

DIARREA VIRAL BOVINA: ACTUALIZACIÓN

Lértora, W.J.*. 2003. Rev. Vet. FCV UNNE 14: 1.

*Cátedra de Patología General y Sistemática,
Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE,
Corrientes, Argentina.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)

RESUMEN

La diarrea viral bovina es una enfermedad de distribución mundial y endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. Es responsable de ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico. Las estrategias de erradicación dependen de la situación epidemiológica regional; básicamente consisten en la identificación y eliminación de bovinos persistentemente infectados, principal fuente de infección y reservorio del virus. En la Argentina los estudios de la enfermedad son aún escasos y no existe un real conocimiento de la prevalencia de la infección en las distintas regiones ganaderas. El objetivo de esta investigación bibliográfica es aportar datos actualizados sobre distintos aspectos de la diarrea viral bovina y conocer su situación en la Argentina.

Palabras clave: virus diarrea viral bovina, actualización, Argentina.

1. ETIOLOGÍA

1.1. Taxonomía y estructura. El virus de la diarrea viral bovina (vDVB) pertenece al género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae*. Son virus envueltos, esféricos y miden 40 a 60 nm de diámetro. Se componen de una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella.

1.2. Variabilidad. La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. La característica principal de un virus ARN es su plasticidad y ésta se debe a la falta de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia (1 error por cada 10.000 nucleótidos polimerizados). El vDVB usa esta estrategia para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador. El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente. Sin embargo, el virus DVB aislado de cerdos y ovejas tienen características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino.

Otra posible causa para la variabilidad es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados períodos de replicación en animales persistentemente infectados. Sin embargo, esta última posibilidad no parece suceder con el vDVB. Bolin y Ridpath (1992) demostraron que nuevas variantes antigénicas se originan durante el pasaje del virus en bovinos susceptibles que desarrollan una infección aguda. Esto sugiere que, mientras los animales persistentemente infectados son más importantes como reservorios, los animales con infección aguda pueden ser más importantes para la generación de nuevas variantes antigénicas. Las consecuencias de esta diversidad se reflejan en el espectro de manifestaciones clínicas y lesiones, dificultando además, su diagnóstico y limitando el espectro de protección brindada por el empleo de vacunas monovalentes.

1.3. Clasificación. La clasificación del vDVB es difícil, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género *Pestivirus* (virus de la peste porcina clásica y virus de la enfermedad de la frontera del ovino). Los hospedadores en que eran aislados los *Pestivirus* fueron las bases iniciales para su subdivisión. Así, los *Pestivirus* que eran aislados del cerdo, ovino y bovino se los clasificaba como virus de la peste porcina clásica, virus de la enfermedad de la frontera y vDVB, respectivamente. Sin embargo, este criterio de clasificación es poco fiable debido a que los *Pestivirus* cruzan fácilmente la barrera de especie.

Según sus efectos en los cultivos celulares, los *Pestivirus* se dividen en *biotipos* citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte celular, los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar infección persistente. El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad mucosa y se originan por mutación a partir del biotipo NCP; ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral.

Hay considerables variaciones en la *virulencia* de las distintas cepas aisladas del vDVB, las infecciones pueden ser inaparentes o tener un desenlace fatal. Sin embargo, no se han identificado marcadores de virulencia que permitan un sistema de clasificación de las cepas de campo en base a su patogenicidad. También, han sido

infructuosos los intentos de correlacionar los signos clínicos con la agrupación filogenética de las distintas cepas aisladas

No se ha podido establecer una *serotipificación* del vDVB. Estudios de neutralización cruzada entre distintos virus DVB demuestran que pertenecen a un grupo serológicamente relacionado, dentro del cual hay un espectro antigénico con reacción cruzada, sin suficientes diferencias antigénicas para clasificarlos en serotipos. El empleo de anticuerpos monoclonales discernen diferencias antigénicas sutiles y permiten clasificar a los *Pestivirus* en 4 grupos: virus de la peste porcina clásica, virus de la enfermedad de la frontera del ovino, Genotipo 1 y Genotipo 2 del vDVB. Sin embargo, algunos virus aislados de jirafas, ciervos, ovinos y bovinos no han podido ser tipificados satisfactoriamente; ellos pueden representar variantes de algunos de los 4 grupos principales o ser grupos adicionales

La *genotipificación* es el método aceptado para clasificar a los *Pestivirus*. Bajo este sistema de clasificación el vDVB se agrupa en 2 genotipos: Genotipo 1 y Genotipo 2 del virus de la diarrea viral bovina. El genotipo I del vDVB puede ser dividido en al menos 11 genogrupos y es muy probable que nuevos genogrupos sean revelados en futuros análisis

En la Argentina, recientemente se han identificado ambos genotipos. Esto tiene gran implicancia en el diagnóstico y control debido a que las cepas empleadas en los laboratorios para la elaboración de vacunas y reactivos de diagnóstico pueden no ser capaces de abarcar el espectro antigénico y genético de los aislados de campo. Por lo tanto, es necesario una reevaluación de estas cepas de laboratorio. Sin embargo, los estudios de Ronchi y col. (2001) indican que la respuesta inmune a los dos genotipos es parcialmente homóloga, ya que bovinos inmunizados, de manera natural o artificial, con vDVB del Genotipo 1 están parcialmente protegidos contra el virus del Genotipo 2.

