



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Detección de virus asociados con enfermedad respiratoria en terneros provenientes de hatos lecheros

Adriana Carolina Carrillo Torres

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Bogotá, Colombia

2023

Detección de virus asociados con enfermedad respiratoria en terneros provenientes de hatos lecheros

Adriana Carolina Carrillo Torres

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Salud Animal

Director:

M.V., MSc, Ph.D. Jairo Jaime Correa

Línea de Investigación:

Microbiología e Inmunología

Grupo de Investigación:

Centro de Investigación en Infectología e Inmunología Veterinaria (CI3V)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Bogotá, Colombia

2023

A la creadora de mi familia, a mi abuelita María:

*A quien, con su valentía histórica y presente,
nunca ha dejado de creer en su propia fuerza
ni en la de sus hijas y nietos.*

*A quien, gracias a su grandeza forjó en mí, la
fuerza necesaria para no rendirme, para
intentarlo una y otra vez.*

*A quien, con su ingenio, sembró en mi las
ideas para crecer día tras día.*

*A quien, desde su nobleza me brindó los
mejores consejos con amor y cariño.*

*Nadie igualará tu grandeza, bondad e
inteligencia.*

*Te amo Reginita, y este logro, te lo dedico a
ti.*

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Adriana Carrillo T.

Adriana Carolina Carrillo Torres

Fecha 03/08/2023

Agradecimientos

Agradezco a toda mi familia por ser mi soporte y la base de mis logros y éxitos; a mi madre Emma Torres, quien ha sido mi confidente, mi soporte, y por quien sigo adelante. Gracias por forjar y motivar en mí el hábito de la lectura, por permitirme conocer el mundo y aprender de él.

Gracias a mi hermano David Torres y su bondadosa esposa Marcela Villanueva, quienes han sido y serán siempre, sin duda, un hombro para mí.

A mi tía Claudia Torres, por apoyarme y guiarme siempre, por delinear la puerta de entrada a un gran camino lleno de posibilidades y éxitos.

Gracias a mi amado y admirado Ben, quien su fe y apoyo nunca se apartaron de mis logros. Gracias por darme la fuerza y sabiduría para alcanzar los mejores caminos.

Gracias a todos quienes desde sus acciones me han brindado su desinteresado apoyo cuando más lo necesité; especialmente a Hebert E., Johana G, Luis T. Y Maria F.N. y a mi Luchi.

Gracias al Dr. Jairo y la Dra. Susana; quienes desde su gran corazón me acogieron en su grupo de investigación, me guiaron, me acompañaron y me enseñaron una mejor y eficiente forma de proceder en el ámbito académico, en la vida y en la ciencia. Gracias por su asesoría y su aporte a mi formación profesional y personal.

Resumen

Detección de virus asociados con enfermedad respiratoria en terneros provenientes de hatos lecheros

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) provoca una considerable morbilidad y mortalidad en terneros, resultando en pérdidas económicas significativas. La ERB se caracteriza por ser un complejo donde hay interacciones entre factores medioambientales, el estado inmunológico del huésped y la presencia de agentes virales y/o bacterianos. Los agentes virales primarios asociados a ERB son el herpesvirus bovino 1 (BoHV-1), virus de la diarrea viral bovina (BVDV-1), virus de la parainfluenza bovina (BPIV3) y el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV). Este proyecto planteó como objetivo principal la detección mediante RT-PCR / qPCR de los principales virus asociados a ERB (BRSV, BPIV3, BoHV-1 y BVDV). Para lo anterior, se colectaron muestras de tejido pulmonar (P) y raspado nasal (RN) de terneros menores a seis meses de edad provenientes de hatos lecheros, colectadas en planta de beneficio. Los resultados revelaron una tasa de positividad del 25% para BRSV en las muestras de raspado nasal (RN) por PCR. Por su parte, en el caso de BPIV3, se observó una positividad del 14,6% mediante PCR y un aumento significativo al 41,7% mediante qPCR en las muestras de RN. Al analizar las muestras de pulmón, se constató que la positividad fue del 4% mediante PCR y del 26% mediante qPCR para BPIV3. Además, se logró secuenciar el gen P del BPIV3, determinando que la cepa colombiana corresponde al genotipo A. En la evaluación histopatológica, se identificó la neumonía intersticial como el diagnóstico más común. Este estudio representa el primer reporte de BRSV y BPIV3 en Colombia, lo que lo convierte en una contribución pionera en el ámbito académico.

Palabras clave: Enfermedad respiratoria bovina, Enfermedad respiratoria de los terneros, Enfermedades Respiratorias, BRSV, BPIV3, BoHV-1, BVDV.

Abstract

Detection of viruses associated with respiratory disease in calves from dairy herds

Bovine respiratory disease (BRD) causes considerable morbidity and mortality in calves, resulting in significant economic losses, characterized by a complex interaction between environmental factors, host immune status and the presence of viral and/or bacterial agents. The primary viral agents associated with BRD are bovine herpesvirus 1 (BoHV-1), bovine viral diarrhea virus (BVDV-1), bovine parainfluenza virus (BPIV3) and bovine respiratory syncytial virus (BRSV). The main objective of this project was the detection by RT-PCR/qPCR of the main viruses associated with BSE (BRSV, BPIV3, BoHV-1 and BVDV). For this purpose, samples of lung tissue (P) and nasal scraping (RN) were collected from calves under six months of age from dairy herds, collected at the processing plant. The results revealed a 25% positivity rate for BRSV in nasal scraping (NR) samples by PCR. For BPIV3, a positivity of 14.6% was observed by PCR and a significant increase to 41.7% by qPCR in NR samples. When lung samples were analyzed, positivity was found to be 4% by PCR and 26% by qPCR for BPIV3. In addition, the P gene of BPIV3 was sequenced and it was determined that the Colombian strain corresponds to genotype A. Histopathological evaluation identified interstitial pneumonia as the most common diagnosis. This study represents the first report of BRSV and BPIV3 in Colombia, which makes it a pioneering contribution in the academic field.

Keywords: Bovine respiratory disease, Respiratory disease of calves, Respiratory Diseases, BRSV, BPIV3, BoHV-1, BVDV

Contenido

	Pág.
Resumen.....	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas.....	XV
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVI
Introducción	1
1. Revisión de literatura. Complejo Viral Respiratorio Bovino: Agentes virales primarios	3
1.1 Generalidades de la Enfermedad respiratoria bovina (ERB)	3
1.2 Orthopneumovirus bovino (BRSV).....	5
1.2.1 Taxonomía y descripción molecular	5
1.2.2 Epidemiología del BRSV	7
1.2.3 Aspectos fisiopatológicos del BRSV	7
1.3 Respirovirus Bovino (BPIV3).....	8
1.3.1 Taxonomía y descripción molecular	8
1.3.2 Epidemiología del BPIV3	10
1.3.3 Aspectos fisiopatológicos del BPIV3	11
1.4 Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV)	12
1.4.1 Taxonomía y descripción molecular	12
1.4.2 Epidemiología BVDV	14
1.4.3 Aspectos fisiopatológicos del BVDV	16
1.5 Herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1).....	16
1.5.1 Taxonomía y descripción molecular	16
1.5.2 Epidemiología del BoHV-1.....	19
1.5.3 Aspectos fisiopatológicos del BoHV-1	20
1.6 Factores de riesgo asociados a enfermedad respiratoria bovina.....	21
1.7 Panorama Nacional de BRSV, BPIV3, BVDV y BoHV-1.....	21
1.8 Diagnóstico de la enfermedad respiratoria bovina	23
1.9 Prevención de enfermedad respiratoria bovina.....	24
1.10 Bibliografía.....	25
2. Detección de virus asociados con enfermedad respiratoria en terneros provenientes de hatos lecheros.....	47
2.1 Introducción.....	47
2.2 Materiales y Métodos	48
2.2.1 Población objetivo y criterios de inclusión	48

2.2.2	Toma y conservación de muestras post-mortem	49
2.2.3	Extracción de ácidos nucleicos	49
2.2.4	Síntesis de cADN	50
2.2.5	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	50
2.2.6	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR).....	51
2.2.7	Controles positivos	52
2.2.8	Genotipificación viral	52
2.2.9	Histopatología.....	53
2.2.10	Análisis estadístico	53
2.2.11	Aval Comité de Bioética	53
2.3	Resultados	54
2.3.1	Población y muestras obtenidas.....	54
2.3.2	Detección de los virus por PCR y qPCR	54
2.3.3	Análisis estadístico	60
2.3.4	Genotipificación viral	65
2.3.5	Resultados Histopatología.....	58
2.4	Discusión.....	66
2.5	Bibliografía	72
3.	Conclusiones y recomendaciones	79
3.1	Conclusiones.....	79
3.2	Recomendaciones	80
A.	Anexo: Diagrama del protocolo de purificación de Ácido Nucleico Viral	81
B.	Anexo: Diagrama del protocolo de síntesis de cDNA	83

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1. Representación esquemática del BRSV en cuanto a la estructura del virión y de la organización del genoma viral. En el virión se puede establecer la forma del virus, la ubicación de las proteínas estructurales y regulatorias, como también la forma helicoidal del genoma. En el genoma se representa la polaridad de este junto con la proporcionalidad (tamaño) y distribución de los genes que codifican para las diversas proteínas virales. Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023b) ³⁷	6
Figura 1-2. Representación esquemática de la estructura viral y del genoma de BPIV3.	10
Figura 1-3. Representación esquemática del genoma y de los productos de la traducción del BVDV. En la gráfica superior se establece el ssRNA (+) con presencia de un IRES en el extremo 5´ y el único ORF. En la gráfica inferior se discriminan proporcionalmente las proteínas estructurales y regulatorias que conforman la poliproteína producto de la traducción del transcripto del ORF. Se señalan los puntos de clivaje de la poliproteína distinguiendo las proteasas involucradas. Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023c) ⁹²	14
Figura 1-4. Representación esquemática del BoHV-1 y organización genómica. En la parte superior se establece la forma viral y se encuentran señaladas las proteínas estructurales del virión. En la inferior se establece el genoma viral con las dos regiones única larga (UL) y única corta (US), ambas flanqueadas por secuencias repetidas terminales invertidas (ITRS). Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023a; Flint et al. 2020; Thiry et al. 2006b) ^{120–122}	18
Figura 2-1. Distribución de frecuencias para BRSV mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada en dos distintos orígenes (Antioquía y Sabana de Bogotá) provenientes de pulmón (P) y raspado nasal (RN).	55
Figura 2-2. Distribución de frecuencias para BPIV3 mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada en dos distintos orígenes (Antioquía y Sabana de Bogotá) provenientes de pulmón (P) y raspado nasal (RN).	56
Figura 2-3. Distribución de frecuencias para BPIV3 mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) realizada en dos distintos orígenes (Antioquía y Sabana de Bogotá) provenientes de pulmón (P) y raspado nasal (RN).	57
Figura 2-5. Diagrama aluvial de las relaciones entre origen geográfico y diagnóstico molecular con el tipo de muestra para BPIV3 y BRSV.....	61
Figura 2-6. Diagrama aluvial de las relaciones entre diagnóstico molecular e histopatológico con el tipo de muestra para BPIV3 y BRSV..	62

Figura 2-7. Análisis de correspondencias múltiples con las variables: Diagnóstico histopatológico: presencia de neumonía intersticial; BPIV3-P/RN: positividad de BPIV3 a PCR convencional en muestras de pulmón (P) o raspado nasal (RN); BPIV3-P/RN-qPCR: positividad de BPIV3 a qPCR en muestras de pulmón (P) o raspado nasal (RN); BVDV-P/RN: positividad de BVDV a PCR convencional; BoHV-1 P/RN: positividad de BoHV-1 a PCR convencional.....	63
Figura 2-8. Grafica individual de los componentes de las correspondencias múltiples por origen geográfico.....	64
Figura 2-9. Grafica individual de los componentes de las correspondencias múltiples por diagnóstico histopatológico..	64
Figura 2-10. Árbol filogenético BPIV3 Colombia 2023. La gráfica señala la relación filogenética de la secuencia parcial del Gen P de BPIV3 detectado en muestras postmortem (raspado nasal) de terneros ingresados a planta de beneficio provenientes de la región de Antioquia, identificada como: BPIV3/Colombia/2023 (♦). Esta cepa se clasifica dentro del Genotipo A.....	65
Figura 2-11. Microfotografía correspondiente a pulmón sano, sin cambios histopatológicos. Imágenes histológicas de tejido pulmonar (lóbulo craneal accesorio) obtenido en una planta de beneficio a partir de un ternero originario de un hato lechero. (*): Bronquiolo y espacio alveolar; flechas: Septos alveolares; cabeza de flecha: Pleura. Coloración hematoxilina y eosina. X10.	58
Figura 2-12. Microfotografía correspondiente a pulmón sano, sin cambios histopatológicos.....	59
Figura 2-13. Microfotografía correspondiente a neumonía intersticial. Imágenes histológicas de tejido pulmonar (lóbulo craneal accesorio) obtenido en una planta de beneficio a partir de un ternero originario de un hato lechero. Flechas: Septos alveolares moderadamente engrosados debido a infiltrado inflamatorio. Coloración hematoxilina y eosina. X10.....	59
Figura 2-14. Microfotografía correspondiente a neumonía intersticial. Imágenes histológicas de tejido pulmonar (lóbulo craneal accesorio) obtenido en una planta de beneficio a partir de un ternero originario de un hato lechero. (*): bronquiolo; flechas: septos alveolares moderadamente engrosados debido a infiltrado inflamatorio. Coloración hematoxilina y eosina. X10.....	60
Figura 2-15. Microfotografía correspondiente a neumonía intersticial. Imágenes histológicas de tejido pulmonar (lóbulo craneal accesorio) obtenido en una planta de beneficio a partir de un ternero originario de un hato lechero. (*): bronquiolo y espacio alveolar; flechas: Septos alveolares moderadamente engrosados. Bovino. Coloración hematoxilina y eosina. X4.....	60

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1.1. Seroprevalencias para BVDV reportadas en Colombia	22
Tabla 1.2. Seroprevalencias para BoHV-1 reportadas en Colombia	23
Tabla 2.1. Lista con la secuencia de los primers empleados para la detección de los virus respiratorios (BRSV, BPIV3, BVDV y BoHV-1) mediante PCR convencional y características de los mismos.....	50
Tabla 2.2. Lista con la secuencia de los primers empleados para la detección de los virus respiratorios BRSV y BPIV3 mediante PCR en tiempo real (qPCR) y características de los mismos.....	51
Tabla 2.3. Establecimiento de las curvas patrón para el límite de detección y cuantificación viral para BRSV y BPIV3 mediante la técnica de PCR en tiempo real (qPCR).....	52
Tabla 2.4. Distribución de muestras de tracto respiratorio de terneros lecheros y colectadas en planta de beneficio.	54
Tabla 2.5. Detección de BRSV, BPIV3, BVDV-1 y BoHV-1 por PCR convencional y PCR en tiempo real en muestras de raspado nasal (RN) y pulmón (P) de terneros provenientes de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá y de Antioquia.	55

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviatura	Término
ERB	Enfermedad Respiratoria bovina
ERT	Enfermedad Respiratoria de los Terneros
BoHV	Herpesvirus Bovino
BVDV	Diarrea Viral Bovina
BPIV3	Virus de la Parainfluenza Bovina
BRSV	Virus Sincitial Respiratorio Bovino
HRSV	Virus Sincitial Respiratorio Humano
BRV	Virus de la Rinitis Bovina
BCoV	Coronavirus Bovino
IDV	Virus de la Influenza D
ICV	Virus de la Influenza C
BNV	Nidovirus Bovino
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
cADN	ADN Complementario
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
RT-PCR	Reacción en Cadena de la polimerasa con transcriptasa Inversa
qPCR	Reacción en Cadena de la polimerasa en Tiempo Real / Cuantitativa
ORF	Marco Abierto de Lectura
UL	Región de Secuencia Larga
US	Región de Secuencia Corta
LR	Gen Relacionado con Latencia
UTR	Región no Traducida
IBR	Rinotraqueítis Bovina
Dpi	Días Post-infección
CP	Citopática
NCP	No Citopática
RN	Raspado Nasal
P	Tejido Pulmonar
MEM	Medio Esencial Mínimo
°C	Grados Centígrados
LV-UNAL	Laboratorio de Virología de la Universidad Nacional de Colombia (Facultad de Medicina Veterinaria)
dNTPs	Desoxirribonucleótidos Trifosfatos

Introducción

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) y la enfermedad respiratoria de los terneros (ERT) son entidades multifactoriales que desencadenan brotes respiratorios en bovinos de diferentes edades y sistemas de producción. Esta problemática es de especial relevancia en el caso de terneros menores a seis meses de edad, en los que se evidencia una mayor severidad clínica y mortalidad ^{1,2}. La manifestación de ERB/ERT está afectada por diversos factores, por lo cual es importante tener en cuenta las interacciones entre los agentes virales y bacterianos involucrados, las condiciones medio-ambientales, los factores de riesgo y el estado inmunológico de los animales ³⁻⁵. Los virus son considerados como los principales agentes etiológicos de la ERB, y se reconocen cuatro agentes virales primarios: el herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1), el virus de la diarrea viral bovina (BVDV-1), el virus de la parainfluenza bovina (BPIV3) y el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV); los cuales favorecen la subsecuente infección por bacterias oportunistas como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis* ^{5,6}.

