63. Available from: <http://oie.int/doc/ged/D12044.PDF>.
167. Liang X, Chow B, Babiuk LA. Study of immunogenicity and virulence of bovine herpesvirus 1 mutants deficient in the UL49 homolog, UL49.5 homolog and dUTPase genes in cattle. *Vaccine*. 1997;15(10):1057-1064.
168. Kobrak A, Weber L. Bovine diarrhea virus: an update. *Rev Argent Microbiol*. [Internet]1997. [Cited 2018 November 02];47-61. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9229725>
169. Carbajal KJG. Estudio de la prevalencia de diarrea viral bovina en ganaderías del Cantón Saraguro, Provincia de Loja: Universidad Nacional de Loja 2016.
170. Zambrano JL, Diaz S. Guía para la correcta toma de sangre en bovinos a partir de la vena coccígea y de la vena externa yugular. Universidad Nacional De Colombia. 2014; 1-4.
171. Obando R, Hidalgo M, Merza M, Montoya A, Klingeborn B, Moreno JL. Seroprevalence to bovine virus diarrhoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure State). *Prev Vet Med*. [Internet]1999. [Cited 2018 November 11];271-278. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10530426>
172. Odeon AC, Spath E, Paloma EJ, Leunda MR, Sainz IF, Perez S, et al. Seroprevalencia de la diarrea viral bovina, herpesvirus bovino y virus sincicial respiratorio en Argentina. *Revista de medicina veterinaria*. [Internet]2001. [Cited 2018 November 15]; 82(4):216-221. Available from: https://www.researchgate.net/publication/242279322_Seroprevalencia_de_la_Diarrea_Viral_Bovina_Herpesvirus_Bovino_y_Virus_Sincicial_Respiratorio_en_Argentina
173. Ståhl K, Rivera H, Vågsholm I, Moreno-López J. Bulk milk testing for antibody seroprevalence to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru2003. 193-202 p.
174. Dickerson GE. Experimental approaches in utilizing breed resources. *Animal Breeding*. [Internet] 1969. [Cited 2019 January 05]: 191-202. Available from: <http://www.fao.org/3/t0691e/t0691e00.pdf>
175. Maltecca Cea. Changes in Conception Rate, Calving Performance, and Calf Health and Survival From the Use of Crossbred Jersey x Holstein Sires as Mates for Holstein Dams. *J Dairy Sci*. [Internet] 2006. [Cited 2019 January 10]: 2747–2754. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16772594>
176. VanRaden PM SA. Economic merit of crossbred and purebred US dairy cattle. *J Dairy Sci*. [Internet] 2003. [Cited 2019 January 10]:1036-1044.Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12703641>
177. Lopez GD, Holmes CW , Blair HT, Spelman RJ. Profitabilities of some mating systems for dairy herds in New Zealand. *J Dairy Sci*. [Internet] 2000. [Cited 2019

- January 13]: 144-1453. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10659974>
178. Villar FA. Epidemiología y caracterización de los factores de riesgo diarrea viral bovina y neosporosis en bovinos del valledel Mantaro - región Junín: Universidad Nacional Mayor De San Marcos 2015.
179. Sánchez JM. Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Diarrea vírica bovina (BVD). Pautas de control y lucha. Reflexión y recomendaciones. Rev Prod Animal. 1998:15-27.
180. Lager HM, GH Pechin, A. T Larrea, RN Otrosky, RO Cesan, AG Caimier y GE Meglia. La importancia de la calidad del agua en la producción lechera. Veterinaria argentina. [Internet] 2000. [Cited 2019 January 20]:346-354. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/agua_bebida/32-calidad_agua_en_produccion_lechera.pdf
181. Ståhl K, Lindberg A, Rivera H, Ortiz C, Moreno-López J. Self-clearance from BVDV infections—A frequent finding in dairy herds in an endemically infected region in Peru. Preventive Veterinary Medicine. [Internet]2008. [Cited 2019 January 20]; 83(3):285-296. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17904667>
182. Renzo S; Benito Z y Rivera G.. Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de Lima. Rev investig vet Perú. [Internet]2006. [Cited 2019 January 20]: 148-53. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172006000200011
183. K. S. Virus de la diarrea viral bovina y otros patógenos reproductivos : estudios epidemiológicos en el ganado vacuno del Perú. Act Univers Agric Sueciae. 2006:1652-6880.
184. Waldner CL, García Guerra A. Cow attributes, herd management, and reproductive history events associated with the risk of nonpregnancy in cow-calf herds in Western Canada. Theriogenology. [Internet]2013. [Cited 2019 January 27] ;79(7):1083-1094. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24472651>
185. Sheldon IM, Wathes DC, Dobson H. The management of bovine reproduction in elite herds. The Veterinary Journal. [Internet] 2006. [Cited 2019 January 27]; 171(1):70-78. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023304001601>
186. Manteca X ME, Temple D. Estrés en animales de granja: concepto y efectos sobre la producción. [Internet] 2013; 6(1):1-3. Available from: https://www.fawec.org/media/com_lazy/pdf/pdf/fs6-es.pdf.
187. Odeón M RS. Estrés en ganado: causas y consecuencias. [Internet] 2017; 3. Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/estres-ganado-causas-consecuencias-t41410.htm>.
188. Benavides B, Jurado C, Cedeño D. Factores de riesgo asociados a aborto bovino en la cuenca lechera del departamento de Nariño. Revista MVZ Córdoba; Revista MVZ Córdoba Volumen 15(2) Mayo-Agosto 2010DO - 1021897/rmvz319. 2010.
189. King DA, Peckham C, Waage JK, Brownlie J, Woolhouse MEJ. Infectious Diseases: Preparing for the Future. Science. 2006;313(5792):1392.
190. Otte J, Roland-Holst D, Pfeiffer D, Soares-Magalhaes R, Rushton J, Graham J, et al. Industrial livestock production and global health risks. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Pro-Poor Livestock Policy Initiative Research Report. 2007.