2. EPIDEMIOLOGÍA

2.1. Prevalencia de la infección. Esta enfermedad tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. La mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2 % de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80 % de bovinos seropositivos

2.2. Situación en Argentina. En la Argentina los datos de seroprevalencia son variables. Kobrak y Weber (1997) informan que la situación en Argentina es similar al resto del mundo, con 70 % de seroprevalencia y una prevalencia de bovinos PI del 1 %. Odeón y col. (2000) reportan seroprevalencias del 90,7 % y 48,6 % en bovinos adultos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires y en los llanos de La Rioja, respectivamente. El porcentaje de bovinos seropositivos de 6 a 12 meses de edad fue de 41,9 %, 25,6 % y 45,6 % para 11 distritos del sudeste de la provincia de Buenos Aires, 7 del sur de Corrientes y 9 de los llanos de La Rioja, respectivamente. Estos números indicarían la presencia de la enfermedad en nuestro país, endémica en algunas regiones, y que un porcentaje importante de bovinos jóvenes está siendo expuesto al virus. Sin embargo, surge el interrogante del grado de interferencia de los anticuerpos vacunales en la seroprevalencia. Otro dato, que no deja lugar a duda de la presencia de rebaños con infección activa en la población bovina, es la elevada prevalencia de infección en los fetos

2.3. Hospedador. Los *Pestivirus* infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden *Artiodáctila*. Los *Pestivirus* ruminantes infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y ruminantes silvestres. Estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los *Pestivirus* cruzan la barrera de especie

2.4. Fuente de infección. La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos PI. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos

2.5. Modos de transmisión. La transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto.

2.5.1. Transmisión vertical. La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50 %), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen. Hembras PI siempre dan terneros PI. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión³⁸.

2.5.2. Transmisión horizontal. El *contacto directo* con animales PI, especialmente contacto nariz-nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus.

Se ha demostrado experimentalmente la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovinos persistentemente infectados a bovinos centinelas. Aunque la transmisión aerógena no es la principal ruta de

transmisión, puede tener consecuencias graves cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con alta densidad animal

El semen crudo o criopreservado de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal. Para evitar el uso de estos animales, en los centros de inseminación se debe recurrir al aislamiento viral y a un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección. Sin embargo, un toro con infección aguda puede escapar al aislamiento viral en sangre, superar el período de cuarentena y seguir siendo una amenaza. El virus puede eliminarse en semen por un corto período más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por semen. Esta última situación se presenta cuando la infección ocurre en la pubertad, durante la formación de la barrera inmunológica hemato-testicular, permitiendo al virus replicarse dentro del testículo y evadir la respuesta inmune. Por lo tanto, es esencial un examen del eyaculado antes que el semen sea distribuido

También es posible la transmisión por transferencia embrionaria. La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además, los cultivos celulares y el suero fetal bovino utilizados en transferencia embrionaria pueden estar contaminados. Los embriones producidos *in vivo*, con zona pelúcida intacta, recolectados de vacas natural o artificialmente infectadas, no actuarían como vectores para la transmisión de la enfermedad si se cumple con los procedimientos de lavado o lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria. Sin embargo, la presencia de una zona pelúcida intacta y los procedimientos de lavado, no garantizan que los embriones estén libres del virus, ya que pueden desarrollarse de oocitos infectados. Se ha demostrado que los oocitos soportan la replicación del vDVB, pudiendo ingresar al oocito en forma directa o a través de las células del cumulus, las cuales son susceptibles al virus y están en estrecho contacto con el oocito por medio de procesos citoplasmáticos. Pese a que no se ha demostrado si estos oocitos infectados son capaces de desarrollarse hasta la ovulación, no debe descartarse el potencial de las células germinales para transmitir al vDVB. Los embriones producidos *in vitro* son una fuente potencial de introducción del vDVB. La zona pelúcida de embriones producidos *in vitro* presentan alteraciones estructurales y bioquímicas permitiendo al virus penetrar hasta aproximadamente 50 % de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus. Sin embargo, no se ha determinado si la cantidad de virus asociado a estos embriones podría constituir una dosis infectiva para recipientes susceptibles vía intrauterina

Experimentalmente se han demostrado varias vías de *transmisión indirecta* como el uso de agujas, mocheta, palpación rectal y la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva fácilmente. Es rápidamente inactivado por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergentes, solventes orgánicos y pH que exceda el rango de 5,7 a 9,3. Otro modo importante de transmisión es el uso de vacunas a virus vivo modificado o vacunas contaminadas³⁸.

2.6. Transmisión entre rebaños. La principal forma de introducir el virus a un rebaño susceptible es a través de la *adquisición de bovinos PI* o hembras que transportan fetos PI. Otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con ovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda.

2.7. Transmisión dentro del rebaño. La tasa de transmisión dentro del rebaño depende de la forma de introducción del virus al mismo. Cuando un animal PI es introducido a un rebaño, la transmisión a animales susceptibles ocurre rápidamente a la mayoría de los animales del rebaño. Por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje del rebaño antes que la transmisión cese. El sistema de producción y la virulencia de la cepa también participan en la tasa de transmisión. La diseminación es más eficiente en sistemas de producción que permiten un estrecho contacto entre animales y con cepas virulentas.

3. MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y PATOGENIA

El vDVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes

3.1. Diarrea viral bovina aguda. Es una infección post natal aguda, de severidad variable, en bovinos seronegativos e inmunocompetentes.

3.1.1. Infección subclínica. La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad². Se desarrollan anticuerpos neutralizantes 14 a 28 días postinfección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida

3.1.2. Complejo diarrea neonatal bovina. Cuando fracasa la transferencia pasiva de anticuerpos, el virus participa en el complejo diarrea neonatal de los terneros. Infecciones concurrentes con enteropatógenos resultan

en manifestaciones clínicas más severas, debido al efecto inmunodepresivo del vDVB o simplemente a una sumatoria de efectos

3.1.3. Infección aguda severa. Inicialmente se prestaba poco interés a las infecciones agudas, dada su baja mortalidad. Sin embargo, cada vez son más frecuentes los informes de infección aguda severa de elevada morbilidad y mortalidad, asociada con virus de alta patogenicidad, caracterizada por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, tormenta de abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita. En otros casos, la exposición a cepas de alta virulencia ocasiona una enfermedad con signos clínicos y lesiones anatomopatológicas similares a la forma enfermedad mucosa.