A nivel mundial, la ERB/ERT es reconocida como el problema sanitario primordial dentro de la industria ganadera, debido a las considerables pérdidas económicas generadas a raíz de sus efectos negativos en términos productivos como de supervivencia, tanto a mediano como largo plazo. Dichos efectos incluyen el desarrollo de neumonía crónica, retraso en el crecimiento, bajos índices reproductivos, baja producción lechera y aumento en las tasas de descarte. Además, es crucial mencionar los costos directos asociados a los programas de prevención y tratamiento ^{7,8}. En el contexto de Colombia, este impacto se ha demostrado a través de diversos estudios realizados desde la década de 1990. Un ejemplo de ello es un estudio de 1996 que se centró en terneros menores de tres meses de edad en el departamento de Nariño, el cual reveló que la neumonía constituía la principal entidad clínica (36,3%) y la segunda causa de muerte (20%) en estos animales⁹. En 1997, otro estudio reportó una morbilidad del 11,3% en terneros del departamento de Antioquia ¹⁰. En años posteriores, un estudio prospectivo de cohortes llevado a cabo en 2005 en fincas lecheras de la Sabana de Bogotá reveló una morbilidad de la ERB del 2,8%,

relacionándola con el 6% de las muertes¹¹. Sin embargo, a pesar del impacto e importancia de la ERB en la industria ganadera tanto a nivel mundial como local, no se han llevado a cabo estudios sobre la detección de los agentes virales causantes de esta entidad en Colombia. Bajo esta premisa, se plantea este estudio pionero en el país con el objetivo de detectar, a través de las técnicas RT-PCR/qPCR, los cuatro principales virus asociados a ERB (BRSV, BPIV3, BVDV y BoHV-1) en muestras postmortem obtenidas de terneros menores de seis meses de edad, pertenecientes a hatos lecheros y recolectadas en plantas de beneficio de la Sabana de Bogotá. El enfoque de esta investigación radica en la búsqueda de posibles asociaciones entre la positividad viral detectada en las plantas de beneficio y factores como el origen geográfico de los terneros, así como su ubicación específica dentro del sistema respiratorio, distinguiendo entre el tracto respiratorio alto y bajo.

1.Revisión de literatura. Complejo Viral Respiratorio Bovino: Agentes virales primarios

1.1 Generalidades de la Enfermedad respiratoria bovina (ERB)

Desde hace décadas se reconoció que la especie bovina es especialmente susceptible de sufrir enfermedades del tracto respiratorio dadas sus características anatómicas y fisiológicas ¹². Por su anatomía, los lóbulos pulmonares bovinos se encuentran completamente separados por septos interlobulillares y el intercambio gaseoso entre alveolos se da a través de unas estructuras denominadas los poros de Kohn, estos son escasos en los bovinos, lo que predispone a esta especie a hipoxias a nivel pulmonar ¹³. Por su fisiología, los bovinos tienen una mayor capacidad pulmonar para la respiración basal comparada con otras especies, esto permite probablemente, una mayor exposición a patógenos por inhalación. Es así, como la combinación de estos dos factores predispone a los bovinos a ser más susceptibles a las enfermedades respiratorias ¹⁴.

La Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) puede afectar a bovinos de todas las edades, siendo los más susceptibles los terneros menores a tres meses de edad, donde se reportan prevalencias hasta del 22% y mortalidades que alcanzan hasta el 46.5%^{8,15}. Adicionalmente, se ha descrito que la interacción de factores medioambientales, el estado inmunológico del huésped y la presencia de agentes virales y/o bacterianos pueden aumentar el riesgo de aparición de esta enfermedad, reconocida como un complejo particular en los terneros y que se denomina como la enfermedad respiratoria de los terneros (ERT)¹⁶. Históricamente, se reconocen en ERB/ERT cuatro agentes virales primarios: el herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1), el virus de la diarrea viral bovina (BVDV-1), el virus de la parainfluenza bovina (BPIV3) y el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV).

Su participación como causalidad de ERB/ERT se ha logrado establecer a través de diagnósticos moleculares, serológicos, relaciones epidemiológicas y análisis bioinformáticos; demostrando que actúan como patógenos directos o como desencadenantes de patogenicidad mediante diferentes interacciones y por factores de virulencia. De este modo, los virus primarios facilitan la subsecuente infección por bacterias oportunistas como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis*^{5,6}.

Adicional a lo establecido hasta aquí, los avances en las técnicas de diagnóstico, particularmente las de tipo molecular, han permitido establecer la presencia de otros agentes virales en el tracto respiratorio bovino cuya participación en la ERB/ERT aún no está claramente dilucidada. Entre estos se reportan el virus de la rinitis bovina (BRV), el coronavirus bovino (BCoV), el virus de la influenza tipo D y C (IDV e ICV), el Nidovirus Bovino (BNV) y algunos miembros de la familia *Parvoviridae*¹⁷⁻²¹. Estos en su conjunto se denominan agentes virales secundarios del ERT/ERB.

Una propiedad de los virus que afectan el tracto respiratorio bovino es que rara vez generan letalidad intrínseca. En lugar de ello, una vez invaden el sistema respiratorio, establecen interacciones sinérgicas con factores estresantes que desencadenan un papel proactivo para facilitar el desarrollo de estas patologías. Esta dinámica se origina a partir de la habilidad de estos virus para desregular los sistemas de respuesta inmunológica del organismo, abarcando tanto el sistema inmunológico innato como el adaptativo. Como resultado de esta interacción, se producen alteraciones en los componentes de la superficie mucosa y una reducción en la actividad funcional de células como los monocitos, macrófagos, linfocitos T y B. Por lo cual, la combinación de infecciones virales, bacterias oportunistas y factores estresantes conducen a desencadenar diversos estadios de neumonía en los bovinos²². Finalmente, considerando la importancia de los agentes virales primarios (BRSV, BPIV3, BVDV, BoHV-1) dentro de la ERB/ERT y su abordaje dentro de este trabajo, a continuación, se revisan sus aspectos taxonómicos, moleculares, epidemiológicos y fisiopatológicos.

1.2 Orthopneumovirus bovino (BRSV)

1.2.1 Taxonomía y descripción molecular

El *Orthopneumovirus* bovino, reconocido antes del 2016 como el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV por sus siglas en inglés: *bovine respiratory syncytial virus*), pertenece al Grupo V de la clasificación de Baltimore ya que posee como genoma un ARN de cadena sencilla y de polaridad negativa [ssARN(-)], con una longitud de 15 Knt^{23,24}. A nivel taxonómico, se clasifica dentro del orden de los Mononegavirales, familia *Pneumoviridae*, género *Orthopneumovirus*, al cual también pertenece el virus sincitial respiratorio humano (HRSV) con el que comparte características epidemiológicas, clínicas y patológicas comunes²⁵. En una primera instancia, la diversidad del BRSV se delineó a través de la discriminación antigénica mediante la reactividad frente a anticuerpos monoclonales. Esta aproximación condujo a la identificación de cuatro subgrupos antigénicos designados como A, B, AB y no tipificados^{26,27}. Posteriormente, esta clasificación recibió validación por medio de análisis de secuenciación y filogenia; estos últimos se centraron sobre la glicoproteína G (gpG) debido a su alta variabilidad dada por mutaciones a nivel de los nucleótidos (nt) y expresada en los aminoácidos (aa)^{28,29}.

En la actualidad, la calificación del BRSV se sustenta en la secuenciación de las gpG, gpN y gpF, dando origen a seis grupos distintos (clados filogenéticos) denominados I - VI. Estos grupos, aparte de altos niveles de identidad de nt dentro de ellos, tienen correlaciones geográficas y temporales,³⁰. Un ejemplo de esto fue en Japón donde se pudo establecer que las cepas circulantes de BRSV se enmarcaban en el subgrupo III, un hallazgo en sintonía con resultados análogos derivados de una provincia del norte de China después de un brote respiratorio. Asimismo, se constató una concordancia en las cepas provenientes de Brasil y Turquía³⁰⁻³³. Por otro lado, en el subgrupo II se encuentran cepas reportadas en el norte de Europa, específicamente en países como Dinamarca, Suecia y Noruega^{34,35}.

El ssARN(-) del BRSV codifica para 11 proteínas diferentes, las de tipo estructural corresponden a la proteína grande o de superficie (G), la proteína de fusión (F) y la proteína hidrófoba pequeña (SH); estas tres se encuentran incrustadas en la envoltura viral. En la cara interna de esta última y estructurando el core viral, se encuentra la proteína de matriz

(M) y el core, a su vez, contiene la proteína de nucleocápside (N) que protege el ARN viral y adopta la forma helicoidal del mismo. En cuanto a las proteínas de tipo regulatorio, Adheridas a N, se encuentran unidades de la fosfoproteína (P) y la polimerasa viral dependiente de ARN (L). El ssARN(-) codifica también para el factor anti-terminación transcripcional (M2-1), la proteína reguladora de ARN (M2-2), y dos proteínas no estructurales NS1 y NS2 (Figura 1.1) ³⁶.

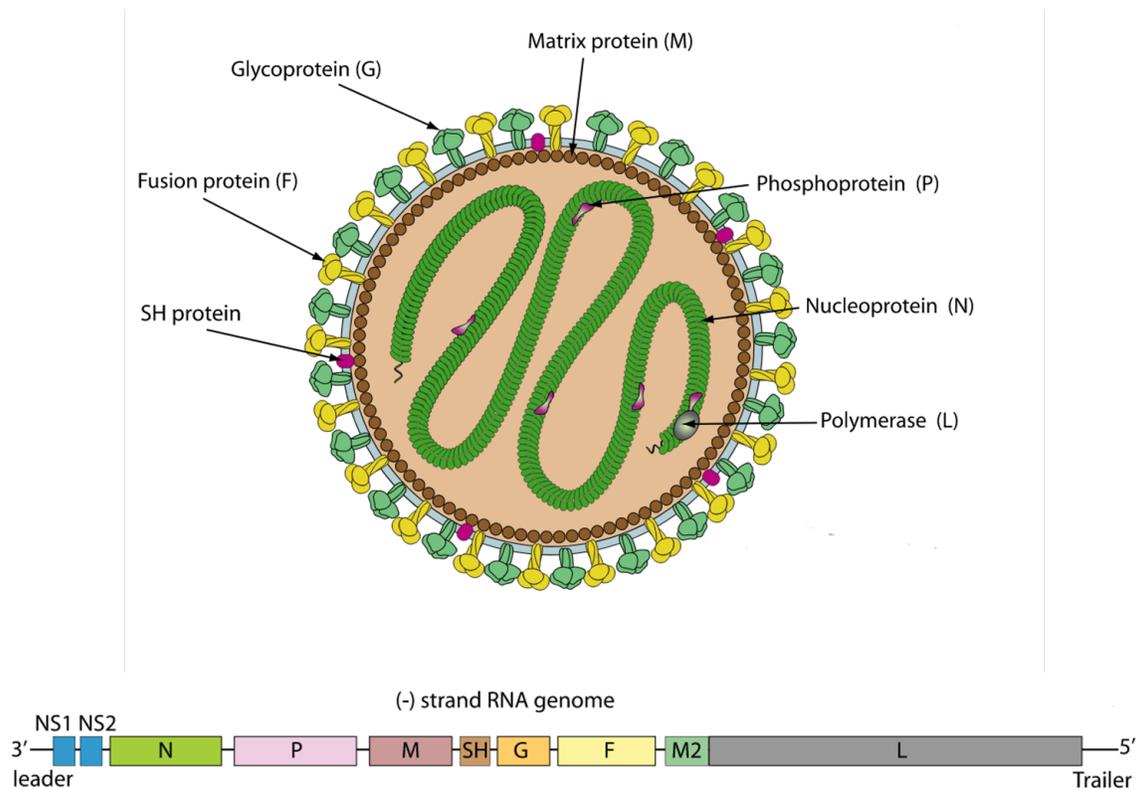


Figura 1-1. Representación esquemática del BRSV en cuanto a la estructura del virión y de la organización del genoma viral. En el virión se puede establecer la forma del virus, la ubicación de las proteínas estructurales y regulatorias, como también la forma helicoidal del genoma. En el genoma se representa la polaridad de este junto con la proporcionalidad (tamaño) y distribución de los genes que codifican para las diversas proteínas virales. Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023b)³⁷

1.2.2 Epidemiología del BRSV

El BRSV se ha encontrado como responsable de brotes de ERB/ERT tanto en ganado lechero como de ceba, ocasionando una morbilidad de hasta el 80%^{34,38}. Comparado con otros virus respiratorios como CVB y BPIV3, el BRSV se ha encontrado en mayor proporción y en algunas ocasiones como agente único en casos de ERB; esto ha llevado a que algunos autores lo propongan como el principal patógeno asociado a brotes respiratorios en las producciones bovinas³⁴. Adicional a lo anterior, su seroprevalencia se ha reportado entre 52.2 – 83.11% en hatos sin vacunación y de hasta el 100% en la fase aguda del brote³⁹⁻⁴¹. Proporcionalmente, los signos respiratorios asociados con BRSV son más evidentes en terneros entre las dos semanas y los cinco meses de edad^{2,42}. En cuanto al ganado adulto, las vacas lecheras mayores a tres años de edad son las más afectadas, observándose cuadros más severos en las gestantes y durante la fase temprana del posparto³⁹.

Finalmente, se manifiesta una dualidad de evidencias en lo que respecta a la letalidad ocasionada por el BRSV, ya que algunos reportes muestran un índice aproximado al 20%, mientras que otros indican una tasa notablemente reducida^{31,38}. En el primer escenario, un estudio ejecutado en Colonia (Uruguay) destacó un episodio respiratorio en terneras de 5 - 6 meses de edad, donde el BRSV se identificó como agente etiológico único ocasionando una morbilidad del 60% y una mortalidad del 20%⁴³. Por otro lado, en el segundo escenario, en explotaciones ganaderas de Países Bajos, se registró un episodio respiratorio que involucró a 726 bovinos y, durante un año de seguimiento, solamente se documentó una defunción atribuible al BRSV⁴⁴.

1.2.3 Aspectos fisiopatológicos del BRSV

Al invadir el tracto respiratorio, el BRSV lleva a cabo su replicación primordialmente en las células epiteliales ciliadas y los neumocitos tipo II⁴⁵. El proceso de adsorción se produce mediante la interacción entre la gpG viral y los glicosaminoglicanos de la membrana celular. Posteriormente, se desencadena una escisión de la proteína F en dos subunidades: F1 y F2, siendo esta última la que desempeña un papel crucial en la unión de alta afinidad entre la envoltura viral y la membrana celular⁴⁶. Además, la proteína F también juega un papel en la fusión de las membranas citoplasmáticas entre las células infectadas y no infectadas, lo que conlleva a la formación de sincitios o células gigantes

multinucleadas. Asimismo, esta proteína representa un antígeno viral fundamental, el cual induce la generación de anticuerpos neutralizantes³⁶.

La actividad de replicación viral genera alteraciones en las vías de señalización celular y provoca respuestas inmunitarias, particularmente del tipo innato. Entre estas, el BRSV promueve la síntesis de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (IL-12, IFN γ , TNF α , IL-6 e IL-18, IL-8, RANTES, MCP-1, MIP-1 α , IFN α e IFN β) en el entorno del tejido pulmonar bovino³⁶. Lo anterior conlleva al reclutamiento de neutrófilos y linfocitos a nivel pulmonar generando bronquiolitis y neumonía intersticial²⁵. La exacerbación de la respuesta innata resulta en fiebre, tos y secreción nasal de tipo mucoso que puede generar acumulo en las vías aéreas. La gravedad del cuadro respiratorio está asociada con la edad del bovino ya que los terneros (particularmente los más jóvenes) presentan una respuesta inmune innata más pronunciada, lo que explicaría la severidad clínica en algunos casos³⁶.

Otro aspecto de considerable relevancia originado por la replicación del BRSV es el incremento de la apoptosis celular a través de la vía de señalización caspasa-dependiente. Este fenómeno induce la reducción de la población celular tanto en las vías respiratorias superiores como en las inferiores, ejerciendo su impacto en los neumocitos tipo I y II^{47,48}. Simultáneamente, la disminución de las células ciliadas da lugar a disfunciones en el sistema mucociliar, propiciando una predisposición a la colonización por bacterias oportunistas, principalmente en el contexto del tracto respiratorio inferior. Este ambiente crea el escenario propicio para la instauración de una neumonía bacteriana secundaria³.

1.3 Respirivirus Bovino (BPIV3)

1.3.1 Taxonomía y descripción molecular

El virus de la parainfluenza bovina 3 (BPIV3 por sus siglas en inglés: *bovine parainfluenza virus 3*), es actualmente reconocido como respirivirus bovino. Al igual que BRSV, el BPIV3 pertenece al Grupo V de Baltimore, con genoma ARN de cadena sencilla y de polaridad negativa [ssARN (-)] con una longitud de 15.5 Knt. El BPIV3 pertenece al orden de los

Mononegavirales, familia *Paramyxoviridae*, género *Respirovirus*^{23,24}. A este grupo también pertenecen los virus de la parainfluenza humana 1 y 3 y el respirovirus porcino 1⁴⁹.

El ssARN (-) contiene seis marcos abiertos de lectura (ORF) que codifican para nueve proteínas. La estructura del virión está conformada por una envoltura lipídica que está atravesada por dos glicoproteínas: el complejo hemaglutinina / neuraminidasa (HN) y la proteína de fusión (F); ambas participan en los procesos de adsorción y absorción viral a través de la fusión de la envoltura viral con la membrana celular y posteriormente en la liberación de partículas virales en el citoplasma⁵⁰. En la cara interior de la envoltura se ubica la proteína M, la que le da la estructura al virión⁵¹. En el core viral se encuentra la ribonucleoproteína, una estructura compleja compuesta por el ARN viral, la proteína de nucleocápside (N) que envuelve y resguarda el genoma, la fosfoproteína (P) que interacciona con N, y la proteína mayor (L) o polimerasa viral (Figura 1.2). Finalmente, figuran cuatro proteínas no estructurales, denotadas como V, C y D, las cuales surgen como resultado de la edición del ARNm derivado del gen P⁵².

La clasificación actual del BPIV3 descansa en la secuenciación, ya sea del genoma completo o del gen M; ambos abordajes concuerdan en establecer la existencia de tres genotipos denominados BPIV3a, BPIV3b y BPIV3c^{49,53}. El BPIV3a se aisló por primera vez en Estados Unidos, y posteriormente se ha reportado en regiones como Egipto, China y Japón^{53,54}. El BPIV3b fue identificado por primera vez en Australia⁴⁹, mientras que el BPIV3c se encuentra principalmente en Asia, en países como China, Corea del Sur y Japón^{1,55,56}. En América, la presencia de los tres genotipos esta reportada en Estados Unidos y en Argentina^{57,58}.