ANEXOS

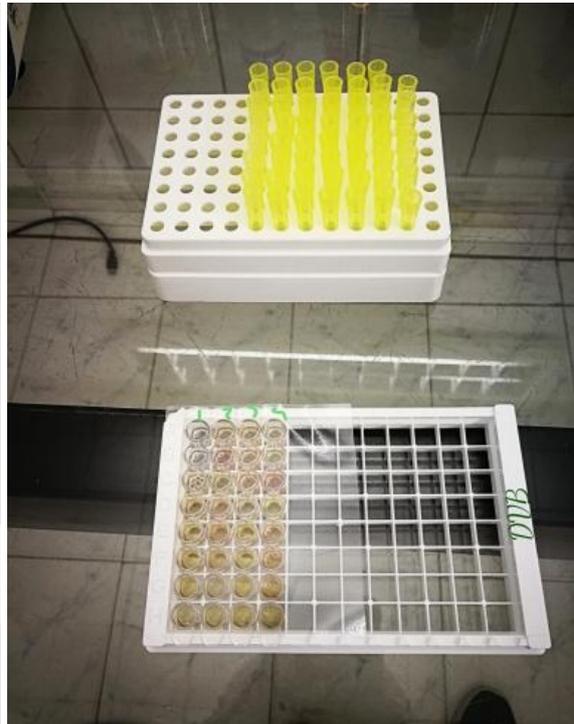
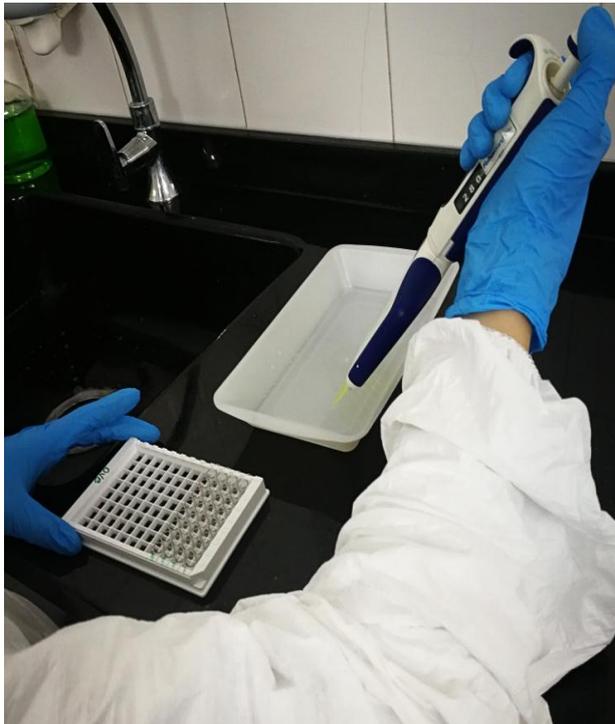
Anexo 1. Total de bovinos por municipio en el año 2016