3.1.4. Síndrome hemorrágico. Virus del genotipo 2 del vDVB se asocian a una condición fatal denominada síndrome hemorrágico. Se caracteriza por mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y muerte. Esta signología se atribuye a trombocitopenia y alteración de la función plaquetaria. Se ha demostrado una disminución de la respuesta de las plaquetas a la agregación y, aunque se desconoce el mecanismo de estas alteraciones, es probable que el virus actúe por uno o más de estos mecanismos: 1) se ha detectado antígeno viral en los megacariocitos, lo que podría resultar en una menor producción de plaquetas y en un incremento en el porcentaje de plaquetas envejecidas (los trombocitos viejos son menos sensibles a los estímulos de agregación); 2) el virus se aísla de trombocitos y una interacción virus-plaqueta directa puede afectar la respuesta plaquetaria a la agregación; 3) aumento en la producción de sustancias inhibitoras de la agregación plaquetaria; bovinos infectados con el vDVB presentan altas concentraciones de prostaglandina E y óxido nítrico. Hay una fuerte correlación entre la fase trombocitopénica y la viremia; además, la recuperación del recuento plaquetario está estrechamente relacionada con la aparición de anticuerpos neutralizantes. Esto sugiere que este síndrome es el resultado de una alteración y consumo de los trombocitos periféricos, más que una alteración en su producción

3.1.5. Inmunodepresión. El vDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos coinfectantes. Tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos. En el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. Estas células elaboran citoquinas esenciales para el normal desarrollo y maduración de linfocitos, lo que sugiere que la necrosis linfoide es secundaria al trastorno del microambiente que proveen las células intersticiales y no a la acción directa del virus sobre los linfocitos

3.1.6. Enfermedades respiratorias. El vDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios. Además, se ha demostrado que ciertos virus de la diarrea viral bovina actúan como agentes primarios de neumonías ³.

3.1.7. Trastornos reproductivos. El mayor impacto económico de la infección con el vDVB es el ocasionado por los trastornos reproductivos ²⁴. Los efectos de la infección antes y durante la gestación se discuten en orden cronológico.

La infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad. El vDVB causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Es posible detectar el antígeno viral en los macrófagos y células del estroma ovárico, entre los días 6 a 60 post infección y en células foliculares y oocitos en distintos estados de maduración. Además, las infecciones agudas ocasionan un retraso en el desarrollo de los folículos pre-ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos, reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular ²⁵ y disminución o ausencia de las oleadas de hormona luteinizante pre-ovulatoria o retraso en el tiempo del pico de hormona luteinizante pre-ovulatoria

No está claro de que manera el vDVB altera la función ovárica, aunque es posible que actúe por uno o más de los siguientes mecanismos: 1) inadecuado soporte gonadotrófico por infección de la glándula pituitaria 2) la leucopenia que acompaña a la infección aguda puede ser el reflejo de una deficiencia en la población de leucocitos ováricos, células vitales para la dinámica folicular normal 3) la necrosis de las células de la granulosa de los folículos pre-ovulatorios, afecta negativamente la secreción de estradiol y, consecuentemente, suprime la liberación de hormona luteinizante y retrasa o impide la ovulación 4) la disfunción ovárica puede ser el resultado de la ooforitis y de los cambios en la concentración de citoquinas ováricas 5) la reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular pueden perjudicar el comportamiento estral, impedir la ovulación o reducir el número y calidad de oocitos liberados

El impacto del vDVB durante la preñez se divide en cuatro períodos, en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante estos intervalos de tiempo específicos.

Etapa embrionaria (0-45 días): Las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento del apareamiento ocasiona muerte embrionaria y repeticiones de servicio hasta que desarrollen respuesta inmune. Se desconoce cómo los biotipos NCP afectan al embrión. El virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de los embriones hasta el día 8-9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles. El resultado de la infección puede ser citolítico o no. Ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico, resultando en el desarrollo de malformaciones. Por otra parte, la

replicación del virus en células oviductales puede alterar sus funciones biológicas, como la secreción de factores embriotrópicos que soportan el desarrollo embrionario

Día 45 a 125 de gestación: Este período comienza al finalizar la etapa embrionaria y culmina cuando el feto adquiere competencia inmunológica al vDVB. El momento exacto en que el feto adquiere competencia inmunológica al virus no es claro; se han detectado anticuerpos neutralizantes contra el virus en fetos infectados entre los días 100 y 135 de gestación. La infección con biotipos NCP antes que el feto adquiriera competencia inmunológica, resulta en el nacimiento de animales persistentemente infectados e inmunotolerantes. Durante este período también se produce muerte fetal con momificación o aborto meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis.

Día 125 a 175 de gestación: Este período representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, momento en el cual se presenta un gran porcentaje de alteraciones del desarrollo. También se pueden producir abortos, pero éstos son más frecuentes en las etapas tempranas de gestación. Se pueden observar distintos tipos y grados de malformaciones tales como hipoplasia cerebelar, microencefalia, hipomielogénesis, hidranencefalia, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, degeneración de retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis, retraso general del crecimiento y deformidades esqueléticas. Posibles explicaciones de estas malformaciones serían el daño celular directo por el virus o la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal. Los fetos ovinos infectados con el virus de la enfermedad de la frontera desarrollan hipotiroidismo y los bajos niveles de hormonas tiroideas afectan la concentración de la enzima 2',3'- nucleótido cíclico-3'-fosfodiesterasa, esencial para la mielinización y el normal desarrollo del sistema esquelético. Se desconoce si el vDVB induce fetopatías por un mecanismo semejante. La inmunohistoquímica reveló abundante cantidad de antígeno en glándula pituitaria, hipotálamo y tiroides de un ternero infectado *in útero* con trastornos severos y generalizados de la osteogénesis. Este hallazgo sugiere que el virus altera el metabolismo hormonal fetal originando trastornos del desarrollo esquelético.