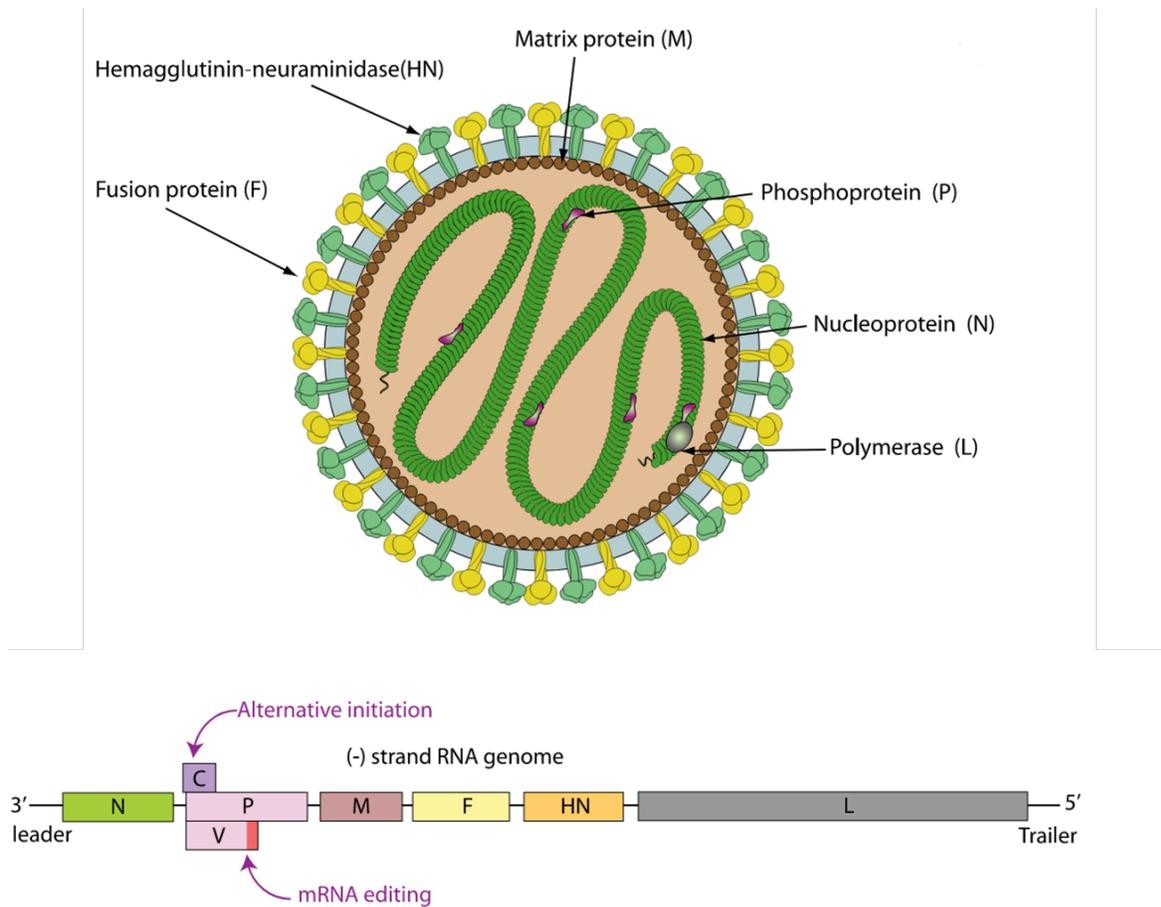


Figura 1-2. Representación esquemática de la estructura viral y del genoma de BPIV3. En el virión se puede establecer la forma del virus, la ubicación de las proteínas estructurales y regulatorias, como también la forma helicoidal del genoma. En el genoma se representa el ssRNA(-) con su polaridad junto con la proporcionalidad (tamaño) y distribución de los genes que codifican para las diversas proteínas virales ⁵⁹. Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023d) ⁵⁹.

1.3.2 Epidemiología del BPIV3

Desde su primer reporte en 1959 ⁶⁰, el BPIV3 se ha considerado endémico en las poblaciones bovinas ya sean de ceba como de lechería ⁶¹, y dentro de estos, afecta tanto a bovinos jóvenes como adultos ¹. Sin embargo, las manifestaciones respiratorias severas se reportan en mayor proporción en terneros, y dentro de este estos, en animales entre los dos y ocho meses de edad, lo que coincide con el momento de declive de la inmunidad materna ⁶². Un aspecto crucial en la epidemiología de este virus es su capacidad para generar infecciones subclínicas, las cuales pueden presentar dos aspectos contradictorios:

por un lado, contribuyen a la persistencia y transmisión del virus en la población, y por otro, mantienen cierto grado de inmunidad dentro del grupo. No obstante, esta inmunidad no se considera absolutamente esterilizante ^{63,64}.

Sobre la inmunidad se debe resaltar que la seroprevalencia puede relacionarse con la edad de los animales, reportándose en algunos estudios valores mayores de seroprevalencia en animales adultos ⁶⁶; en otros estudios este factor no es determinante en la seroepidemiología del BPIV3. Por lo cual, el BPIV3 llega a presentar valores de presencia de anticuerpos entre el 56.8 - 93.9% a nivel de hato ^{65,66}. Estas diferencias pueden atribuirse a la diversidad en los programas de vacunación entre hatos.

Otro aspecto relevante en la epidemiología del BPIV3 es su amplia distribución, no solo entre la población bovina, sino también en diversas especies. Se han registrado anticuerpos contra este virus en búfalos, humanos, cabras, bisontes, cobayos, rinocerontes blancos y negros, alces, borregos cimarrones y camellos. Lo que indica la capacidad del virus para infectar una amplia variedad de especies, aunque se desconoce su capacidad de producir enfermedad ellas ^{58,67-72}.

1.3.3 Aspectos fisiopatológicos del BPIV3

El BPIV3 provoca una patología respiratoria caracterizada por una sintomatología leve, que va acompañada de lesiones tisulares y una inmunosupresión resultante en la aparición de bronconeumonía debido a la colonización de bacterias oportunistas ⁷³. Adicionalmente, se ha documentado que puede inducir abortos en bovinos y ovinos, demostrándose su capacidad de transmisión transplacentaria en vacas seronegativas ⁷⁴. Desde una perspectiva fisiopatológica, cuando el virus penetra en el tracto respiratorio, las proteínas HN y F desempeñan un papel crucial para adsorción viral a las células diana, cuyo tropismo se da principalmente por células traqueales, bronquiales ciliadas y no ciliadas, y neumocitos tipo I y II. Este proceso de unión se lleva a cabo de manera específica gracias a la interacción de la proteína HN con el Ácido N-acetilneuramínico presente en la mucosa del tracto respiratorio y se ve favorecido por un pH extracelular neutro ^{75,76}.

En estudios realizados *in vivo* en terneros neonatos desafiados experimentalmente, así como *in vitro* en cultivos primarios de tráquea inoculados con BPIV3, se encontró una disminución en la altura de las células epiteliales, pérdida de cilias, cuerpos de inclusión

citoplasmáticos, inflamación y descamación de células superficiales, seguido de proliferación epitelial y formación de sincitios ⁷⁷. Por otro lado, la respuesta inmunitaria también tiene un papel importante en la patogénesis de BPIV3. Como evidencia de esto, se encontró en terneros infectados con BPIV3 que las células de MAST presentaron mayor liberación de histamina ⁷⁸. Además, se ha constatado que el BPIV3 tiene la capacidad de replicarse en los macrófagos alveolares pulmonares (MA), lo que lleva a alteraciones funcionales en estas células. Estas modificaciones incluyen la reducción de la fagocitosis y cambios en el metabolismo del ácido araquidónico, lo que resulta en la liberación de prostaglandinas con propiedades inmunosupresoras. Adicionalmente, esta afectación de los macrófagos conlleva a una disminución en la presentación antigénica a nivel pulmonar, lo que limita la activación de los linfocitos Th2 y por ende la generación de citoquinas asociadas a la señalización para inducir producción de anticuerpos. Adicionalmente, el contacto de los MA infectados con los linfocitos resulta en una inmunosupresión sistémica, vinculada a una infección no productiva o abortiva de los linfocitos ^{79,80}. En fases posteriores de la infección, se ha observado una sobreexpresión de los genes de citoquinas como TNF α , IL1 β e IL6, lo que ha sido relacionado con la aparición de fiebre ⁸¹.

1.4 Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV)

1.4.1 Taxonomía y descripción molecular

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV por sus siglas en inglés: *bovine viral diarrhoea virus*) pertenece al grupo IV de Baltimore al ser un virus ssARN de polaridad positiva [ssRNA(+)]. Pertenece a la familia *Flaviridae*, género *Pestivirus*, donde también se encuentran otros virus de importancia veterinaria como el virus de la peste porcina clásica (*Pestivirus C*) y el virus de la enfermedad de las fronteras (*Pestivirus D*) ⁸². Para la especie bovina, se han reportado tres especies del género *Pestivirus*: el *Pestivirus A* reconocido como BVDV-1 que alberga 23 genotipos (1a -1w) ^{83,84}; el *Pestivirus B* (BVDV-2) con cuatro genotipos (2a - 2d) ⁸⁵ y el *Pestivirus H* (DVDV-3) denominado “*HoBi-Like Virus*” que incluye cuatro genotipos (3a - 3d) ^{86,87}. Para las dos primeras, se reconocen dos biotipos basados en la capacidad de los virus para generar efecto citopático (ECP) en cultivos celulares susceptibles. Por un lado, están las cepas citopáticas (CP) que provocan efecto y por otro las no citopáticas (NCP) que no lo producen ¹¹⁰.

El genoma del BVDV tiene una longitud aproximada de 12,4 Knt que contiene un único ORF y está flanqueado por dos regiones no traducidas (UTR): 5'UTR y 3'UTR. La primera tiene como características que es altamente conservada siendo la empleada para la clasificación filogenética⁸³; además, posee una estructura tipo IRES (secuencia interna de reconocimiento ribosomal) que sirve como mecanismo alternativo de inicio de la traducción^{88,89}. El ORF es traducido como una sola poliproteína que sufre procesos de maduración postraduccional (clivaje) ejecutado por proteasas tanto celulares como virales. El producto de estos clivajes son cuatro proteínas estructurales (C, Erns, E1 y E2) y ocho no estructurales: (N^{pro}, P7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) (Figura 1.3)⁹⁰. Dentro del contexto de los componentes estructurales, es relevante mencionar la proteína C (cápside) que desempeña un papel clave en proteger el RNA viral. Asimismo, en la envoltura viral se encuentran integradas las glicoproteínas Erns (abreviatura de "envelope protein ribonuclease secreted"), E1 y E2. Entre estas, la glicoproteína E2 presenta una notable variabilidad y es sobre ella que se generan los anticuerpos neutralizantes. Cabe destacar que la proteína Erns cumple una doble función: por un lado, actúa como elemento estructural, y por otro, tiene un rol regulatorio, debido a su actividad RNAsa en las células infectadas⁹¹.

En términos evolutivos, el BVDV exhibe una alta variabilidad genética, manifestándose en la emergencia de nuevas variantes virales. Para abordar este fenómeno, se han realizado análisis de secuencias de la región 5'UTR, estos han revelado tasas evolutivas que oscilan entre 5.9×10^{-4} y 9.3×10^{-3} sustituciones/sitio/año (ssa). Esta diversidad genética encuentra explicación en tres factores principales, en primer lugar, la acumulación de mutaciones que se atribuyen a la ausencia de capacidad editora por parte de la ARN polimerasa dependiente de ARN viral. En segundo lugar, se da por el fenómeno de recombinación homóloga entre cepas virales, la cual se ha reportado en BVDV-1 y BVDV-2⁸⁸. Por último, resulta esencial destacar la ocurrencia de recombinación no homóloga en el ARN viral, que conjuntamente con la inserción de secuencias celulares, duplicaciones y deleciones, conduce a la generación de las cepas BVDV-CP. A raíz de esto último, una distinción fenotípica fundamental entre las cepas BVDV-CP y NCP reside en la expresión de la proteína NS3, la cual únicamente está en infecciones con BVDV-CP. Esto no solo constituye un marcador diferencial entre cepas, sino un elemento crucial para provocar el ECP y sirve para los análisis moleculares del virus⁸⁹.

En cuanto a la distribución de las especies este virus, se destaca que el Pestivirus A (BVDV-1) presenta una amplia distribución global, identificándose en hasta un 88.2% de los aislados virales. Dentro de esta especie, el genotipo más frecuente es el 1b, seguido por el 1a y finalmente el 1c⁸⁸. Cabe señalar que en diferentes regiones del mundo se han identificado genotipos dominantes; por ejemplo, el genotipo 1a es prevalente en África, el 1c en Australia, y el 1b en Asia, América y Europa. En Francia, se han notificado los genotipos 1e, 1b, 1d, 1l y 1x. Por otro lado, los genotipos 1m, 1n, 1o, 1p y 1q se han identificado exclusivamente en Asia, mientras que los genotipos 1f, 1g, 1h, 1k, 1l, 1r, 1s y 1t son específicos de Europa⁸³. Con respecto al *Pestivirus B* (BVDV-2), su presencia abarca aproximadamente el 11.8% de los aislados virales. Su primer reporte se originó en Canadá y Estados Unidos, y posteriormente se extendió a países como Alemania, Bélgica, Francia, Reino Unido, Eslovaquia y Austria. El genotipo 2a prevalece en todas las regiones geográficas en las que se ha registrado la presencia de BVDV; el 2c ha sido detectado en áreas específicas de Europa y América, mientras que el 2d se ha identificado en Argentina⁸⁸.

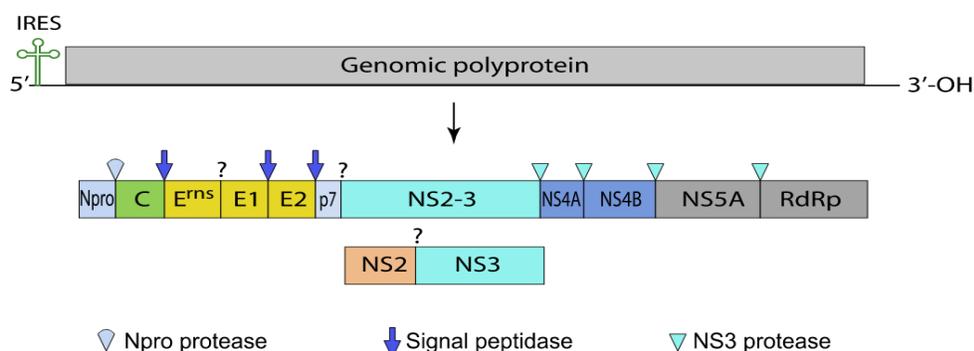


Figura 1-3. Representación esquemática del genoma y de los productos de la traducción del BVDV. En la gráfica superior se establece el ssRNA (+) con presencia de un IRES en el extremo 5' y el único ORF. En la gráfica inferior se discriminan proporcionalmente las proteínas estructurales y regulatorias que conforman la poliproteína producto de la traducción del transcripto del ORF. Se señalan los puntos de clivaje de la poliproteína distinguiendo las proteasas involucradas. Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023c)⁹²

1.4.2 Epidemiología BVDV

Para comprender la epidemiología del BVDV, es crucial destacar la diversidad de las presentaciones clínicas que puede presentar, tales como enfermedad respiratoria, diarrea, fallas reproductivas, abortos, muerte perinatal, malformación fetal, inmunosupresión y

muerte por enfermedad de las mucosas⁹³. Junto a esta amplia gama de presentaciones, un factor fundamental en el mantenimiento del virus en los hatos es la capacidad de ocasionar la infección persistente (PI) en terneros. La generación de animales PI está relacionada con la edad gestacional en la que una vaca se infecta. Cuando esto ocurre antes de que el feto sea inmunocompetente (antes de los 125 días de gestación), este será inmunotolerante para el virus, es decir, producirá muy bajos niveles de anticuerpos anti-BVDV⁹⁴ y si llega a término y nace, eliminará persistentemente el virus. Es importante señalar que los virus que inducen esta condición de PI pertenecen a cepas no citopáticas (NCP), y los terneros que presentan esta infección suelen tener menor peso al destete y mayor riesgo de muerte⁹⁵. Además, son susceptibles a la denominada "enfermedad de las mucosas", que se refiere a la sobreinfección de un PI (infectado con una cepa NCP) con una cepa homóloga citopática (CP). Esta presentación clínica se considera letal^{96,97}. Los valores de prevalencia de los PI suelen ser bajos al destete (0 - 24%) lo que se asocia con su mayor tasa de morbilidad y mortalidad^{4,98}. Sumado a lo anterior, los PI se caracterizan por excretar continuamente grandes cantidades del virus y se consideran la principal fuente de contagio, por lo cual la estrategia de control más efectiva es detectarlos y eliminarlos del hato⁹⁹.

En relación a la respuesta humoral, es importante señalar que la seroconversión se observa en bovinos que son inmunocompetentes para el virus y que han sufrido una infección aguda¹⁰⁰. Además, la seroprevalencia muestra una tendencia a ser elevada en distintos contextos. En el caso de la ganadería lechera, se han reportado valores entre 53% - 90%¹⁰¹, mientras que, en el ganado destinado a ceba, las cifras oscilan entre 20% - 80%^{102,103}. Todas estas particularidades inherentes a la enfermedad y sus variadas formas de infección contribuyen a generar considerables pérdidas económicas. Estas no solo se derivan de la mortalidad, sino también de los gastos en medidas de bioseguridad, tratamientos y programas de vacunación. Además, es relevante tener en cuenta que el rango de especies susceptibles al BVDV abarca no solo bovinos, sino también cabras, ovejas, ciervos, yaks, búfalos, cerdos y diversos rumiantes silvestres^{104,105}. Esta amplia gama de hospedadores complica su control y facilita su diseminación en diferentes entornos.