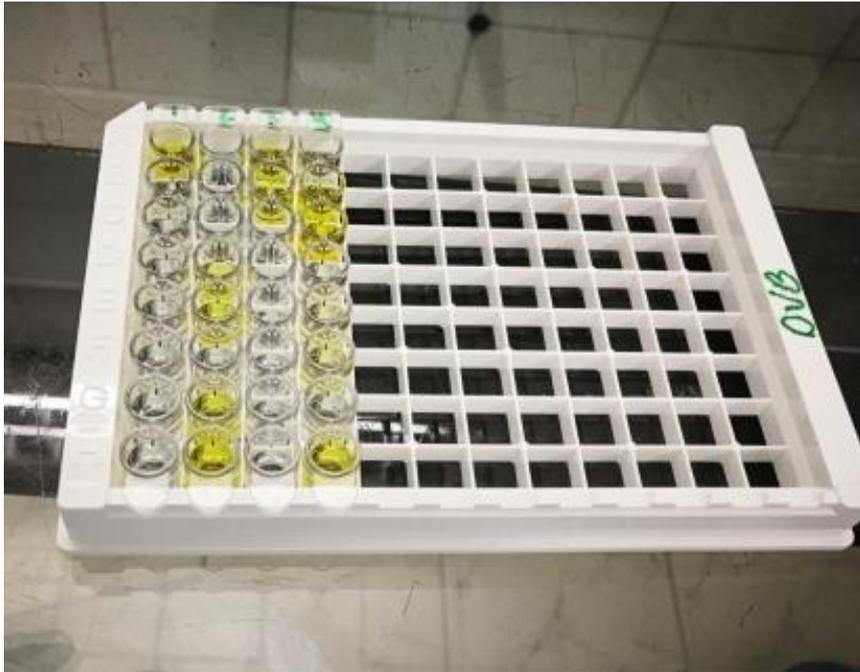
El diagrama de barras evidencia el total de bovinos que se encuentran en los diferentes municipios del departamento del Casanare, evidenciando que el municipio de Tauramena era el séptimo municipio con mayor número de bovinos.



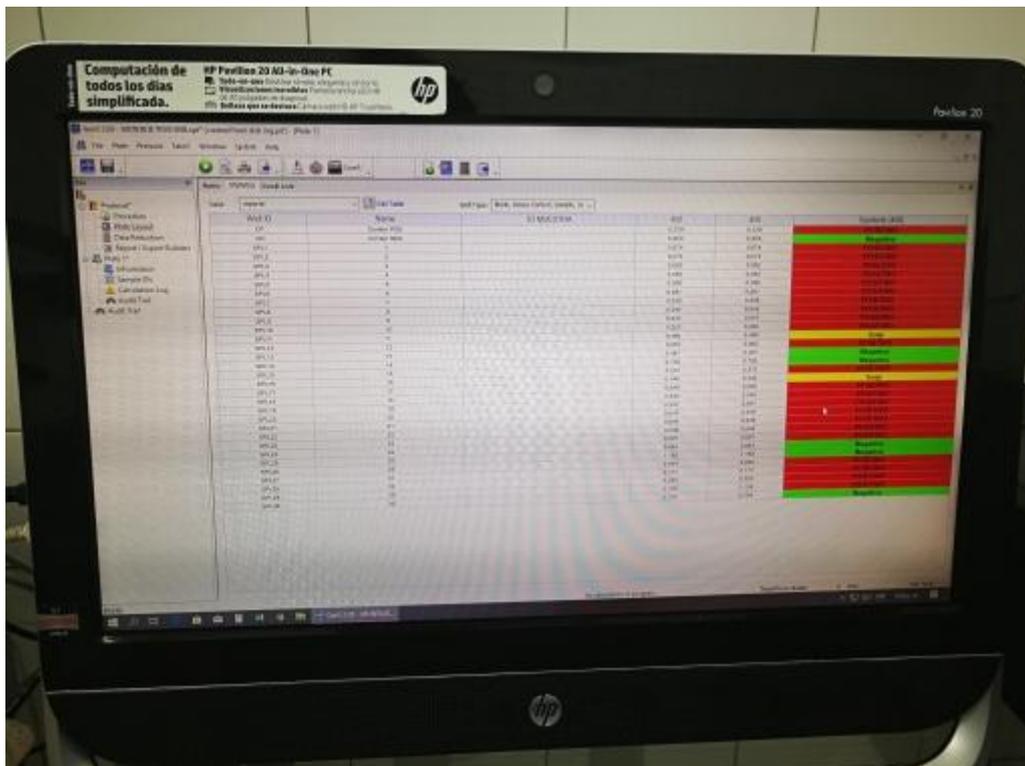
Anexo 3. Kit comercial de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).



Anexo 4. Montaje del ensayo de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).



Anexo 5. Reacción colorimétrica del ensayo de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).



Anexo 6. Lectura del ensayo de ELISA competitiva para la detección de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) mediante el programa Gen 5 versión 2.05.