175 días de gestación en adelante: En esta etapa el feto se encuentra en un período de crecimiento general y es inmunológicamente competente. Las infecciones en este período resultan en el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles; mientras que los abortos son ocasionales.

3.2. Infección persistente. Un animal persistentemente infectado es aquél en que es posible aislar el virus de la sangre o 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 originó inmunotolerancia. La infección persistente debe ser considerada en todo ternero pequeño al nacimiento, con escaso desarrollo y ganancia de peso, débil y con cuadros recurrentes de enfermedad respiratoria y digestiva. Otros son clínicamente normales, siendo indispensable el laboratorio para su diagnóstico.

3.3. Enfermedad mucosa. Esta condición solo ocurre en animales PI que sufren sobreinfección con biotipos CP homólogos. En esta forma se aíslan ambos biotipos, que son antigénicamente similares. El biotipo CP surge de mutaciones del biotipo NCP, aunque no se descartan fuentes externas. Es una forma esporádica, fatal, de curso agudo o crónico y se caracteriza por severa leucopenia, diarrea profusa, erosiones y ulceraciones en el sistema digestivo.

4. DIAGNÓSTICO

Debido al amplio tipo y severidad de lesiones inespecíficas, en ocasiones solo evidenciadas por microscopía, el diagnóstico se basa únicamente en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico. El objetivo principal del diagnóstico es la detección y remoción de bovinos PI, principal fuente de infección y reservorio del virus.

4.1. Serología. La distribución de anticuerpos en los distintos grupos de edades de rebaños con animales PI y sin animales PI, determina que existan 5 fases en el ciclo de infección:

Fase A: Rebaños con infección aguda sin animales PI. Solo un pequeño porcentaje del rebaño será seropositivo.

Fase B: Rebaños infectados con animales PI menores de 3-4 meses de edad. La mayoría de los animales están bajo una infección aguda, a una velocidad variable dependiendo del sistema de producción.

Fase C: Rebaños infectados con animales PI mayores de 3-4 meses de edad. Usualmente, más del 90 % del rebaño es seropositivo.

Fase D: Rebaños previamente infectados, donde los animales PI han sido removidos recientemente. Los animales jóvenes serán seronegativos cuando pierdan sus anticuerpos calostrales a los 6-8 meses de edad. Los animales adultos permanecen seropositivos.

Fase E: Rebaño previamente infectado, donde los animales PI han sido removidos hace varios años. Todos los animales jóvenes serán seronegativos (excepto algunos terneros con anticuerpos calostrales). Eventualmente el rebaño se volverá seronegativo.

Estos estudios epidemiológicos han permitido desarrollar diferentes métodos serológicos para la detección de rebaños con infección activa (con bovinos PI) de manera simple, eficaz y económica.

El análisis serológico de una pequeña muestra de sangre tomada al azar de terneros de 6 a 12 meses de edad permite distinguir rebaños con infección activa, de rebaños sin bovinos PI, con un alto grado de seguridad. Se pueden cometer errores de clasificación cuando los rebaños poseen animales PI muy jóvenes, que no han tenido tiempo de infectar a los animales seronegativos remanentes, cuando los sistemas de explotación y la virulencia de la cepa permitan una diseminación lenta, o si se toma la muestra de animales menores de 6 meses de edad, los cuales tendrán anticuerpos calostrales. Estos problemas se solucionan repitiendo el examen unos meses después.

Medir el nivel de anticuerpos en leche almacenada en tanques también permite determinar el status infeccioso del rebaño y es ampliamente empleado en países que están controlando la enfermedad. Sin embargo, este método no distingue entre rebaños con animales PI y rebaños donde dichos animales han sido recientemente eliminados, debido a que los títulos de anticuerpos en la leche declinan lentamente. Se recomienda el uso de este método en las fases finales de un programa de erradicación y en la vigilancia de rebaños libres.

4.2. Detección del virus o componentes virales. Una vez identificados los rebaños con infección activa, se debe testear individualmente a los animales para detectar a los bovinos PI. Para ello contamos con cuatro métodos diferentes.

4.2.1. Aislamiento viral. El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Sin embargo, es económicamente prohibitivo para ser usado en el diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación. El cultivo celular se ha optimizado con el sistema *microtitre multi-well*, donde células cultivadas en placas con múltiples pocillos son inoculadas con 10 a 50 μ l de suero problema e incubadas por 4 días; la presencia de biotipos NCP se detecta con el empleo de anticuerpos anti-vDVB marcados con peroxidasa o fluorocromos.

4.2.2. Detección de antígenos mediante enzimo-inmunoensayo (ELISA). La prueba de ELISA utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para “capturar” 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 PI.

Los sistemas ELISA basados en anticuerpos policlonales dirigidos contra varias proteínas y glicoproteínas de cepas antigénicamente diferentes, son capaces de detectar una amplia variedad de vDVB. Este sistema, comparado con el aislamiento viral, ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad (97,9 % y 99,7 % respectivamente) y es comparable a los sistemas ELISA que utilizan un pool de anticuerpos monoclonales. Por otra parte, los sistemas ELISA basados en un anticuerpo monoclonal epítipo específico son cuestionables, debido a que su estrecho rango de especificidad puede fallar en detectar algunas cepas del vDVB.

4.2.3. Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (IHQ). La IHQ se realiza, rutinariamente, en tejido fijado en formalina y embebido en parafina; aventajando a otras técnicas en términos de conveniencia en la remisión de las muestras, posibilita el estudio retrospectivo de muestras enviadas para examen histopatológico y permite una precisa asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histológicas.

La IHQ de tejidos fijados en formalina es el método diagnóstico más conveniente para la detección del vDVB en fetos. Hay un significativo número de resultados falsos positivos y falsos negativos con la inmunofluorescencia (sensibilidad: 77 %, especificidad: 83 %), y significativo número de falsos negativos con el aislamiento viral (sensibilidad: 83 %, especificidad: 100 %), mientras que la IHQ posee el mejor desempeño: especificidad: 97 % y sensibilidad: 97 %. En casos de fetos con avanzada autólisis, la IHQ de cerebro fijado en formalina se recomienda sobre el aislamiento viral y la detección de antígeno por ELISA.