1.4.3 Aspectos fisiopatológicos del BVDV

El BVDV presenta propiedades inmunosupresoras en el huésped y es considerado como un factor principal vinculado al desarrollo de la ERB/ERT, ya que su presencia incrementa notablemente la susceptibilidad a infecciones por otros patógenos⁶⁴; y puede inducir tanto infecciones transitorias como persistentes, las cuales se distinguen primordialmente por la respuesta inmunológica del huésped. Las infecciones transitorias pueden producirse a partir de biotipos tanto CP como NCP y desencadenan una respuesta inmunológica adaptativa que puede perdurar a lo largo de toda la vida del animal¹⁰⁶. Una primo infección en terneros que carecen de anticuerpos anti-BVDV con una cepa CP provoca una inmunosupresión de corta duración (hasta 7 dpi); período durante el cual hay una disminución en los niveles totales de IgG que se recuperan entre los 21 - 35 dpi. En contraste, la infección con un biotipo NCP desencadena una respuesta inmunológica caracterizada por la producción de anticuerpos IgG2 y la generación de títulos séricos neutralizantes elevados. Además, estos anticuerpos neutralizantes presentan reactividad cruzada contra cepas homólogas y heterólogas de BVDV, abarcando tanto biotipos CP como NCP¹⁰⁷.

1.5 Herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1)

1.5.1 Taxonomía y descripción molecular

El herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1 por sus siglas en inglés: *bovine herpesvirus*) es un virus DNA de cadena doble (dsDNA), que pertenece al Grupo I de Baltimore. Está clasificado en el orden de los Herpesvirales, familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alphaherpesvirinae*, género *Varicellovirus*. Este virus se divide en tres subtipos: BoHV-1.1, BoHV-1.2a y BoHV-1.2b¹⁰⁸⁻¹¹⁰. Anteriormente, el subtipo BoHV-1.3 se consideraba responsable de la encefalitis en el ganado bovino; sin embargo, en la actualidad se reconoce como una especie diferente de virus, el BoHV-5^{111,112}.

El BoHV-1 es un virus envuelto, esférico; con genoma monopartito y linear de 120 - 180 kpb de longitud (Figura 1.5)¹¹³. El dsADN posee alrededor de 73 ORFs y está dividido en dos regiones únicas: la región única larga (UL) y la región única corta (US), cada una de ellas, su vez, se encuentran flanqueadas por regiones invertidas repetidas (ITRs).

Adicionalmente, las repeticiones externas se conocen como región terminal larga y región terminal corta (TRL y TRS), mientras que las repeticiones internas se denominan región interna larga y región interna corta (IRL e IRS) (Figura 1.4) ¹¹⁴. El genoma del BoHV-1 contiene diez genes que codifican para gPs; en la región UL se encuentran los genes que codifican para gB (UL27), gC (UL44), gH (UL22), gL (UL1), gK (UL53) y gM (UL10); mientras que en la región US están los genes para gG (US4), gD (US6), gI (US6) y gE (US8). Estas proteínas tienen un rol importante en la adsorción viral y algunas tienen propiedades inmunogénicas ¹¹⁵.

Como la mayoría de los alfa herpesvirus, el BoHV-1 tiene una fase de infección lítica y una latente. Durante la primera se produce la transcripción en cascada, es decir, los genes se expresan de forma consecutiva donde los productos generados activan la transcripción de los siguientes; de esta forma los genes son clasificados en: inmediatamente tempranos o alpha (α), tempranos o beta (β) y tardíos o gamma (γ) ¹¹⁶. De forma general, la expresión de los genes α y β generan proteínas reguladoras involucradas en la modulación de la transcripción y de la respuesta inmune celular; y en la replicación del ADN viral, respectivamente. Los genes γ codifican para proteínas estructurales asociadas con el ensamblaje y liberación de las nuevas partículas virales ¹¹⁷. El establecimiento de la latencia se presenta principalmente en las neuronas sensoriales del ganglio trigémino y centros germinales de la amígdala faríngea donde la nucleocápside viral es direccionada por transporte axonal retrógrado hasta el núcleo de la neurona, lo que le confiere capacidad de evasión de la respuesta inmune ^{117,118}. Durante esta fase no hay expresión de genes virales y solo se expresan los transcritos del gen relacionado con latencia (LR) y el ORF-E viral ¹¹⁸.

El gen LR mantiene la latencia a través de la restricción de la transcripción, modulación de la excreción viral, inhibición de la apoptosis y del crecimiento celular ^{116,119}. Específicamente, durante la latencia, el RNA mensajero del LR es el único transcrito que se expresa de manera abundante, relacionándose con un bloqueo del gen bICP0 (gen α), el cual se expresa altamente durante la fase productiva (lítica) y tiene la capacidad de activar transcripcionalmente todos los demás promotores virales. Mencionado bloqueo, se asocia a un silenciamiento del RNA, ya que el gen LR se transcribe en dirección antisentido con respecto al gen bICP0. Por lo tanto, el bloqueo del bICP0 en neuronas sensoriales inhibe la infección productiva. Además, las proteínas producto del gen LR se asocian con

ciclinas dependientes de quinasas y con ciclina A, lo cual inhibe la fase “s” de la célula infectada, aumentando así la supervivencia de dichas células y promoviendo el establecimiento de la latencia. Es así, en términos generales, como se plantea que el RNA y proteínas producto del gen LR actúan conjuntamente para inhibir la expresión de genes del estado lítico y disminuir la muerte neuronal durante el establecimiento y mantenimiento de la latencia. El gen LR del BoHV-1 se asemeja estructural y funcionalmente con los genes asociados a latencia (LATs) del HSV-1, especialmente en su papel en el mantenimiento de la latencia y la reactivación viral. Se reconoce que ambos transcritos son una secuencia antisentido de ICP0 expresados durante la latencia, además, los LATs también tienen una importante función antiapoptótica. La diferencia entre LR y LATs, radica en que este último no codifica para ninguna proteína. En cuanto a la reactivación del estado de latencia, es iniciada por estímulos inmunosupresores que favorecen la expresión de genes virales α con la generación de partículas virales que migran a través del transporte axonal anterógrado, para finalmente generar excreción viral ¹¹⁸.

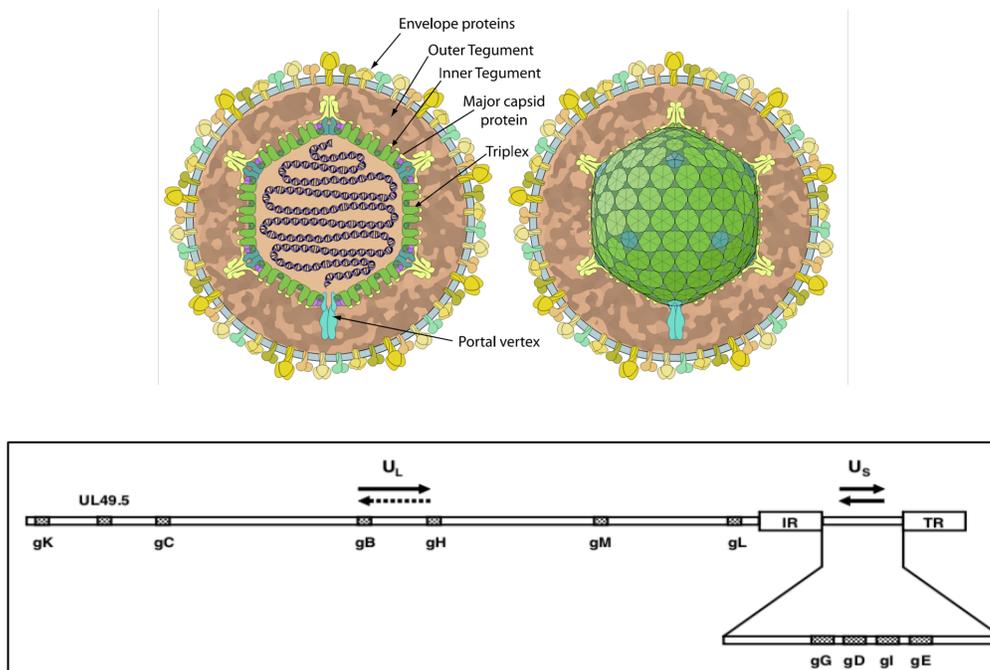


Figura 1-4. Representación esquemática del BoHV-1 y organización genómica. En la parte superior se establece la forma viral y se encuentran señaladas las proteínas estructurales del virión. En la inferior se establece el genoma viral con las dos regiones única larga (UL) y única corta (US), ambas flanqueadas por secuencias repetidas terminales invertidas (ITRS). Tomado de (Swiss Institute of Bioinformatics 2023a; Flint et al. 2020; Thiry et al. 2006b)¹²⁰⁻¹²².

1.5.2 Epidemiología del BoHV-1

El BoHV-1 tiene un impacto negativo significativo en la productividad de la industria ganadera debido a su capacidad para provocar una amplia variedad de manifestaciones clínicas. Principalmente, se le reconoce como el agente causal de enfermedades como la rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR); aborto y diversas enfermedades genitales como la vulvovaginitis y la balanopostitis. Más recientemente, se ha establecido una relación entre este virus y otras condiciones como la infertilidad, conjuntivitis, encefalitis, mastitis, enteritis y dermatitis ^{95,123}. Su alta capacidad de contagio hace que sea un problema de relevancia en la salud animal haciendo que tanto la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) como el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) lo clasifiquen como un patógeno de notificación obligatoria, subrayando su importancia en términos de control y vigilancia veterinaria ^{124,125}.

Las tasas de prevalencia de BoHV-1 varían en todo el mundo, fluctuando entre 20 - 98.8% ¹²⁶, y están influenciadas por el estatus de vacunación y las estrategias de control implementadas. Los valores más altos de seroprevalencia (alrededor del 99%) se han registrado en hatos donde no se realiza vacunación, mientras que los más bajos en animales jóvenes con tasas que oscilan entre 5.3 – 11.8% ^{127,128}. Estas variaciones son el resultado de la diversidad de condiciones y estrategias de manejo presentes en diferentes poblaciones bovinas.

En cuanto a la latencia, en un estudio en Brasil se evaluaron por qPCR ganglios trigéminos bovinos provenientes de plantas de beneficio buscando genes LR, encontrando una prevalencia del 82.8%. Este hallazgo es muy importante porque pone de manifiesto la existencia de un número muy significativo de portadores en estado de latencia ¹²⁹ que deben contribuir al mantenimiento de la infección y que son una limitante mayor para el control de BoHV-1. Sin embargo, a pesar de lo anterior, algunos países (Austria, Dinamarca, Finlandia, Suecia, Suiza y Noruega, y en ciertas regiones de Alemania e Italia) han logrado erradicar el virus empleando estrategias como detección y sacrificio junto con el uso de vacunas marcadoras, así como la aplicación de esquemas de vigilancia epidemiológica ¹²⁶.

1.5.3 Aspectos fisiopatológicos del BoHV-1

La infección por BoHV-1 comienza en las mucosas del tracto respiratorio o reproductivo, lo que conduce a la muerte celular por apoptosis debido a una interrupción de la síntesis de proteínas celulares, proceso relacionado a la gpD, la cual interactúa con el receptor celular nectina 1 (miembro de la familia de proteínas del factor de necrosis tumoral) y a la activación de la caspasa 3 a través de bICP0. Durante este proceso, se produce una alta replicación y eliminación de virus por secreciones oculares, orales, nasales y genitales, que alcanza su pico hacia los 7 - 10 dpi¹³⁰. Paralelo a esto, se incrementa la susceptibilidad a infecciones secundarias por bacterias oportunistas que está relacionada con el efecto de la replicación viral sobre las respuestas inmunes del bovino. Se ha descrito que el virus puede modular disminuyendo la expresión de moléculas del CMH-I junto con el transportador asociado con la presentación de antígeno (TAP) haciendo que la citotoxicidad mediada por células TCD8+ se vea afectada. Adicionalmente, el BoHV-1 puede infectar e inducir la apoptosis de las células TCD4+¹³¹⁻¹³³ lo que provoca una disminución en la eficacia de la respuesta inmunológica adaptativa.

Un factor primordial en la fisiopatología del BoHV-1 es su capacidad de mantenerse en estado de latencia. Como ya se dijo antes, esto se hace principalmente en las neuronas sensoriales del ganglio trigémino; en este entorno, se produce un incremento significativo en la transcripción del gen LR cuyos productos favorecen el establecimiento y mantenimiento de este estado e inhiben la apoptosis de las neuronas. En este estadio, el virus sólo es identificado mediante detección del gen LR o de sus transcritos. La reactivación de la latencia ocurre en situaciones de inmunosupresión (ver sección 1.6) donde se reactiva la expresión génica viral y se reduce la del gen LR llevando a un nuevo ciclo de replicación y excreción viral^{117,134-137}. Además de lo mencionado, se ha comprobado que ciertas cepas respiratorias de BoHV-1 tienen la capacidad de invadir, replicarse y diseminarse dentro del sistema nervioso central, lo que puede llevar a la aparición de encefalitis y casos graves de enfermedad neurológica¹³⁸. Vale la pena destacar que el BoHV-5 también provoca cuadros neurológicos; sin embargo, la distinción clave radica en que el BoHV-1 no induce condiciones pro-apoptóticas en las neuronas, mientras que el BoHV-5 sí lo hace. Esta diferencia parece ser la razón detrás de una mayor incidencia de trastornos neurológicos en infecciones causadas por el último virus.

1.6 Factores de riesgo asociados a enfermedad respiratoria bovina

En el contexto de la salud del hato, es esencial comprender los factores y las diversas circunstancias que pueden propiciar el desarrollo de ERB/ERT. En primer lugar, están aquellos que afectan directa o indirectamente el estado inmunológico del ternero como una deficiente transferencia pasiva de inmunoglobulinas, la incorrecta curación del ombligo y la presencia de situaciones generadoras de estrés ^{140,141}. Dentro de los últimos, cobra relevancia situaciones como el transporte prolongado, el destete, alteraciones nutricionales, enfermedades y tratamientos previos, hacinamiento y condiciones climáticas adversas ^{142,143}. Es importante destacar que ciertas condiciones asociadas con el manejo y el medio ambiente (clima) han sido identificadas como factores de riesgo para la manifestación de ERT; entre las primeras se destacan prácticas como el uso de alimentadores automáticos con chupos compartidos, la adopción de corrales de gran capacidad para albergar a más de 12 terneros, así como la combinación de crías de diversas edades y orígenes en sistemas de hato abierto ¹⁴⁴. En cuanto a las climáticas, es importante tener en cuenta que las estaciones pueden constituir un factor de riesgo dependiendo de la región. Por ejemplo, un estudio en Noruega en 2014 reveló que los brotes respiratorios presentaban una mayor asociación con la estación de invierno, explicada por la estabulación de los terneros³⁴. Contrastando con esto, un estudio longitudinal en California en 2019 identificó que las estaciones de verano y primavera se consideraban como factores de riesgo más prominentes para la presentación de ERT en comparación con el invierno ¹⁵. Finalmente, y por todo lo descrito antes, el reconocimiento y control de los factores de riesgo asociados con la presentación de ERT es de gran relevancia para las producciones bovinas y se requiere implementar un abordaje multifactorial de las enfermedades del sistema respiratorio bovino para mitigar su impacto.

1.7 Panorama Nacional de BRSV, BPIV3, BVDV y BoHV-1

En Colombia, se han realizado investigaciones de tipo serológico buscando anticuerpos contra BRSV y BPIV3, pero hasta el momento no se hay reportes de detección viral. Las seroprevalencias encontradas para estos dos virus presentan una notable variabilidad entre estudios, con valores para BPIV3 que oscilan entre 13.5 - 85.3% y para BRSV entre 31 - 94.3%¹⁴⁵⁻¹⁵¹. Desglosando lo anterior, en el departamento del Cesar se han hecho

tres estudios de seroprevalencia para los dos virus y sobre diversos tipos de producción ganadera encontrándose para BRSV entre 84.9 - 99% y para BPIV3 en 88%¹⁵²⁻¹⁵⁴. Otro estudio se hizo con ganado criollo en el municipio de Cereté (Córdoba) donde se encontraron seroprevalencias 11.2 y 18.5% para BPIV3 y BRSV, respectivamente ¹⁵⁵. Estos resultados concuerdan con los hallazgos de otro estudio efectuado en la misma región (Montería – Córdoba) donde se encontró una seropositividad para BRSV del 13%¹⁵⁶.

Por otro lado, para BVDV, en Colombia se han realizado numerosos trabajos con diferentes tipos de abordajes. En cuanto a seroprevalencias, estas se han ubicado entre 10 - 76,4% en diferentes regiones del país (Tabla 1.1); se ha establecido presencia de los genotipos BVDV-1 y BVDV-2 ^{157,158} y se han detectado animales PI en regiones como la Sabana de Bogotá. En cuanto al BoHV-1, también se cuenta con diversos estudios; desde la perspectiva serológica se han demostrado seroprevalencias entre 11 - 100% (Tabla 1.2). En la década de 1990, se realizaron tres aislamientos del BoHV-1 ¹⁵⁹⁻¹⁶¹ y se pudo establecer que el BoHV-1.2a y BoHV-1.2b circulan en la Sabana de Bogotá, y el BoHV-1.1 en la región de los Llanos Orientales ^{162,163}. Posteriormente, en el 2012 se lograron 18 aislamientos en cinco zonas del país (Córdoba, Llanos, Bogotá, Antioquia y Valle del Cauca) reportando al BoHV-1.1 como el más prevalente, distinguiendo que solo uno de los aislamientos correspondió al BoHV-1.2a ¹⁶⁴.

Tabla 1.1. Seroprevalencias para BVDV reportadas en Colombia

Departamento	Prevalencia %	Referencia
Guaviare	10.9 (nivel individuo) 31.4(nivel hatos)	165
Caquetá y Putumayo	51.9 -58	166
Boyacá	25.83 – 76,4	167, 168, 169, 170
Córdoba	29.4	171
Sabana de Bogotá	24-90	172, 173
Casanare	31.9	174
Cesar	55	154
Cauca	60	175
Nariño	32.77 – 39,59	176, 177
Cundinamarca	5	178
Caquetá	35,5	179
Santander	29,7	180

Tabla 1.2. Seroprevalencias para BoHV-1 reportadas en Colombia

Departamento/ Región	Prevalencia %	Referencia
Antioquia y Valle del Cauca	69,8 - 85,5	181
Meta	84	182
Caquetá y Putumayo	80,3 -100	166
Cauca	30	175
Nariño	11,4 - 17,65	177 , 176
Cesar	68	154
Santander	48,2	180
Boyacá	57,5 - 61,1	183 , 184
Magdalena Medio	53,3	185
Córdoba	74,7	186
Cundinamarca, Tolima, Santander, Caldas	55,5	187

1.8 Diagnóstico de la enfermedad respiratoria bovina

Los brotes de ERB/ERT demandan un enfoque tanto a nivel poblacional como individual para lograr un diagnóstico preciso. En este contexto, su diagnóstico se basa en una evaluación integral de la signología e historia clínica y de los animales afectados. La recopilación minuciosa de datos relevantes para construir una historia clínica exhaustiva, combinada con un examen físico detallado, resulta esencial. A partir de esta base, es posible proponer una serie de posibles diagnósticos diferenciales, diseñar planes terapéuticos adecuados e identificar los factores de riesgo particulares presentes en cada grupo de animales ¹⁴.

El diagnóstico ante y *postmortem* es importante para la correlación de factores relacionados con el hato. Para las muestras *antemortem*, se recomienda tomarlas de animales con signología típica del padecimiento en estadio temprano de la enfermedad y antes de recibir tratamiento farmacológico. Adicionalmente, se deben realizar pruebas para la detección de agentes secundarios en animales con enfermedad crónica o con resistencia a la terapéutica ¹⁸⁹. De esta manera, las muestras *antemortem* sugeridas para el diagnóstico de ERB/ERT son: hisopados nasales, hisopados nasofaríngeos, lavados traqueobronquiales o broncoalveolares, suero sanguíneo, leche y muestras de tejido (biopsia pulmonar); para evaluar estas muestras se realizan pruebas serológicas; PCR / RT-PCR / q-PCR / qRT-PCR; aislamiento viral y citología ^{14,190,191}. El diagnóstico

posmortem se soporta en muestras tomadas de la necropsia sobre las que se pueden realizar las técnicas mencionadas antes junto con la histopatología. La necropsia es un recurso crucial dentro del diagnóstico ya que contribuye con la identificación de patrones distintivos en los tejidos estableciendo la distribución y extensión de las lesiones; esto permite revelar patrones morfológicos específicos a nivel pulmonar que pueden estar directamente relacionados con la causa subyacente de la patología respiratoria ¹⁹². Las muestras *postmortem* más solicitadas para el diagnóstico de ERB/ERT son las de pulmón, tráquea y muesca de la oreja (para detección de BVDV). Sobre tejidos se pueden implementar técnicas de diagnóstico adicionales como inmunohistoquímica, inmunofluorescencia e hibridación *in situ* ^{14,193}. Específicamente con la histopatología, la enfermedad pulmonar bovina se puede clasificar en categorías como bronconeumonía supurativa o fibrinosa, neumonía intersticial, broncointersticial y neumonía embólica¹⁹⁴; igualmente se han establecido clasificaciones de la enfermedad con base en aspectos como la cronología, etiología, anormalidades funcionales y patrones epidemiológicos ¹⁹⁵.

1.9 Prevención de enfermedad respiratoria bovina

La prevención de ERB/ERT de origen viral y/o bacteriano requiere atención en un aspecto crucial: la transferencia pasiva de inmunoglobulinas maternas mediante el consumo de calostro en el neonato bovino. Posteriormente, en edades más avanzadas, la inmunidad activa toma el protagonismo, que, junto con la implementación de estrategias de vacunación, desempeñan un papel esencial en la protección contra los patógenos virales y bacterianos que hacen parte del complejo respiratorio bovino, con el fin de reducir la morbilidad y mortalidad en terneros ¹⁵. Para tal fin, existen una variedad de opciones de inmunógenos como los basados en virus atenuado o vivo modificado (VV) y en virus inactivado o muerto (VM); estas pueden ser administradas vía parenteral o intranasal, y están disponibles en formas monovalentes o polivalentes ^{196,197}.

La influencia positiva de la vacunación en la salud de los terneros ha sido objeto de numerosos estudios. Por ejemplo, un estudio llevado a cabo en California (USA) en 2019 demostró que la inmunización de las madres durante el período preparto, utilizando vacunas VV o VM, tuvo un efecto protector ante la aparición de ERT en las crías ¹⁵. En una línea similar, Chamorro y Palomares (2020) realizaron un análisis exhaustivo de la

evidencia científica publicada acerca del impacto de las vacunas contra ERT ¹⁹⁸; sus hallazgos se pueden resumir en dos aspectos: en primer lugar, las vacunas VV de tipo multivalente, administradas a terneros de ceba después del destete, son eficaces en la reducción de la morbilidad y mortalidad asociadas a ERT; en segundo lugar, la vacunación con VV, ya sea por vía intranasal o parenteral, proporciona protección contra las ERT en hatos lecheros. En el caso del BoHV-1, se han desarrollado vacunas con enfoque DIVA (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*), con el propósito de permitir la distinción, mediante pruebas serológicas complementarias, entre animales que han sido infectados por BoHV-1 y aquellos que han sido vacunados. Este enfoque tiene como objetivo mejorar las estrategias de vigilancia y control del virus ¹⁹⁹.

La implementación de medidas preventivas dirigidas al control de los factores de riesgo asociados a la ERB/ERT desempeña un papel fundamental en la disminución del número de animales afectados, la reducción de la excreción de los patógenos involucrados y la disminución de la morbilidad, especialmente durante momentos de mayor susceptibilidad, como lo son el transporte, la agrupación de terneros en unidades de crianza y el destete. Estas estrategias deben tener como objetivo la prevención de eventos inmunosupresores, que puedan aumentar la predisposición a la ERB en distintos grupos de animales ^{142,200}.

1.10 Bibliografía

1. Zhu YM, Shi HF, Gao YR, et al. Isolation and genetic characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from cattle in China. *Veterinary Microbiology*. 2011;149(3):446-451. doi:10.1016/j.vetmic.2010.11.011
2. Bryson DG, McFerran JB, Ball HJ, Neill SD. Observations on outbreaks of respiratory disease in housed calves--(1) Epidemiological, clinical and microbiological findings. *Vet Rec*. 1978;103(22):485-489. doi:10.1136/vr.103.22.485
3. Ellis JA. Update on viral pathogenesis in BRD. *Anim Health Res Rev*. 2009;10(2):149-153. doi:10.1017/S146625230999020X
4. Hay KE, Ambrose RCK, Morton JM, et al. Effects of exposure to Bovine viral diarrhoea virus 1 on risk of bovine respiratory disease in Australian feedlot cattle. *Preventive Veterinary Medicine*. 2016;126:159-169. doi:10.1016/j.prevetmed.2016.01.025
5. Murray GM, O'Neill RG, Lee AM, et al. The bovine paranasal sinuses: Bacterial

flora, epithelial expression of nitric oxide and potential role in the in-herd persistence of respiratory disease pathogens. Melcher U, ed. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0173845. doi:10.1371/journal.pone.0173845

6. Horwood PF, Mahony TJ. Multiplex real-time RT-PCR detection of three viruses associated with the bovine respiratory disease complex. *Journal of Virological Methods*. 2011;171(2):360-363. doi:10.1016/j.jviromet.2010.11.020

7. Blakebrough-Hall C, McMeniman JP, González LA. An evaluation of the economic effects of bovine respiratory disease on animal performance, carcass traits, and economic outcomes in feedlot cattle defined using four BRD diagnosis methods. *J Anim Sci*. 2020;98(2):skaa005. doi:10.1093/jas/skaa005

8. Gorden PJ, Plummer P. Control, Management, and Prevention of Bovine Respiratory Disease in Dairy Calves and Cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(2):243-259. doi:10.1016/j.cvfa.2010.03.004

9. Bolaños D, Donado P, Oliver Espinosa OJ. The Effect Of Management Factors On Morbidity And Mortality Calves Up To Two Months Of Age In Colombian Dairy Farms At high Altitudes. In: Vol XIX. ; 1996. https://www.researchgate.net/publication/259398322_THE_EFFECT_OF_MANAGEMENT_FACTORS_ON_MORBIDITY_AND_MORTALITY_OF_CALVES_UPTO_TWO_MONTHS_OF_AGE_IN_COLOMBIAN_DAIRY_FARMS_AT_HIGH_ALTITUDE/references

10. Escobar Vargas A, Bonilla Quintero R, Oliver Espinosa O, Donado P. *Factores de Manejo Que Afectan La Morbilidad y Mortalidad En Terneros Durante Sus Primeros Tres Meses de Vida En El Municipio de San Pedro de Los Milagros, Departamento de Antioquia*. 1997. Accessed July 19, 2021. <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=catt01725a&AN=unc.000096783&lang=es&site=eds-live>

11. Mejía Ortega G, Oliver Espinosa OJ. *Estudio Sobre Los Factores Que Afectan La Morbilidad y La Mortalidad de Terneros Durante Sus Primeros Cuatro Meses de Edad En Hatos Selectos de La Sabana de Bogotá*. 2005. Accessed July 19, 2021. <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=catt01725a&AN=unc.000306109&lang=es&site=eds-live>

12. Veit HP, Farrell RL. The anatomy and physiology of the bovine respiratory system relating to pulmonary disease. *Cornell Vet*. 1978;68(4):555-581.

13. Mariassy AT, Plopper CG, Dungworth DL. Characteristics of bovine lung as

observed by scanning electron microscopy. *Anat Rec.* 1975;183(1):13-26. doi:10.1002/ar.1091830103

14. Cooper VL, Brodersen BW. Respiratory Disease Diagnostics of Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 2010;26(2):409-416. doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.009

15. Dubrovsky SA, Van Eenennaam AL, Karle BM, Rossitto PV, Lehenbauer TW, Aly SS. Epidemiology of bovine respiratory disease (BRD) in preweaned calves on California dairies: The BRD 10K study. *Journal of Dairy Science.* 2019;102(8):7306-7319. doi:10.3168/jds.2018-14774

16. Ambrose RK, Blakebrough-Hall C, Gravel JL, Gonzalez LA, Mahony TJ. Characterisation of the Upper Respiratory Tract Virome of Feedlot Cattle and Its Association with Bovine Respiratory Disease. *BIOLOGY;* 2022. doi:10.20944/preprints202212.0438.v1

17. Ambrose RK, Blakebrough-Hall C, Gravel JL, Gonzalez LA, Mahony TJ. Characterisation of the Upper Respiratory Tract Virome of Feedlot Cattle and Its Association with Bovine Respiratory Disease. *Viruses.* 2023;15(2):455. doi:10.3390/v15020455

18. Hause BM, Collin EA, Anderson J, Hesse RA, Anderson G. Bovine Rhinitis Viruses Are Common in U.S. Cattle with Bovine Respiratory Disease. Melcher U, ed. *PLoS ONE.* 2015;10(3):e0121998. doi:10.1371/journal.pone.0121998

19. Mitra N, Cernicchiaro N, Torres S, Li F, Hause BM. Metagenomic characterization of the virome associated with bovine respiratory disease in feedlot cattle identified novel viruses and suggests an etiologic role for influenza D virus. *Journal of General Virology.* 2016;97(8):1771-1784. doi:10.1099/jgv.0.000492

20. Ng TFF, Kondov NO, Deng X, Van Eenennaam A, Neiberghs HL, Delwart E. A Metagenomics and Case-Control Study To Identify Viruses Associated with Bovine Respiratory Disease. Perlman S, ed. *J Virol.* 2015;89(10):5340-5349. doi:10.1128/JVI.00064-15

21. Nissly RH, Zaman N, Ibrahim PAS, et al. Influenza C and D viral load in cattle correlates with bovine respiratory disease (BRD): Emerging role of orthomyxoviruses in the pathogenesis of BRD. *Virology.* 2020;551:10-15. doi:10.1016/j.virol.2020.08.014

22. Panciera RJ, Confer AW. Pathogenesis and Pathology of Bovine Pneumonia. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 2010;26(2):191-214. doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.001

23. Baltimore classification ~ ViralZone. Accessed April 24, 2021. <https://viralzone.expasy.org/254>
24. Taxon Details | ICTV. Accessed February 10, 2023. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101650
25. Guzman E, Taylor G. Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves. *Molecular Immunology*. 2015;66(1):48-56. doi:10.1016/j.molimm.2014.12.004
26. Furze J, Wertz G, Lerch R, Taylor G. Antigenic heterogeneity of the attachment protein of bovine respiratory syncytial virus. *J Gen Virol*. 1994;75 (Pt 2):363-370. doi:10.1099/0022-1317-75-2-363
27. Schrijver RS, Daus F, Kramps JA, et al. Subgrouping of bovine respiratory syncytial virus strains detected in lung tissue. *Vet Microbiol*. 1996;53(3-4):253-260. doi:10.1016/s0378-1135(96)01223-0
28. Larsen LE, Uttenthal A, Arctander P, et al. Serological and genetic characterisation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) indicates that Danish isolates belong to the intermediate subgroup: no evidence of a selective effect on the variability of G protein nucleotide sequence by prior cell culture adaption and passages in cell culture or calves. *Vet Microbiol*. 1998;62(4):265-279. doi:10.1016/s0378-1135(98)00226-0
29. Mallipeddi SK, Samal SK. Sequence variability of the glycoprotein gene of bovine respiratory syncytial virus. *J Gen Virol*. 1993;74 (Pt 9):2001-2004. doi:10.1099/0022-1317-74-9-2001
30. Yaegashi G, Seimiya YM, Seki Y, Tsunemitsu H. Genetic and antigenic analyses of bovine respiratory syncytial virus detected in Japan. *J Vet Med Sci*. 2005;67(2):145-150. doi:10.1292/jvms.67.145
31. Jia S, Yao X, Yang Y, et al. Isolation, identification, and phylogenetic analysis of subgroup III strain of bovine respiratory syncytial virus contributed to outbreak of acute respiratory disease among cattle in Northeast China. *Virulence*. 2021;12(1):404-414. doi:10.1080/21505594.2021.1872178
32. Yazici Z, Ozan E, Tamer C, et al. Circulation of Indigenous Bovine Respiratory Syncytial Virus Strains in Turkish Cattle: The First Isolation and Molecular Characterization. *Animals*. 2020;10(9):1700. doi:10.3390/ani10091700
33. Leme RA, Dall Agnol AM, Balbo LC, et al. Molecular characterization of Brazilian wild-type strains of bovine respiratory syncytial virus reveals genetic diversity and a putative new subgroup of the virus. *Veterinary Quarterly*. 2020;40(1):83-96.

doi:10.1080/01652176.2020.1733704

34. Klem TB, Rimstad E, Stokstad M. Occurrence and phylogenetic analysis of bovine respiratory syncytial virus in outbreaks of respiratory disease in Norway. *BMC Vet Res.* 2014;10(1):15. doi:10.1186/1746-6148-10-15
35. Valarcher JF, Schelcher F, Bourhy H. Evolution of bovine respiratory syncytial virus. *J Virol.* 2000;74(22):10714-10728. doi:10.1128/jvi.74.22.10714-10728.2000
36. Valarcher JF, Taylor G. Bovine respiratory syncytial virus infection. *Vet Res.* 2007;38(2):153-180. doi:10.1051/vetres:2006053
37. Swiss Institute of Bioinformatics. Orthopneumovirus ~ ViralZone. Orthopneumovirus. Published 2023. Accessed August 1, 2023. https://viralzone.expasy.org/90?outline=all_by_species
38. Stott EJ, Thomas LH, Collins AP, et al. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. *J Hyg (Lond).* 1980;85(2):257-270. Accessed April 27, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2133932/>
39. Elvander M. Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus. *Vet Rec.* 1996;138(5):101-105. doi:10.1136/vr.138.5.101
40. Hussain KJ, Al-Farwachi MI, Hassan SD. Seroprevalence and risk factors of bovine respiratory syncytial virus in cattle in the Nineveh Governorate, Iraq. *Vet World.* 2019;12(11):1862-1865. doi:10.14202/vetworld.2019.1862-1865
41. Figueroa-Chávez D, Segura-Correa JC, García-Márquez LJ, Pescador-Rubio A, Valdivia-Flores AG. Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus 3 in dual-purpose farms in Colima, Mexico. *Trop Anim Health Prod.* 2012;44(7):1417-1421. doi:10.1007/s11250-012-0081-9
42. Kimman TG, Zimmer GM, Westenbrink F, Mars J, van Leeuwen E. Epidemiological study of bovine respiratory syncytial virus infections in calves: influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *Vet Rec.* 1988;123(4):104-109. doi:10.1136/vr.123.4.104
43. Costa R, Caffarena D, Mirazo S, Diab S. Neumonía por el virus respiratorio sincitial bovino (BRSV) en bovinos lecheros de Colonia, Uruguay. In: ; 2017. https://www.researchgate.net/publication/317648662_Neumonia_por_el_virus_respiratorio_sincitial_bovino_BRSV_en_bovinos_lecheros_de_Colonia_Uruguay
44. Van der Poel WHM, Kramps JA, Middel WGJ, Van Oirschot JT, Brand A. Dynamics of bovine respiratory syncytial virus infections: a longitudinal epidemiological study in dairy herds. *Archives of Virology.* 1993;133(3):309-321. doi:10.1007/BF01313771