La presencia del antígeno del vDVB en queratinocitos de la epidermis y células epiteliales de folículos pilosos de bovinos PI clínicamente normales ha originado el desarrollo de la técnica inmunohistoquímica en biopsias de piel para el diagnóstico de estos animales. Esta técnica, en comparación con el aislamiento viral, ha demostrado ser eficaz, rápida, económica, sencilla y fácilmente implementable en cualquier laboratorio de histopatología. Además, la colección y remisión de las muestras al laboratorio es simple. Las muestras fijadas en formalina son más estables que las muestras de sangre o suero, evitándose así falsos negativos por autólisis o putrefacción, y los anticuerpos calostrales no interfieren con la técnica, permitiendo analizar terneros neonatos.

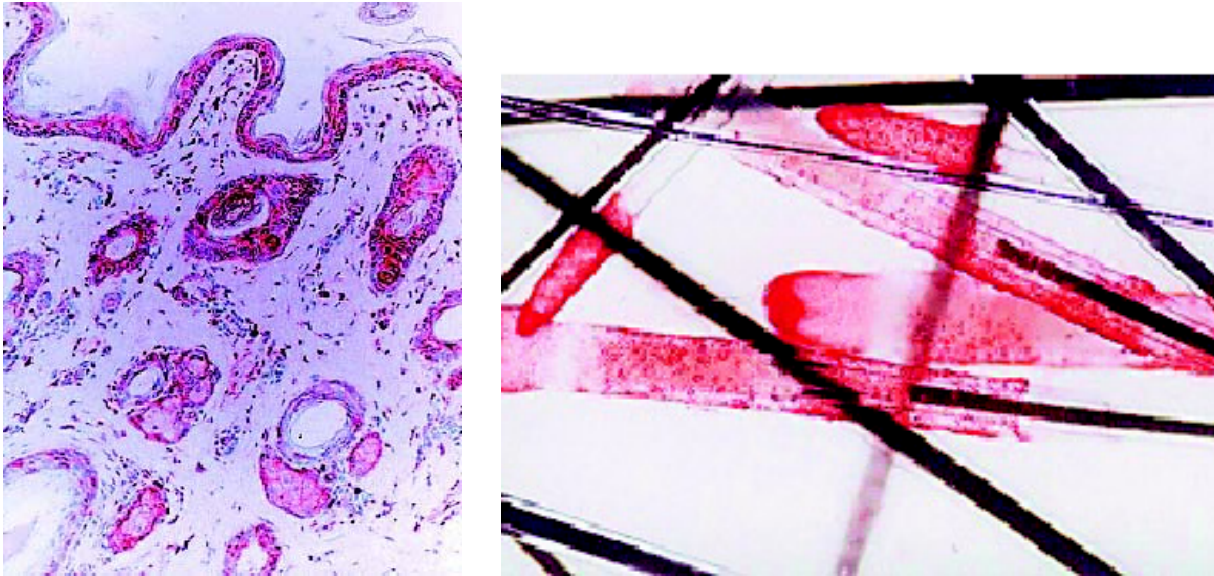


Figura 1: Inmunolocalización del vDVB en piel de bovino PI. Anticuerpo monoclonal 15.c.5 (10x).

Figura 2: Demostración inmunohistoquímica del vDVB en el citoplasma de las células epiteliales que conforman la raíz de los pelos de un bovino PI. Anticuerpo monoclonal 15.c.5 (5x).

En nuestra experiencia, la inmunoreacción en piel de bovinos PI nos permitió visualizar al vDVB como estructuras granulares de distinto diámetro, localizadas en el citoplasma de todas las células epiteliales de la epidermis y de los folículos pilosos, células de las glándulas sebáceas, células de las glándulas sudoríparas, histiocitos, músculo liso y células endoteliales (Figura 1). Este patrón de tinción y la distribución de la inmunoreacción son característicos de una infección persistente y deben tenerse en cuenta a la hora del diagnóstico inmunohistoquímico. Además, pudimos demostrar la presencia de antígenos del vDVB en el citoplasma de las células que conforman la vaina de la raíz de pelos extraídos manualmente de bovinos PI (Figura 2). Sin embargo, no recomendamos el empleo de muestras de pelo para el diagnóstico rutinario de estos animales, ya que pese a ser sumamente fácil la toma de muestra, es una técnica laboriosa que consume gran cantidad de reactivos y no permite el estudio simultáneo de numerosas muestras. La inmunolocalización de este virus en tejidos fijados en formalina al 10 % empleando anticuerpos monoclonales es difícil, ya que es un virus antigénicamente variable y sensible a los efectos de la fijación. En nuestra experiencia solo pudimos inmunomarcarse el antígeno viral con los anticuerpos monoclonales 15.c.5 (Dr. Dubovi) y WB210 (Central Veterinary Laboratory, UK), previo tratamiento proteolítico y térmico, respectivamente. Por lo expuesto, recomendamos la utilización de anticuerpos policlonales para el diagnóstico inmunohistoquímico del vDVB en tejidos fijados en formalina al 10 %.

4.2.4. Detección del ácido nucleico viral. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido, sensible, que detecta diversos vDVB y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo. Su sensibilidad permite detectar el virus en pool de muestras de sangre y leche de tanque. Sin embargo, su elevada sensibilidad puede originar resultados falsos positivos.

Para maximizar la detección de vDVB se han seleccionado partidores de la región 5' no codificante del genoma pestiviral, ya que es la región del genoma que más se conserva entre los virus aislados. Sin embargo, Vilcek y col. (2001) considerando la alta variabilidad, recomiendan un cuidadoso examen de los partidores para asegurar que sean capaces de detectar todos los virus del genotipo 1 del vDVB.