45. Viuff B, Uttenthal A, Tegtmeier C, Alexandersen S. Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by in situ hybridization. *Vet Pathol.* 1996;33(4):383-390. doi:10.1177/030098589603300403
46. Schlender J, Zimmer G, Herrler G, Conzelmann KK. Respiratory Syncytial Virus (RSV) Fusion Protein Subunit F2, Not Attachment Protein G, Determines the Specificity of RSV Infection. *J Virol.* 2003;77(8):4609-4616. doi:10.1128/JVI.77.8.4609-4616.2003
47. Viuff B, Tjørnehøj K, Larsen LE, et al. Replication and Clearance of Respiratory Syncytial Virus. *The American Journal of Pathology.* 2002;161(6):2195-2207. doi:10.1016/S0002-9440(10)64496-3
48. Eckardt-Michel J, Lorek M, Baxmann D, Grunwald T, Keil GM, Zimmer G. The Fusion Protein of Respiratory Syncytial Virus Triggers p53-Dependent Apoptosis. *J Virol.* 2008;82(7):3236-3249. doi:10.1128/JVI.01887-07
49. Horwood PF, Gravel JL, Mahony TJ. Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes. *Journal of General Virology.* 2008;89(7):1643-1648. doi:10.1099/vir.0.2008/000026-0
50. Murphy F, Gibbs E, Horzinek M, Studdert M. *Veterinary Virology: The Third Edition.* Vol 24.; 2000.
51. Alatorre-García TA, Fonseca-Coronado S, González-Candelas F. Homologous recombination as a mechanism of genetic changes in bovine parainfluenza-3 virus. *Veterinary Microbiology.* 2021;261:109185. doi:10.1016/j.vetmic.2021.109185
52. Sakai Y, Suzu S, Shioda T, Shibuta H. Nucleotide sequence of the bovine parainfluenza 3 virus genome: its 3' end and the genes of NP, P, C and M proteins. *Nucleic Acids Res.* 1987;15(7):2927-2944. Accessed August 15, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC340707/>
53. Neill JD, Ridpath JF, Valayudhan BT. Identification and genome characterization of genotype B and genotype C bovine parainfluenza type 3 viruses isolated in the United States. *BMC Vet Res.* 2015;11:112. doi:10.1186/s12917-015-0431-8
54. Sobhy NM, Mor SK, Bastawecy IM, Fakhry HM, Youssef CRB, Goyal SM. Surveillance, isolation and complete genome sequence of bovine parainfluenza virus type 3 in Egyptian cattle. *International Journal of Veterinary Science and Medicine.* 2017;5(1):8-13. doi:10.1016/j.ijvsm.2017.02.004
55. Oem JK, Lee EY, Lee KK, Kim SH, Lee MH, Hyun BH. Molecular characterization of a Korean bovine parainfluenza virus type 3 isolate. *Vet Microbiol.* 2013;162(1):224-227.

doi:10.1016/j.vetmic.2012.10.013

56. Konishi M, Ohkura T, Shimizu M, Akiyama M, Kameyama K ichiro, Takeuchi K. Complete Genome Sequence of the First Isolate of Genotype C Bovine Parainfluenza Virus Type 3 in Japan. *Genome Announc.* 2014;2(6):e01215-14. doi:10.1128/genomeA.01215-14
57. Fulton RW. Viruses in Bovine Respiratory Disease in North America. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2020;36(2):321-332. doi:10.1016/j.cvfa.2020.02.004
58. Maidana SS, Lomonaco PM, Combessies G, et al. Isolation and characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Argentina. *BMC Vet Res.* 2012;8(1):83. doi:10.1186/1746-6148-8-83
59. Swiss Institute of Bioinformatics. Respirovirus ~ ViralZone. Viral Zone. Published 2023. Accessed August 1, 2023. https://viralzone.expasy.org/87?outline=all_by_species
60. Reisinger RC, Heddleston KL, Manthei CA. A myxovirus (SF-4) associated with shipping fever of cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1959;135(3):147-152.
61. Ellis JA. Bovine Parainfluenza-3 Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 2010;26(3):575-593. doi:10.1016/j.cvfa.2010.08.002
62. Kapil S, Basaraba RJ. Infectious Bovine Rhinotracheitis, Parainfluenza-3, and Respiratory Coronavirus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 1997;13(3):455-469. doi:10.1016/S0749-0720(15)30308-X
63. Allen JW, Viel L, Bateman KG, Nagy E, Røsendal S, Shewen PE. Serological titers to bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhoea virus, parainfluenza 3 virus, bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica* in feedlot calves with respiratory disease: associations with bacteriological and pulmonary cytological variables. *Can J Vet Res.* 1992;56(4):281-288.
64. Fulton RW, Purdy CW, Confer AW, et al. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Can J Vet Res.* 2000;64(3):151-159.
65. Durham PJK, Hassard LE. Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial, and bovine viral diarrhoea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta. *Can Vet J.* 1990;31(12):815-820. Accessed June 18, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1480901/>
66. Kestaitiene K, Salomskas A, Jacevičius E, et al. Prevalence of bovine parainfluenza 3 and respiratory syncytial virus in Lithuanian cattle. *Veterinarija ir Zootechnika.* 2010;47:32-36.

67. Lyon M, Leroux C, Greenland T, Chastang J, Patet J, Mornex JF. Presence of a unique parainfluenza virus 3 strain identified by RT-PCR in visna-maedi virus infected sheep. *Veterinary Microbiology*. 1997;57(2-3):95-104. doi:10.1016/S0378-1135(97)00104-1
68. Yener Z, Sağlam YS, Timurkaan N, İlhan F. Immunohistochemical detection of parainfluenza type 3 virus antigens in paraffin sections of pneumonic caprine lungs. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2005;52(6):268-271. doi:10.1111/j.1439-0442.2005.00724.x
69. Ohsawa K, Yamada A, Takeuchi K, Watanabe Y, Miyata H, Sato H. Genetic characterization of parainfluenza virus 3 derived from guinea pigs. *J Vet Med Sci*. 1998;60(8):919-922. doi:10.1292/jvms.60.919
70. Zarnke RL, Erickson GA. Serum antibody prevalence of parainfluenza 3 virus in a free-ranging bison (*Bison bison*) herd from Alaska. *J Wildl Dis*. 1990;26(3):416-419. doi:10.7589/0090-3558-26.3.416
71. Fischer-Tenhagen C, Hamblin C, Quandt S, Frölich K. Serosurvey for selected infectious disease agents in free-ranging black and white rhinoceros in Africa. *J Wildl Dis*. 2000;36(2):316-323. doi:10.7589/0090-3558-36.2.316
72. Thorsen J, Henderson JP. Survey for antibody to infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine virus diarrhea (BVD) and parainfluenza 3 (PI3) in moose sera. *J Wildl Dis*. 1971;7(2):93-95. doi:10.7589/0090-3558-7.2.93
73. Haanes EJ, Guimond P, Wardley R. The bovine parainfluenza virus type-3 (BPIV-3) hemagglutinin/neuraminidase glycoprotein expressed in baculovirus protects calves against experimental BPIV-3 challenge. *Vaccine*. 1997;15(6-7):730-738. doi:10.1016/S0264-410X(96)00231-9
74. Swift BL, Trueblood MS. The present status of the role of the Parainfluenza-3 (PI-3) virus in fetal disease of cattle and sheep. *Theriogenology*. 1974;2(4):101-107. doi:10.1016/0093-691X(74)90004-1
75. Lamb RA, Paterson RG, Jardetzky TS. Paramyxovirus membrane fusion: Lessons from the F and HN atomic structures. *Virology*. 2006;344(1):30-37. doi:10.1016/j.virol.2005.09.007
76. Ellis JA. Bovine Parainfluenza-3 Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(3):575-593. doi:10.1016/j.cvfa.2010.08.002
77. Bryson DG, McNulty MS, Ball HJ, Neill SD, Connor TJ, Cush PF. The experimental

production of pneumonia in calves by intranasal inoculation of parainfluenza type III virus. *Vet Rec.* 1979;105(25-26):566-573.

78. Ogunbiyi PO, Black WD, Eyre P. Parainfluenza-3 virus-induced enhancement of histamine release from calf lung mast cells--effect of levamisole. *J Vet Pharmacol Ther.* 1988;11(4):338-344. doi:10.1111/j.1365-2885.1988.tb00193.x

79. Slauson DO, Lay JC, Castleman WL, Neilsen NR. Alveolar Macrophage Phagocytic Kinetics Following Pulmonary Parainfluenza-3 Virus Infection. *Journal of Leukocyte Biology.* 1987;41(5):412-420. doi:10.1002/jlb.41.5.412

80. Basaraba RJ, Brown PR, Laegreid WW, Silflow RM, Evermann JF, Leid RW. Suppression of lymphocyte proliferation by parainfluenza virus type 3-infected bovine alveolar macrophages. *Immunology.* 1993;79(2):179-188.

81. Nuijten P, Cleton N, van der Loop J, Makoschey B, Pulskens W, Vertenten G. Early Activation of the Innate Immunity and Specific Cellular Immune Pathways after Vaccination with a Live Intranasal Viral Vaccine and Challenge with Bovine Parainfluenza Type 3 Virus. *Vaccines.* 2022;10(1):104. doi:10.3390/vaccines10010104

82. Smith DB, Meyers G, Bukh J, et al. Proposed revision to the taxonomy of the genus Pestivirus, family Flaviviridae. *J Gen Virol.* 2017;98(8):2106-2112. doi:10.1099/jgv.0.000873

83. Rivas J, Hasanaj A, Deblon C, Gisbert P, Garigliany MM. Genetic diversity of Bovine Viral Diarrhea Virus in cattle in France between 2018 and 2020. *Front Vet Sci.* 2022;9:1028866. doi:10.3389/fvets.2022.1028866

84. Deng M, Chen N, Guidarini C, et al. Prevalence and genetic diversity of bovine viral diarrhoea virus in dairy herds of China. *Veterinary Microbiology.* 2020;242:108565. doi:10.1016/j.vetmic.2019.108565

85. Walker PJ, Siddell SG, Lefkowitz EJ, et al. Changes to virus taxonomy and the Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020). *Arch Virol.* 2020;165(11):2737-2748. doi:10.1007/s00705-020-04752-x

86. Decaro N. HoBi-Like Pestivirus and Reproductive Disorders. *Frontiers in Veterinary Science.* 2020;7. Accessed March 12, 2023. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2020.622447>

87. Giammarioli M, Ridpath JF, Rossi E, Bazzucchi M, Casciari C, De Mia GM. Genetic detection and characterization of emerging HoBi-like viruses in archival foetal bovine serum batches. *Biologicals.* 2015;43(4):220-224. doi:10.1016/j.biologicals.2015.05.009

88. Yeşilbaş K, Alpay G, Becher P. Variability and Global Distribution of Subgenotypes

- of Bovine Viral Diarrhea Virus. *Viruses*. 2017;9(6):128. doi:10.3390/v9060128
89. Becher P, Orlich M, König M, Thiel HJ. Nonhomologous RNA Recombination in Bovine Viral Diarrhea Virus: Molecular Characterization of a Variety of Subgenomic RNAs Isolated during an Outbreak of Fatal Mucosal Disease. *J Virol*. 1999;73(7):5646-5653. Accessed August 22, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC112623/>
90. Tautz N, Tews BA, Meyers G. Chapter Two - The Molecular Biology of Pestiviruses. In: Kielian M, Maramorosch K, Mettenleiter TC, eds. *Advances in Virus Research*. Vol 93. Academic Press; 2015:47-160. doi:10.1016/bs.aivir.2015.03.002
91. Lazar C, Zitzmann N, Dwek RA, Branza-Nichita N. The pestivirus Erns glycoprotein interacts with E2 in both infected cells and mature virions. *Virology*. 2003;314(2):696-705. doi:[https://doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1016/S0042-6822\(03\)00510-5](https://doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1016/S0042-6822(03)00510-5)
92. Swiss Institute of Bioinformatics. Pestivirus ~ ViralZone. Viral Zone. Published 2023. Accessed March 13, 2023. <https://viralzone.expasy.org/39>
93. 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*. 2017;220:80-87. doi:10.1016/j.tvjl.2017.01.005
94. Peterhans E, Schweizer M. BVDV: A pestivirus inducing tolerance of the innate immune response. *Biologicals*. 2013;41(1):39-51. doi:10.1016/j.biologicals.2012.07.006
95. Waldner CL, Kennedy RI. Associations between health and productivity in cow-calf beef herds and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus, antibodies against bovine viral diarrhoea virus, or antibodies against infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *Am J Vet Res*. 2008;69(7):916-927. doi:10.2460/ajvr.69.7.916
96. Knapek KJ, Georges HM, Van Campen H, et al. Fetal Lymphoid Organ Immune Responses to Transient and Persistent Infection with Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Viruses*. 2020;12(8):816. doi:10.3390/v12080816
97. Harding MJ, Cao X, Shams H, et al. Role of bovine viral diarrhoea virus biotype in the establishment of fetal infections. *American Journal of Veterinary Research*. 2002;63(10):1455-1463. doi:10.2460/ajvr.2002.63.1455
98. Ridpath J. The Contribution of Infections with Bovine Viral Diarrhoea Viruses to Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(2):335-348. doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.003
99. Fulton RW, Hessman BE, Ridpath JF, et al. Multiple diagnostic tests to identify cattle

- with Bovine viral diarrhea virus and duration of positive test results in persistently infected cattle. *Can J Vet Res.* 2009;73(2):117-124. Accessed July 2, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2666316/>
100. Chase CCL. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. *Biologicals.* 2013;41(1):52-60. doi:10.1016/j.biologicals.2012.09.009
101. Ran X, Chen X, Ma L, et al. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in dairy cattle in China. *Acta Tropica.* 2019;190:296-303. doi:10.1016/j.actatropica.2018.08.031
102. Martin SW, Bohac JG. The association between serological titers in infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine virus diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, respiratory syncytial virus and treatment for respiratory disease in Ontario feedlot calves. *Can J Vet Res.* 1986;50(3):351-358. Accessed July 2, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1255225/>
103. O'Connor A, Martin SW, Nagy E, Menzies P, Harland R. The relationship between the occurrence of undifferentiated bovine respiratory disease and titer changes to bovine coronavirus and bovine viral diarrhea virus in 3 Ontario feedlots. *Can J Vet Res.* 2001;65(3):137-142. Accessed July 2, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189666/>
104. Deng M, Ji S, Fei W, et al. Prevalence Study and Genetic Typing of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Four Bovine Species in China. *PLoS One.* 2015;10(4):e0121718. doi:10.1371/journal.pone.0121718
105. Casaubon J, Vogt HR, Stalder H, Hug C, Ryser-Degiorgis MP. Bovine viral diarrhea virus in free-ranging wild ruminants in Switzerland: low prevalence of infection despite regular interactions with domestic livestock. *BMC Vet Res.* 2012;8:204. doi:10.1186/1746-6148-8-204
106. Peterhans E, Jungi TW, Schweizer M. BVDV and innate immunity. *Biologicals.* 2003;31(2):107-112. doi:10.1016/S1045-1056(03)00024-1
107. Rajput MKS, Darweesh MF, Braun LJ, Mansour SMG, Chase CCL. Comparative humoral immune response against cytopathic or non-cytopathic bovine viral diarrhea virus infection. *Research in Veterinary Science.* 2020;129:109-116. doi:10.1016/j.rvsc.2020.01.012
108. Fulton RW, d'Offay JM, Eberle R, et al. Bovine herpesvirus-1: Evaluation of genetic diversity of subtypes derived from field strains of varied clinical syndromes and their relationship to vaccine strains. *Vaccine.* 2015;33(4):549-558.

doi:10.1016/j.vaccine.2014.11.033

109. Metzler AE, Schudel AA, Engels M. Bovine herpesvirus 1: Molecular and antigenic characteristics of variant viruses isolated from calves with neurological disease. *Archives of Virology*. 1986;87(3-4):205-217. doi:10.1007/BF01315300

110. Metzler AE, Matile H, Gassmann U, Engels M, Wyler R. European isolates of bovine herpesvirus 1: A comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Archives of Virology*. 1985;85(1-2):57-69. doi:10.1007/BF01317006

111. Biswas S, Bandyopadhyay S, Dimri U, Patra PH. Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis, and prophylaxis. *Vet Q*. 2013;33(2):68-81. doi:10.1080/01652176.2013.799301

112. Muylkens B, Thiry J, Kirten P, Schynts F, Thiry E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Res*. 2007;38(2):181-209. doi:10.1051/vetres:2006059

113. Alphaherpesvirinae ~ ViralZone. Accessed February 20, 2023. <https://viralzone.expasy.org/15>

114. Guo W, Xie J, Liu J, Chen H, Jung YS. The full-genome characterization and phylogenetic analysis of bovine herpesvirus type 1.2 isolated in China. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13. Accessed February 11, 2023. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.1033008>

115. Thiry J, Keuser V, Muylkens B, et al. Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Vet Res*. 2006;37(2):169-190. doi:10.1051/vetres:2005052

116. Silvestro C, Bratanich A. The latency related gene of bovine herpesvirus types 1 and 5 and its modulation of cellular processes. *Arch Virol*. 2016;161(12):3299-3308. doi:10.1007/s00705-016-3067-5

117. Jones C, Geiser V, Henderson G, et al. Functional analysis of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) genes expressed during latency. *Veterinary Microbiology*. 2006;113(3):199-210. doi:10.1016/j.vetmic.2005.11.009

118. Ruiz J, Jaime J, Vera V. Latencia del herpesvirus bovino-1: el papel de los transcritos relacionados con latencia (RL). *Acta Biológica Colombiana*. 2008;13(1):3-22. Accessed July 14, 2023. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-548X2008000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=es

119. Martínez Cuesta L, Nieto Farías MV, Romeo F, Verna A, Pérez S. Expression of apoptosis-related genes at different stages of BoHV-1 and 5 infection of bovine neural tissue. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2022;90-91:101906. doi:10.1016/j.cimid.2022.101906
120. Swiss Institute of Bioinformatics. Alphaherpesvirinae ~ ViralZone. Published 2023. Accessed February 20, 2023. <https://viralzone.expasy.org/15>
121. Flint J, Racaniello VR, Rall GF, Hatzioannou T, Skalka AM. *Principles of Virology, Volume 1: Molecular Biology*. Vol 1. John Wiley & Sons; 2020.
122. Thiry J, Keuser V, Muylkens B, et al. Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Vet Res*. 2006;37(2):169-190. doi:10.1051/vetres:2005052
123. Straub OC. Advances in BHV1 (IBR) research. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2001;108(10):419-422.
124. OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Capítulo 11.8. Rinotraqueítis Infecciosa Bovina/ Vulvovaginitis Pustular Infecciosa. OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal. Published 2022. Accessed August 1, 2023. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/>
125. Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. Resolución 3714 de 2015 "Por la cual se establecen las enfermedades de declaración obligatoria en Colombia". Published 2015. Accessed August 1, 2023. <https://www.ica.gov.co/normatividad/normas-ica/resoluciones-oficinas-nacionales/2015/2015r3714>
126. Raaperi K, Orro T, Viltrop A. Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *The Veterinary Journal*. 2014;201(3):249-256. doi:10.1016/j.tvjl.2014.05.040
127. Sayers RG, Byrne N, O'Doherty E, Arkins S. Prevalence of exposure to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) in Irish dairy herds. *Research in Veterinary Science*. 2015;100:21-30. doi:10.1016/j.rvsc.2015.02.011
128. Romero Salas D, Ahuja Aguirre C, Montiel Palacios F, García Vázquez Z, Cruz Romero A, Aguilar Domínguez M. Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in southern Veracruz, Mexico. <http://www.academicjournals.org/AJMR>. 2013;7(17):1716-1722. Accessed July 1, 2023. <https://click.endnote.com/viewer?doi=10.5897%2Fajmr12.1334&token=WzMyMzg5MjEsljEwLjU4OTcvYWptcjEyLjEzMzQiXQ.MLxGBT-WaLTri33WzaQk0jVvjM4>
129. Campos FS, Franco AC, Hübner SO, et al. High prevalence of co-infections with

bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Veterinary Microbiology*. 2009;139(1):67-73. doi:10.1016/j.vetmic.2009.05.015

130. Jones C, Chowdhury S. A review of the biology of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1), its role as a cofactor in the bovine respiratory disease complex and development of improved vaccines. *Animal Health Research Reviews*. Published online 2007. Accessed February 10, 2023. [https://www.semanticscholar.org/paper/A-review-of-the-biology-of-bovine-herpesvirus-type-Jones-](https://www.semanticscholar.org/paper/A-review-of-the-biology-of-bovine-herpesvirus-type-Jones-Chowdhury/ba53666689e945f2f1ae4bcbcd95a3fa4d498050)

[Chowdhury/ba53666689e945f2f1ae4bcbcd95a3fa4d498050](https://www.semanticscholar.org/paper/A-review-of-the-biology-of-bovine-herpesvirus-type-Jones-Chowdhury/ba53666689e945f2f1ae4bcbcd95a3fa4d498050)

131. Hinkley S, Hill AB, Srikumaran S. Bovine herpesvirus-1 infection affects the peptide transport activity in bovine cells. *Virus Res*. 1998;53(1):91-96. doi:10.1016/s0168-1702(97)00128-7

132. Winkler MT, Doster A, Jones C. Bovine herpesvirus 1 can infect CD4(+) T lymphocytes and induce programmed cell death during acute infection of cattle. *J Virol*. 1999;73(10):8657-8668. doi:10.1128/JVI.73.10.8657-8668.1999

133. Hariharan MJ, Nataraj C, Srikumaran S. Down regulation of murine MHC class I expression by bovine herpesvirus 1. *Viral Immunol*. 1993;6(4):273-284. doi:10.1089/vim.1993.6.273

134. Jones C. Herpes Simplex Virus Type 1 and Bovine Herpesvirus 1 Latency. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(1):79-95. doi:10.1128/CMR.16.1.79-95.2003

135. Schang LM, Jones C. Analysis of bovine herpesvirus 1 transcripts during a primary infection of trigeminal ganglia of cattle. *J Virol*. 1997;71(9):6786-6795. doi:10.1128/JVI.71.9.6786-6795.1997

136. Inman M, Lovato L, Doster A, Jones C. A mutation in the latency-related gene of bovine herpesvirus 1 disrupts the latency reactivation cycle in calves. *J Virol*. 2002;76(13):6771-6779. doi:10.1128/jvi.76.13.6771-6779.2002

137. Ciacci-Zanella J, Stone M, Henderson G, Jones C. The Latency-Related Gene of Bovine Herpesvirus 1 Inhibits Programmed Cell Death. *J Virol*. 1999;73(12):9734-9740. Accessed July 7, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC113020/>

138. Silva MS, Brum MCS, Loreto ELS, Weiblen R, Flores EF. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. *Virus Research*. 2007;129(2):191-199. doi:10.1016/j.virusres.2007.07.014

139. Marin MS, Leunda MR, Verna AE, Morán PE, Odeón AC, Pérez SE. Distribution of

- bovine herpesvirus type 1 in the nervous system of experimentally infected calves. *The Veterinary Journal*. 2016;209:82-86. doi:10.1016/j.tvjl.2015.10.034
140. Donovan GA, Dohoo IR, Montgomery DM, Bennett FL. Calf and disease factors affecting growth in female holstein calves in Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*. 1998;33(1-4):1-10. doi:10.1016/S0167-5877(97)00059-7
141. Virtala AM, Gröhn YT, Mechor GD, Erb HN. The effect of maternally derived immunoglobulin G on the risk of respiratory disease in heifers during the first 3 months of life. *Prev Vet Med*. 1999;39(1):25-37. doi:10.1016/s0167-5877(98)00140-8
142. Windeyer MC, Leslie KE, Godden SM, Hodgins DC, Lissemore KD, LeBlanc SJ. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014;113(2):231-240. doi:10.1016/j.prevetmed.2013.10.019
143. Maier GU, Love WJ, Karle BM, et al. Management factors associated with bovine respiratory disease in preweaned calves on California dairies: The BRD 100 study. *Journal of Dairy Science*. 2019;102(8):7288-7305. doi:10.3168/jds.2018-14773
144. Oliveira VHS, Dall Agnol AM, Fritzen JTT, Lorenzetti E, Alfieri AA, Alfieri AF. Microbial diversity involved in the etiology of a bovine respiratory disease outbreak in a dairy calf rearing unit. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2020;71:101494. doi:10.1016/j.cimid.2020.101494
145. Bayona YP, Chaux LF, Torres ID. Perfil Epidemiológico de Enfermedades Causadas por los Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV) y Parainfluenza Bovina (PI 3), en Ganadería de Dos Municipios de Sucre, Colombia. Published online June 21, 2022. Accessed July 4, 2023. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/0b6c3379-f98d-475a-9f51-404917e4f308>
146. Pérez J, Pinheiro D, Hanssen H. Estudio serológico de la infección por virus de parainfluenza en bovinos de Antioquia, Colombia, 1976.
147. Betancur-Hurtado C, Castañeda-Ternera J, González-Tous M. Inmunopatología del complejo respiratorio bovino en terneros neonatos en Montería-Colombia. *Revista Científica*. 2017;XXVII(2):95-102. Accessed July 20, 2021. <https://www.redalyc.org/journal/959/95951040005/html/>
148. Fernández MA, Bulla DM, Díaz AM, Pulido MO. Seroprevalencia y factores de riesgo del virus de parainfluenza 3 (VPI-3) en bovinos de Colombia. *Revista veterinaria*. 2020;31(2):155-159. doi:10.30972/vet.3124737
149. Betancur Hurtado C, Orrego Uribe A, González Tous M. Seroepidemiological study

of parainfluenza 3 virus in bovines with reproductive failure, from Monteria-Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*. 2010;(20):63-70. Accessed July 4, 2023. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-93542010000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

[93542010000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-93542010000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

150. Ballesteros González AC, Briñez Castiblanco KG. Prevalencia y factores de riesgo asociados a complejo respiratorio en bovinos de Villavicencio, Colombia. Published online 2022. Accessed July 4, 2023. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/4916>

151. Rojas JM, Pinilla JC. Seroprevalencia del virus respiratorio sincitial bovino (VRSB) en bovinos ubicados en el municipio Valledupar, Cesar. Resultados preliminares. *Rev Fac Cienc Salud UDES*. 2017;4(2.S1):15. doi:10.20320/rfcsudes.v4i2.s1.r02

152. Rojas J, Pinilla J. Seroprevalencia del virus respiratorio sincitial bovino (VRSB) en bovinos ubicados en el municipio Valledupar, Cesar. Resultados preliminares | Rojas | *Revista Facultad de Ciencias de la Salud UDES*. Published 2017. Accessed April 29, 2021. <https://www.journalhealthsciences.com/index.php/UDES/article/view/175/pdf>

153. Dueñez Ruiz DA. *Seroprevalencia y Factores de Riesgo Asociados a la Infección por el Virus Respiratorio Sincitial Bovino (VRSB) en Tres Municipios del Departamento Cesar, Colombia*. Universidad De Santander, Facultad De Ciencias Exactas, Naturales Y Agropecuarias; 2020.

<https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/5129/1/Seroprevalencia%20y%20factores%20de%20riesgo%20asociados%20a%20la%20infecci%C3%B3n%20por%20el%20virus%20respiratorio%20sincitial%20bovino%20%28VRSB%29%20en%20tres%20municipios%20de%20depart.pdf>

154. Gálvis García T, Bautista Amorocho H, Vázquez MC. Prevalencia de anticuerpos contra diarrea viral bovina, virus sincitial bovino, rinotraqueitis infecciosa bovina, leucosis bovina, *Neospora caninum*, parainfluenza bovina (PI3) y paratuberculosis, en ganadería bovina de fincas ubicadas en Aguachica y Rio de Oro, Cesar. *Revista Facultad de Ciencias de la Salud UDES*. 2016;3(1. S1):36. doi:10.20320/rfcsudes.v3i1.s1.p022

155. Doria-Ramos M, Oviedo-Socarras T, Oviedo-Pastrana M, et al. Seroprevalencia de agentes virales del Complejo Respiratorio Bovino en razas criollas del Centro de Investigación Turipaná de AGROSAVIA. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 2020;11(3):771-782. doi:10.22319/rmcp.v11i3.5154

156. Betancur H C, Rodas G J, González T M. Estudio seroepidemiológico del virus respiratorio sincitial bovino en el municipio de Montería, Colombia. *Rev MVZ Córdoba*.

Published online September 6, 2011:2778-2784. doi:10.21897/rmvz.278

157. Vargas Bermúdez DS. Construcción de un adenovector que exprese proteínas inmunogénicas del virus de la diarrea viral bovina (BVDV). Published online 2010. Accessed July 2, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/70485>

158. Villamil VV, Ramírez GC, Vera VJ, Jaime JA. Primera evidencia del Virus de Diarrea Viral Bovina (VDVB) genotipo 2 en Colombia. *Rev Med Vet Zoot.* 2018;65(1). doi:10.15446/rfmvz.v65n1.72020

159. Góngora A, Villamil LC, Vera VJ, Ramírez GC, Parra JL. 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. Accessed July 3, 2023. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/article/view/47566>

160. Navarrete O. J, Vera M. VJ, Ramírez G, Villamil LC. Anticuerpos monoclonales contra proteínas de la nucleocápside del virus ibr y su evaluación por elisa. Published online 2002. Accessed July 3, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/40933>

161. Vera A V, Betancur H C. Aislamiento del virus herpes bovino tipo 1 en bovinos del departamento de Córdoba - Colombia. *Revista MVZ Córdoba.* 2008;13(3):1495-1503. Accessed July 3, 2023. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-02682008000300009&lng=en&nrm=iso&tlng=es

162. Piedrahita D, Ramírez G, Vera V. Detección y caracterización por métodos moleculares de aislamientos colombianos de herpesvirus bovino tipo 1. Published online 2005. Accessed July 4, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/31365>

163. Zapata JC, Ossa JE, Bedoya G, Mv FNZ. Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB). Caracterización Molecular de una cepa Colombiana de Herpesvirus Bovino tipo. 2002;15.

164. Ruiz Sáenz J. Aislamiento y caracterización de cepas nativas del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) para la generación de un biológico vacunal inactivado y/o recombinante. Published online 2012. Accessed July 3, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11563>

165. Zambrano Trujillo LA. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la exposición al Virus de la Diarrea Viral Bovina en ganaderías doble propósito en Calamar (Guaviare, Colombia). Published online March 23, 2021. Accessed July 2, 2023. <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/5215>

166. 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*. 2013;35(3):174-181. Accessed July 2, 2023. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2013000300005&lng=es&nrm=iso&tlng=es

167. Moreno Figueredo G, Benavides Ortiz E, Guerrero B, Cruz Carrillo 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*. 2017;28(4):1002-1009. doi:10.15381/rivep.v28i4.12850

168. González-Bautista ED, Bulla-Castañeda DM, Díaz-Anaya AM, et al. Determinación de anticuerpos antidiarrea viral bovina (DVB) en vacas lecheras de un municipio de Boyacá (Colombia). *Revista de Medicina Veterinaria*. 2021;(43):117-126. doi:10.19052/mv.vol1.iss43.11

169. Carrillo AC, Figueredo GM, Medrano KG, Contreras JAM. Determinación de la presencia de anticuerpos contra Neospora caninum y el Virus de Diarrea Viral Bovina y su relación con el desempeño reproductivo de hembras bovinas del municipio de Oicatá (Boyacá). *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2014;9(2):238-247. Accessed July 2, 2023. <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3180>

170. Guerrero LFN, Colorado NR, Araque JM, Guerrero LFN, Colorado NR, Araque JM. Prevalencia de diarrea viral bovina, neosporosis bovina, leucosis bovina enzoótica y paratuberculosis bovina en vacas de doble propósito en condiciones del trópico colombiano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2022;33(2). doi:10.15381/rivep.v33i2.20694

171. Betancur H, Gogorza LM, Martínez FG. Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en Montería (Córdoba, Colombia). *Seroepidemiology of the bovine viral diarrhea in the municipality of Montería-Córdoba-Colombia*. 2007;27, no. 2. Accessed July 2, 2023. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/11204>

172. Parra L, Vera A V, Villamil LC, Ramirez G. Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina en explotaciones lecheras de la Sabana de Bogotá. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 1994;42(1):29-44. Accessed July 2, 2023. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/article/view/48064>

173. Buitrago Horta ER. Determinación de la prevalencia de animales persistentemente infectados con el virus de diarrea viral bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la

exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá. Published online 2015. Accessed July 3, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55348>

174. Cifuentes Sánchez LY, Hurtado Ibáñez LA. Factores asociados a la presentación de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos bovinos del municipio de Tauramena, Casanare 2015. Published online November 2019. Accessed July 2, 2023. <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/handle/unicolmayor/271>

175. Rivera DC, Rincón JC, Echeverry JC. Prevalencia de algunas enfermedades infecciosas en bovinos de resguardos indígenas del Cauca, Colombia, 2017. *Rev UDCA Act & Div Cient.* 2018;21(2). doi:10.31910/rudca.v21.n2.2018.983

176. Puertas Revelo YA. Análisis de la seroprevalencia del virus de diarrea viral bovina y rinotraqueitis infecciosa bovina del municipio de Guachucal (Nariño) muestreados dentro del “proyecto piloto de excelencia sanitaria en ganadería de leche” realizado por vecol entre junio-agosto del año 2014. Published 2017. Accessed July 2, 2023. <https://biblioteca.udenar.edu.co/atenea/91525.pdf>

177. Cedeño Quevedo D, Benavides Benavides B, Cárdenas G, Herrera C. Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVBV in dairy herds in Pasto, Colombia, in 2011. *Revista Lasallista de Investigación.* 2011;8(2):61-68. Accessed July 3, 2023. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1794-44492011000200007&Ing=en&nrm=iso&tIng=es

178. Navas Suárez P. Determinación de anticuerpos anti-diarrea viral bovina DVB mediante Elisa competitivo en una población cautiva de venados cola blanca *Odocoileus virginianus* en Cundinamarca, Colombia. *Medicina Veterinaria.* Published online January 1, 2013. https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/18

179. Motta Giraldo JL, Waltero García I, Abeledo MA, Fernández O. Estudio retrospectivo de agentes infecciosos que afectan la reproducción bovina en el departamento del Caquetá, Colombia. *Revista de Salud Animal.* 2012;34(3):159-164. Accessed July 2, 2023. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2012000300004&Ing=es&nrm=iso&tIng=en

180. Vargas-Niño A, R JV, Parra-Martin JA, R MCV, O AG, Mogollón-Waltero EM. Estado serológico para IBR, DVB, Leucosis, *Leptospira* y *Neospora caninum* en hembras bovinas del Departamento de Santander, Colombia. *Revista MVZ Córdoba.* 2018;23(2):6671-6680. doi:10.21897/rmvz.1341

181. Ruiz-Sáenz J, Jaime J, Vera VJ. Prevalencia serológica y aislamiento del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) en hatos ganaderos de Antioquia y del Valle del Cauca.

Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2010;23(3):299-307. Accessed July 3, 2023.
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902010000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

[06902010000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902010000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

182. Vargas D, Bohórquez A, Parra J, Jaime J, Góngora A. Evaluacion serologica de herpesvirus bovino 1 y 5 en sistemas de cria en la Altillanura Colombiana. *Revista MVZ (Medicina Veterinaria y Zootecnia)*. 2016;21(2):5381-5390.

183. Lancheros-Buitrago DJ, Bulla-Castañeda DM, Pulido-Medellin MO, López Buitrago HA, Díaz-Anaya AM, Garcia-Corredor DJ. Serodiagnosis and Risk Factors Associated with Infectious Agents of Reproductive Diseases in Bovines of Chiquinquirá, District of Boyacá (Colombia). *Veterinary Medicine International*. 2022;2022:e7436651. doi:10.1155/2022/7436651

184. Ortiz-González AD, Buitrago HAL, Bulla-Castañeda DM, et al. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 in dairy herds of Colombia. *Vet World*. 2022;15(6):1550-1556. doi:10.14202/vetworld.2022.1550-1556

185. Flórez LMM, Echeverry OAC, Ordóñez FJP. Estudio seroepidemiológico del Herpesvirus Bovino 1 (BoHV-1) en ganado destinado al sacrificio en la región del Magdalena Medio colombiano. *Revista Veterinaria y Zootecnia (On Line)*. 2011;5(2):82-87.