5. ERRADICACIÓN

La erradicación de la diarrea viral bovina a nivel de rebaño es posible y, manteniendo el rebaño cerrado, mejora sustancialmente su salud y productividad. Las estrategias de erradicación dependen de la seroprevalencia, uso de vacuna, densidad poblacional y prácticas de manejo.

5.1. Erradicación sin vacunación. En regiones donde la seroprevalencia y la densidad poblacional es baja y no se emplean vacunas, la erradicación se basa en: 1) identificación de los rebaños con infección activa; 2) eliminación de animales PI del rebaño; y 3) medidas de bioseguridad o mantener rebaños cerrados para evitar la infección de rebaños libres.

5.2. Erradicación con vacunación. En poblaciones bovinas con alta prevalencia de la enfermedad, donde no es posible mantener un rebaño cerrado o con estrictas medidas de bioseguridad, las estrategias de control deben incluir: 1) identificación de rebaños con infección activa; 2) eliminación de animales PI y 3) programa de vacunación en vacas y vaquillas. La vacunación por sí sola no elimina el virus del rebaño y su finalidad es proveer protección contra infecciones transplacentarias que den origen a terneros PI.

5.3. *Experiencia europea.* El impacto económico que causa el vDVB ha llevado a numerosos países europeos a iniciar programas de erradicación. La isla de Shetland fue la primera región libre de diarrea viral bovina.

El plan de erradicación a nivel nacional que implementaron Noruega, Finlandia, Suecia y Dinamarca provee un marco regulatorio para el control de las rutas de infección, determinación del estatus infeccioso de cada rebaño por examen serológico, por ELISA indirecto, de muestras de leche de estanque y/o de sangre de 5 terneros entre 8 y 12 meses de edad, detección y eliminación de animales PI positivos a un ELISA basado en anticuerpos policlonales para la detección de antígeno en sangre, así como examen serológico anual para mantener el estatus libre de infección.

Los suecos iniciaron su plan de erradicación en el año 1993 y demostraron que ésta es posible aún sin vacunación. Aunque la participación en el programa es voluntaria y los productores pagan los costos del muestreo y las pruebas, el 100 % de los productores lecheros (11.735 rebaños) y más del 99 % de los productores de carne (13.834 rebaños) se encontraban afiliados en el año 2001. Ese año se declararon libres de vDVB el 92.5 % de los rebaños lecheros y el 88 % de los rodeos de carne, en tanto que número de rebaños positivos continúa disminuyendo

La experiencia danesa demuestra que un programa de erradicación en áreas de alta prevalencia no puede ser seguro sin regulaciones oficiales que controlen las vías de transmisión y que coordine la erradicación en todos los rebaños de una región, ya que la principal vía de reintroducción del virus a un rebaño libre es a través del contacto directo o indirecto con rebaños PI

En Alemania, debido a la elevada prevalencia de la infección (más del 80 %) y alta densidad animal, la estrategia de control se basa en la identificación y remoción de bovinos PI, mediante la detección de antígeno en sangre por el método ELISA, y la vacunación sistemática de las hembras, además de medidas de higiene y testeo de todo animal que ingrese al rebaño para prevenir la reintroducción del virus. Todavía no hay información sobre la eficacia de este programa de control. Sin embargo, surge la necesidad de promover mayor educación e información a productores y veterinarios, ya que muchos rebaños no continúan con el programa luego del testeo inicial y eliminación de los bovinos PI.

6. CONCLUSIONES

El vDVB tiene una distribución mundial y es un importante patógeno del bovino que, a pesar de su nombre, afecta principalmente la salud reproductiva del rebaño, originando importantes pérdidas económicas.

Debemos tener presente que en los rebaños con infección activa, el 60 % o más de los bovinos son seropositivos y naturalmente inmunes al vDVB; por lo tanto, no tiene sentido vacunar a una población donde la mayoría de sus individuos ya está protegida. Los esfuerzos deben dirigirse a la detección y eliminación de los bovinos PI, principal fuente de infección y reservorio. La vacuna por sí sola no elimina los animales PI y debe emplearse como una herramienta para evitar la reintroducción de la infección.

En Argentina los estudios de la enfermedad son aún escasos. Queda mucho por investigar en términos de situación epidemiológica en distintas regiones, montaje de métodos diagnósticos eficaces e impacto económico de la infección, prerrequisitos indispensables para planear una estrategia de erradicación y control. Además, se desconoce la real participación de este virus como causal de patologías digestivas, respiratorias y reproductivas del bovino en nuestros sistemas de producción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ames TR. 1986. The causative agent of BVD: its epidemiology and pathogenesis. *Vet. Med.* 81: 848–869.
2. Baker JC. 1987. Bovine viral diarrhoea virus: A review. *JAVMA* 190: 1449–1458.
3. Baule C. 2000. Molecular characterization of bovine viral diarrhoea virus, an important pathogen of cattle. *Acta Universit. Agric. Sueciae* 95: 9–38.
4. Bielefeldt Ohmann H. 1983. Pathogenesis of bovine viral diarrhoea–mucosal disease: distribution and significance of BVDV antigen in diseased calves. *Res. Vet. Sci.* 34: 5–10.
5. Bielefeldt Ohmann H. 1995. The pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection. *Food Anim. Pract.* 11: 447–476.
6. Bitsch V, Ronsholt L. 1995. Control of bovine viral diarrhoea virus without vaccines. *Food Anim. Pract.* 11: 627–640.
7. Bitsch V, Houe H, Nylin B, Ronsholt L. 1997. Examination of blood and bulk tank milk samples to monitor the bovine viral diarrhoea infections status of cattle herds, *Proceedings of the 3th Symposium on Pestiviruses*, sept. 1996, Lelystad, Netherlands. *ESVV*, pp. 158–161.
8. Bitsch V, Hansen KEL, Ronsholt L. 2000. Experiences from the Danish programme for eradication of bovine virus diarrhoea (BVD) 1994–1998 with special reference to legislation and causes of infection. *Vet. Microbiol.* 77: 137–143.
9. Bolin SR, Ridpath JF. 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in calves. *Am. J. Vet. Res.* 53: 2157–2163.
10. Brodersen BW, Kelling CL. 1998. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infections on respiratory tract and enteric diseases in calves. *Am. J. Vet. Res.* 59: 1423–1430.
11. Brodersen BW, White AK, Smith DR. 1998. Immunohistochemical test on skin biopsies as a method for detection of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Proc. Am. Assoc. Bov. Pract.* 31: 246.

12. Brownlie J, Thompson I, Curwen A. 2000. Bovine virus diarrhoea virus—strategic decisions for diagnosis and control. *In Practice* 22: 176–187.
13. Caropi WV, Donis RO, Dubovi EJ. 1990. Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 51: 1388–1394.
14. Constable PD, Hull BL, Wicks JR, Myer W. 1993. Femoral and tibial fractures in a newborn calf after trans-placental infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 132: 383–385.
15. David GP, Crawshaw TR, Gunning RF, Hibberd RC, Lloyd GM, Marsh PR. 1994. Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection. *Vet. Rec.* 134: 468–472.
16. Deregt D, Loewen KG. 1995. Bovine viral diarrhoea virus: biotypes and disease. *Can. Vet. J.* 36: 371–377.
17. De Verdier Klingenberg K, Vagsholm I, Alenius S. 1999. Incidence of diarrhoea among calves after strict closure and eradication of bovine viral diarrhoea virus infection in a dairy herd. *JAVMA* 214: 1824–1828.
18. De Verdier Klingenberg K. 2000. Enhancement of clinical signs in experimentally rotavirus infected calves by combined viral infections. *Vet. Rec.* 147: 717–719.
19. Donis RO. 1995. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. *Food Anim. Pract.* 11: 393–423.
20. Drake TR, Moore DA, Whitlock RH, Castro AE, Hat-tel AL, Reams R, Stoffregen W. 1996. An outbreak of acute BVD in Pennsylvania cattle. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 208.
21. Dubovi EJ. 1994. Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle. *Food Anim. Pract.* 10: 503–514.
22. Dubovi EJ. 1996. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet. Med.* 91: 867–872.
23. Ellis JA, Martin K, Norman GR, Haines DM. 1995. Comparison of detection methods for bovine viral diarrhoea virus in bovine abortions and neonatal death. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7: 433–436.
24. Fray MD, Prentice H, Clarke MC, Charleston B. 1998. Immunohistochemical evidence for the localization of bovine viral diarrhoea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Vet. Pathol.* 35: 253–259.
25. Fray MD, Mann GE, Clarke MC, Charleston B. 1999. Bovine viral diarrhoea virus: its effects on estradiol, progesterone and prostaglandin secretion in the cow. *Theriogenology* 51: 1533–1546.
26. Fray MD, Paton DJ, Alenius S. 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 615–627.
27. Fredriksen B, Sandvik T, Loken T, Odegaard SA. 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 144: 111–114.
28. Graham DA, McLaren IE, German A. 1998. Evaluation of the suitability of a commercial bovine viral diarrhoea virus antigen capture ELISA for diagnostic testing. *Vet. J.* 157: 149–154.
29. Grahn TC, Fahning ML, Zemjanis R. 1984. Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *JAVMA* 185: 429–432.
30. Grooms DL. 1998. Role of bovine viral diarrhoea virus in the bovine respiratory disease complex. *Bov. Pract.* 32: 7–12.
31. Grooms DL, Brock KV, Ward LA. 1998. Detection of bovine viral diarrhoea virus in the ovaries of cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10: 125–129.
32. Grooms DL, Brock KV, Pate JL, Day ML. 1998. Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology* 49: 595–605.
33. Grooms DL, Keilen ED. 2002. Screening of neonatal calves for persistent infection with bovine viral diarrhoea virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. *Clin. Diagn. Lab. Imm.* 9: 898–900.
34. Haines DM, Clark EG, Dubovi EJ. 1992. Monoclonal antibody-based immunohistochemical detection of bovine viral diarrhoea virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Vet. Pathol.* 29: 27–32.
35. Hamers C, Couvreur B, Dehan P, Letellier C, Lewalle P, Pastoret P, Kerkhofs P. 2000. Differences in experimental virulence of bovine viral diarrhoea virus strains isolated from hemorrhagic syndromes. *Vet. J.* 160: 250–258.
36. Hibberd RC, Turkington A, Brownlie J. 1993. Fatal bovine viral diarrhoea virus infections of adult cattle. *Vet. Rec.* 132: 227–228.
37. Houe H. 1992. 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. *Res. Vet. Sci.* 53: 320–323.
38. Houe H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: 521–547.
39. Houe H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89–107.
40. Jones LR, Zandomeni R, Wever EL. 2001. Genetic typing of bovine viral diarrhoea virus isolates from Argentina. *Vet. Microbiol.* 81: 367–375.
41. Kelling CL. 1996. The effects of BVDV infection on cattle. *Vet. Med.* 91: 862–863.
42. Kobrak A, Wever EL. 1997. Bovine diarrhoea virus: an update. *Rev. Argent. Microbiol.* 29: 47–61.
43. Laamanen UI, Neuvonen EP, Yliviuhkola EM, Veija-lainen PML. 1997. Comparison of RT-PCR assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in field samples. *Res. Vet. Sci.* 63: 199–203.
44. Lertora WJ. 2002. Inmunohistoquímica en biopsias de piel y en bulbos pilosos, para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus diarrea viral bovina. *Tesis de Maestría*, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, p. 61–90.
45. Mars MH, Brusckhe CJ, Van Oirschot JT. 1999. Air-borne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet. Microbiol.* 66: 197–207.

46. McGowan MR, Kirkland PD, Rodwell BJ, Kerr DR, Carroll CL. 1993. A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenology* 39: 443–449.
47. McGowan MR, Kafi M, Kirkland PD, Kelly R, Bielefeldt Ohmann H, Occhio MD, Jillella D. 2003. Studies of the pathogenesis of bovine Pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 59: 1051–1066
48. Meyers G, Tautz N, Dubovi EJ, Heinz-Jürden Thiel. 1996. Origin and diversity of cytopathogenic Pestivirus. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 24–34.
49. Moennig V, Liess B. 1995. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: 477–487.
50. Muñoz DP, Lager IA, Mersich S, Zabal O, Ulloa E, Schudel AA, Weber EL. 1996. Foetal infections with bovine viral diarrhoea virus in Argentina. *Br. Vet. J.* 152: 175–182.
51. Nettleton PF, Entrican G. 1995. Ruminant Pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151: 615–642.
52. Njaa BL, Clark EG, Janzen E, Ellis JA, Haines DM. 2000. Diagnosis of persistent bovine viral diarrhoea virus infection by immunohistochemical staining of formalin-fixed skin biopsy specimens. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12: 393–399.
53. Odeón AC, Späth EJA, Paloma EJ, Leunda MR, Fernández Sainz IJ, Perez SE, Kaiser GC, Draghi MG, Cetrá BM, Cano A. 2000. Seroprevalencia de la diarrea viral bovina, herpesvirus bovino y virus sincicial respiratorio en Argentina. *Rev. Med. Vet.* 82: 216–220.
54. Paton DJ, Lowings JP, Ramírez GC. 1994. Stability of the gp53 gene of a bovine viral diarrhoea virus isolated at different times from a persistently infected steer. *Br. Vet. J.* 150: 603–607.
55. Paton DJ. 1995. Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112: 215–236.
56. Paton DJ, Edwards S, Sands J, Lowings P, Ibata G. 1996. Antigenic variation amongst Pestiviruses. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 61–64.
57. Pernthaner A, Schilcher F, Baumgartner W. 1997. Acute bovine viral diarrhoea virus infections in Austrian cattle. *Israel J. Vet. Med.* 52: 104–107.
58. Renshaw RW, Ray R, Dubovi EJ. 2000. Comparison of virus isolations and reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk tank samples. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12: 184–186.
59. Reinhardt G, Riedemann S, Tadich N. 2002. Muestreo predial pequeño para predecir una infección activa por virus diarrea viral bovina (VDVB) en plantales lecheros de la Xª Región, Chile. *Arch. Med. Vet.* 34: 97–101.
60. Ridpath JF. 1996. Sequence diversity and genotyping. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 39–42.
61. Ronchi JI, Estela ES, Leunda MR, Odeón AC. 2001. Infección experimental con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) genotipo 2 en terneros con anticuerpos neutralizantes al VDVB genotipo 1. *Arch. Med. Vet.* 2: 185–192.
62. Ronsholt L, Nylin B, Bitsch V. 1997. A BVDV anti-gen- and antibody blocking ELISA (DVIV) system used in a Danish voluntary eradication program, *Proceedings of the 3^{er} Symposium on Pestiviruses*, sept. 1996, Lelystad, Netherlands. ESVV, pp. 150–153.
63. Sandvik T. 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.* 64: 123–134.
64. Sockett D, Bolin D, Ridpath J, Bolin S. 1996. Outbreak of acute bovine viral diarrhoea (BVD) in Wisconsin. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus A 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 207.
65. Ssentongo YK, Johnson RH, Smith JR. 1980. Association of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus with ovaritis in cattle. *Aust. Vet. J.* 57: 272–274.
66. Stringfellow DA, Givens MD. 2000. Epidemiologic concerns relative to *in vivo* and *in vitro* production of livestock embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 629–642.
67. Taylor LF, Janzen ED, Ellis JA, Van Den Hurk JV, Ward P. 1997. Performance, survival, necropsy, and virological findings from calves infected with the bovine viral diarrhoea virus originating from a single Saskatchewan beef herd. *Can. Vet. J.* 38: 29–37.
68. Thür B, Zlinsky K, Ehrensperger F. 1996. Immunohistochemical detections of bovine viral diarrhoea virus in skin biopsies: a reliable and fast diagnostic tool. *J. Vet. Med B* 43: 163–166.
69. Thür B, Hilber M, Strasser M, Ehrensperger F. 1997. Immunohistochemical diagnosis of Pestivirus infections associated with bovine and ovine abortion and perinatal death. *Am. J. Vet. Res.* 58: 1371–1375.
70. Tremblay R. 1996. Transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Med.* 91: 858–866.
71. Tremblay R, Carman S, Stevenson D, Lusi P, Caldwell D, Shapiro J. 1996. Acute BVD in Ontario. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 65.
72. Vanroose G, De Kruif A, Van Soom A. 2000. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 131–143.
73. Vilcek S, Paton DJ, Durkovic B, Strojny L, Ibata G, Moussa A, Loitsch A, Rossmanith W, Vega S, Scicluna MT, Paifi V. 2001. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. *Arch. Virol.* 146: 99–115.
74. Virakula P, Fahning ML, Joo HS, Zemjanis R. 1988. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. *Theriogenology* 29: 441–449.
75. Walz PH, Steficek BA, Baker JC. 1999. Effect of experimentally induced type II bovine viral diarrhoea virus infections on platelet function in calves. *Am. J. Vet. Res.* 60: 1396–1401.
76. Ward P, Misra V. 1991. Detection of bovine viral diarrhoea virus, using degenerate oligonucleotide primers and the polymerase chain reaction. *Am. J. Vet Res.* 52: 1231–1236.

77. Wilke GI, Grummer B, Moennig. 2003. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. *Biologicals* 31: 113–118.

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)