186. Betancur H C, González T M, Reza G. L. Seroepidemiología de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el municipio de Montería, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. 2006;11(2):830-836. Accessed July 3, 2023.
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-02682006000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
[02682006000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-02682006000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

187. Piedrahita LE, Montoya LM, Pedraza FJ. Herpes Virus Bovino tipo 1 (BoHV-1) como posible causa de encefalitis en bovinos de la región del Magdalena Medio Colombiano: Estudio serológico y análisis epidemiológico. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2010;23(2):191-198. Accessed July 3, 2023.
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902010000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
[06902010000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902010000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

[06902010000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902010000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

188. Aytogu G, Toker EB, Kadiroglu B, Ates O, Goktuna PT. First Isolation And Characterization Of Bovine Herpesvirus 1.2b (BoHV-1.2b) Strain From Upper Respiratory Tract Of Cattle In Türkiye. Published online 2022.

189. Cooper VL, Brodersen BW. Respiratory Disease Diagnostics of Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(2):409-416.

doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.009

190. Angen Ø, Thomsen J, Larsen LE, et al. Respiratory disease in calves: Microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Veterinary Microbiology*. 2009;137(1-2):165-171.

doi:10.1016/j.vetmic.2008.12.024

191. Godinho KS, Sarasola P, Renoult E, et al. Use of deep nasopharyngeal swabs as a predictive diagnostic method for natural respiratory infections in calves. *Vet Rec*. 2007;160(1):22-25. doi:10.1136/vr.160.1.22

192. Caswell JL, Hewson J, Slavić Đ, DeLay J, Bateman K. Laboratory and Postmortem Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2012;28(3):419-441. doi:10.1016/j.cvfa.2012.07.004

193. Powell JG, Richeson JT, Kegley EB, et al. Immunologic, health, and growth responses of beef calves administered pentavalent modified-live virus respiratory vaccine in the presence of maternal antibody versus a traditional vaccination regimen | The Bovine Practitioner. Published online December 18, 2019. Accessed July 5, 2023. <https://bovine-ojs-tamu.tdl.org/bovine/article/view/2807>

194. Zhang M, Hill JE, Godson DL, Ngeleka M, Fernando C, Huang Y. The pulmonary virome, bacteriological and histopathological findings in bovine respiratory disease from western Canada. *Transbound Emerg Dis*. 2020;67(2):924-934. doi:10.1111/tbed.13419

195. Caswell JL, Williams KJ. Respiratory system. In: *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 2*. Elsevier; 2016:465-591.e4. doi:10.1016/B978-0-7020-5318-4.00011-5

196. Theurer ME, Larson RL, White BJ. Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of commercially available vaccines against bovine herpesvirus, bovine viral diarrhea virus, bovine respiratory syncytial virus, and parainfluenza type 3 virus for mitigation of bovine respiratory disease complex in cattle. *J Am Vet Med Assoc*. 2015;246(1):126-142. doi:10.2460/javma.246.1.126

197. Kleiboeker SB, Lee SM, Jones CA, Estes DM. Evaluation of shedding of bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhea virus 1, and bovine viral diarrhea virus 2 after vaccination of calves with a multivalent modified-live virus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2003;222(10):1399-1403. doi:10.2460/javma.2003.222.1399

198. Chamorro MF, Palomares RA. Bovine Respiratory Disease Vaccination Against Viral Pathogens. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*.

2020;36(2):461-472. doi:10.1016/j.cvfa.2020.03.006

199. Van Oirschot JT. Diva vaccines that reduce virus transmission. *Journal of Biotechnology*. 1999;73(2-3):195-205. doi:10.1016/S0168-1656(99)00121-2

200. Svensson C, Hultgren J, Oltenacu PA. Morbidity in 3–7-month-old dairy calves in south-western Sweden, and risk factors for diarrhoea and respiratory disease. *Preventive Veterinary Medicine*. 2006;74(2):162-179. doi:10.1016/j.prevetmed.2005.11.008

2. Detección de virus asociados con enfermedad respiratoria en terneros provenientes de hatos lecheros

2.1 Introducción

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) y la enfermedad respiratoria de los terneros (ERT) se configuran como síndromes multifactoriales de gran magnitud y son considerados como los principales desafíos de salud para la industria ganadera, esto por el impacto en la productividad. Entre sus consecuencias, se destacan el desarrollo de patologías como la neumonía crónica y el efecto sobre parámetros productivos como retraso en el crecimiento, reducción de índices reproductivos y de producción lechera, e incremento en tasas de descarte; además de los costos directos por los programas de prevención y tratamientos¹⁻⁴. Desde la patogénesis, la ERB/ERT resulta por la interacción consecutiva entre agentes virales y bacterias oportunistas que, junto con diversos factores de riesgo, afectan el sistema respiratorio llevando a la propagación de la enfermedad tanto en individuos jóvenes como en adultos⁵⁻¹¹. Epidemiológicamente, se caracteriza por una significativa morbi-mortalidad, afectando especialmente a terneros entre la cuarta y sexta semana de vida. Durante los brotes respiratorios, se han reportado seroprevalencias de hasta el 100%, asociadas a mayor severidad clínica, llegando a tasas de mortalidad de 2.2 - 7.8% en terneros menores de seis meses de edad^{12,13}.

Desde la etiología, históricamente se han asociado cuatro agentes virales (denominados primarios) con la ERB/ERT: el herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1), el virus de la diarrea viral bovina (BVDV-1), el virus de la parainfluenza bovina (BPIV3) (ahora llamado respirovirus bovino) y el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV). Su contribución a la causalidad de la ERB/ERT ha sido validada mediante enfoques moleculares, serológicos, epidemiológicos y bioinformáticos, ya sea como agentes patógenos directos o como desencadenantes de patogenicidad. Como consecuencia de la infección o coinfección con

estos agentes primarios se produce la invasión por bacterias oportunistas, siendo las más frecuentes *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis*^{11,17}.

Algunas investigaciones han contribuido a la comprensión de la dinámica de la ERB/ERT en el contexto colombiano, estas comenzaron desde la década de 1990. En 1996 se realizó un estudio en el departamento de Nariño en terneros menores de tres meses de edad donde se identificó a la neumonía como la principal entidad clínica (36.3%) y esta fue la segunda causa de mortalidad (20%) en esta población ¹⁴. En 1997, se reportó que la morbilidad por esta enfermedad alcanzó un 11.3% en terneros del departamento de Antioquia ¹⁵. Posteriormente, un estudio prospectivo de cohortes llevado a cabo en 2005 en fincas lecheras de la Sabana de Bogotá, reveló que la ERB exhibió una tasa de morbilidad del 2.8% y se asoció con el 6% de la mortalidad ¹⁶. En los últimos años en Colombia no se han reportado trabajos en este tema y existe un vacío en cuanto a información actualizada junto con la adición de nuevos abordajes (técnicas moleculares y bioinformáticas) para establecer cuáles son los agentes virales asociados con el tracto respiratorio bovino.

En este escenario, el propósito fundamental de esta investigación fue detectar y analizar los cuatro virus respiratorios primarios (BRSV, BVPI3, BVDV y BoHV-1) en muestras recolectadas de terneros menores a seis meses de edad, provenientes de hatos lecheros y obtenidas en planta de beneficio en la Sabana de Bogotá. Se plantearon como objetivos la detección de los virus a través de pruebas moleculares, buscar posibles correlaciones entre la positividad viral con factores como el origen geográfico de los terneros y su ubicación entre tracto respiratorio alto y bajo. Además, se realizó un análisis histopatológico para complementar la comprensión de los hallazgos.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Población objetivo y criterios de inclusión

Terneros menores de seis meses de edad provenientes de hatos lecheros ingresados a plantas de beneficio de la Sabana de Bogotá.

2.2.2 Toma y conservación de muestras post-mortem

De terneros llevados a planta de beneficio se tomaron muestras de epitelio del meato nasal medio y de tejido pulmonar a nivel del lóbulo craneal accesorio. Para el primer tipo de muestra, al momento del sacrificio se recuperó la cabeza del ternero y se hizo raspado intranasal con una cureta quirúrgica previamente desinfectada. El material obtenido se recolectó individualmente en tubos Falcon® de 15 mL que contenía 2 mL de medio de transporte suplementado con antibiótico al 2%. Para el caso de la muestra de pulmón, luego del proceso de evisceración en la línea de faenado, se obtuvieron los pulmones correspondientes al mismo ternero muestreado a nivel nasal; de estos se tomaron dos porciones del lóbulo craneal accesorio (3 x 3 cm) con tijeras quirúrgicas desinfectadas. Una porción se depositó en una bolsa con cierre hermético y se almacenó a 4 °C; mientras que la otra se depositó en un frasco con 10% de formalina buferada. Las muestras fueron transportadas inmediatamente hasta el Laboratorio de Virología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia (LV-UNAL) donde se almacenaron los tejidos frescos a -70 °C y a temperatura ambiente los tejidos fijados para su posterior procesamiento.

2.2.3 Extracción de ácidos nucleicos

Las muestras de pulmón (P) y raspado nasal (RN) se procesaron en *pooles* de dos terneros, es decir, para el caso de P se pesaron 0.3 g de tejido por individuo y se mezcló con otro *idem*, lo que constituyó una muestra (0.6 g). Este pool fue homogenizado y sometido a proceso de congelación (-70 °C) / descongelación (37 °C) por 15 minutos (min) por dos veces; finalmente se adicionaron 3 mL de PBS y se tomaron 200 µL. Para las RN, los 2 mL de muestra suspendida fue homogenizada con vórtex por 5 min y se tomaron 100 µL que se mezclaron con 100 µL de otro ternero, para un total por muestra de 200 µL. Se debe aclarar que las muestras (pooles) de P y RN correspondieron a los mismos animales. Las extracciones de los ácidos nucleicos virales se realizaron a partir de 200 µL de cada muestra mediante un Kit comercial (HP Viral Nucleic Acid Kit - Roche®) siguiendo las instrucciones del fabricante¹⁸. El procedimiento utilizado se encuentra detallado en el diagrama de flujo que se presenta en el Anexo A. Al final de este procedimiento, se obtuvieron 80 µL de extracción que fue alicuotada en dos tubos con fines diferentes; 40 µL se almacenaron a -20 °C [detección de ADN (BoHv-1)] y 40 µL de donde se tomaron 5 µL para hacer inmediatamente una RT-PCR y el restante se almacenó a -70 °C.

2.2.4 Síntesis de cADN

Se realizó la síntesis de ADN complementario (cADN) a partir del ARN obtenido de la extracción. La RT-PCR se realizó empleando un kit comercial (High-Capacity RNA-to-cDNA[®] Kit - Applied Biosystems)²⁰ siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante representado en el Anexo B. El producto cADN se conservó a -20°C hasta su procesamiento.

2.2.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para la detección de los virus evaluados (BRSV, BPIV3, BVDV y BoHV-1) se realizó una PCR a punto final empleando el termociclador Bio-Rad C1000 Touch[®]. Las reacciones fueron estandarizadas en un volumen total de 25 µL que contenía 0.25 µL de Taq polymerase (5 U/µL) (Go taq flexi-Promega[®]), 5X Taq buffer (2.5 µL), 2 mM MgCl₂, 0.5 mM dNTPs, 1 µL de cada primer (20 µM), y 2 µL de la extracción de DNA o de cDNA. Las condiciones de la PCR fueron las mismas para todos los virus con el siguiente perfil: una denaturación inicial a 94 °C por 5 min y 35 ciclos con una denaturación a 94 °C por 30 segundos (seg) seguida por una hibridación a 57 °C por 35 seg y elongación a 72 °C por 40 seg; se hizo elongación final a 72 °C por 5 min. Los productos de la amplificación se visualizaron en gel de agarosa al 2% por tinción con EZ-vision[®] y se empleó como referencia de migración una escalera de 100pb (100pb Plus Opti-DNA Marker - Applied Biological Materials Inc.). La lista de primers empleados para la detección de cada virus y la longitud de los amplicones obtenidos se encuentra en la tabla 2.1. Para la estandarización de estas PCRs se hicieron gradientes de temperatura de anidación cubriendo un rango de 52 - 62°C con cada pareja de primers.

Tabla 2.1. Lista con la secuencia de los primers empleados para la detección de los virus respiratorios (BRSV, BPIV3, BVDV y BoHV-1) mediante PCR convencional y características de los mismos

Virus	Primer sentido	Primer antisentido	Región diana	Amplicón pb	Tm °C	Referencia GenBank
BRSV	GCACCACACTGT CCCAACCA	AGAGTGGTGAACA GGCA	Proteína G	246	60	MT861050.1
BPIV3	CATTGAATTCAT ACTCAGCA	AGATTGTCGCATT TRCCTC	Nucleoproteína	400	60	ON081628
BoHV-1	CGGCCACGACG CTGACGA	CGCCGCGCAGTAT AACCC	Glicoproteína C	575	60	MK654724
BVDV-1	GGTAGCAACAG TGGTGAGTTC	CTCAGGTTAAGAT GTGCTGTG	5 UTR	136	60	OQ281452.1

2.2.6 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR)

Con base en los resultados obtenidos por PCR convencional, la qPCR fue aplicada para la detección de BRSV y BPIV3. Las reacciones fueron hechas en un volumen de 20 μ L que contenían 50 ng de cDNA, 10 μ L de 2X SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-RAD®) y 0.4 μ M de cada primer. Las corridas se hicieron en el termociclador Light Cycler® 480 II-Roche bajo las siguientes condiciones: una denaturación inicial a 95 °C por 10 min seguido por 42 ciclos consistentes de una denaturación a 95 °C por 15 seg, hibridación a 60 °C por 45 seg y adquisición de fluorescencia (extensión) a 72 °C por 2 seg. Las curvas melting se generaron por monitoreo de las señales de fluorescencia de SYBR green de 70 a 95 °C. Los controles negativos contenían ddH₂O. Todas las reacciones fueron corridas por duplicado. Los primers empleados en esta etapa del estudio se encuentran en la tabla 2.2.

Inicialmente, para establecer el límite de detección y la cuantificación viral (número de copias) se diseñaron curvas patrón tanto para BRSV como BPIV3. Estas se montaron realizando diluciones seriadas en base 10 de los controles positivos. Las concentraciones y límites de detección se encuentran en la tabla 2.3. Con base en los resultados de la curva patrón para BRSV (no obtención de una regresión adecuada) realizada en múltiples intentos, al no conseguir su estandarización no se consideraron los resultados obtenidos como viables para ser analizados.

Tabla 2.2. Lista con la secuencia de los primers empleados para la detección de los virus respiratorios BRSV y BPIV3 mediante PCR en tiempo real (qPCR) y características de los mismos

Virus	Primer sentido	Primer antisentido	Región diana	Amplicón pb	Tm °C	Referencia GenBank
BRSV	AAGGGTCAAACA TCTGCTTAACTA G	TCTGCCTGWGGG AAAAAAG	Proteína F	85	60	MK599403.1
BPIV3	TGTCTTCCACTA GATAGAGGGAT AAAATT	GCAATGATAACAA TGCCATGGA	Proteína M	112	58	LC170484.1

Tabla 2.3. Establecimiento de las curvas patrón para el límite de detección y cuantificación viral para BRSV y BPIV3 mediante la técnica de PCR en tiempo real (qPCR)

Dilución	BRSV		BPIV3	
	CT	[mg/ul]	CT	[mg/ul]
Puro	-	1,45*10 ¹¹	-	4,6*10 ¹¹
10 ⁻¹	-	1,45*10 ¹⁰	-	4,6*10 ¹⁰
10 ⁻²	-	1,45*10 ⁹	-	4,6*10 ⁹
10 ⁻³	10,5	1,45*10 ⁸	-	4,6*10 ⁸
10 ⁻⁴	12,92	1,45*10 ⁷	-	4,6*10 ⁷
10 ⁻⁵	16,34	1,45*10 ⁶	14,76	4,6*10 ⁶
10 ⁻⁶	19,71	1,45*10 ⁵	18,08	4,6*10 ⁵
10 ⁻⁷	23,4	1,45*10 ⁴	21,11	4,6*10 ⁴
10 ⁻⁸	-	1,45*10 ³	24,88	4,6*10 ³
10 ⁻⁹	-	1,45*10 ²	28,68	4,6*10 ²
10 ⁻¹⁰	-	1,45*10 ¹	31,17	4,6*10 ¹
10 ⁻¹¹	-	1,45*10 ⁰	34,53	4,6*10 ⁰

2.2.7 Controles positivos

Como controles positivos se emplearon: para BPIV3 la extracción de una vacuna comercial (*Bovilis*[®] - MSD); para el BRSV un cDNA donado por el Dr. Anselmo Odeón (Universidad Nacional de Mar del Plata, La Plata, Argentina); para BoHV-1, se empleó DNA obtenido de aislamientos del LV-UNAL. Para el caso de BVDV, se emplearon extracciones y cDNA de las cepas de referencia DVB1-NADL y DVB2-USA que se mantienen en el LV-UNAL.

2.2.8 Genotipificación viral

La secuenciación se hizo por el método Sanger en el Servicio de Secuenciación y Análisis Molecular – SsiGMoL de la Universidad Nacional de Colombia. Se obtuvo una secuencia parcial del gen de la fosfoproteína (P) del BPIV3. Esta fue editada y curada con el software BioEdit[®] v7.2, la alineación se hizo MEGA-7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis)[®] v.11, utilizando los métodos CLUSTAL W y MUSCLE, y se comparó con 33 secuencias depositadas en el GenBank. Para la construcción del árbol filogenético, se usó como raíz la secuencia de nt MF795097 del Virus de la Parainfluenza humana 3 (HPIV3). El modelo de tiempo general reversible con distribución gamma discreta (GTR+G) fue identificado como el más adecuado para las sustituciones de nucleótidos. La reconstrucción filogenética se realizó mediante el método de máxima verosimilitud (ML) con Bootstrap de 1000. La cepa colombiana del BPIV3, obtenida para el gen P, fue designada como BPIV3/Colombia/2023.

2.2.9 Histopatología

Las muestras de pulmón fijadas en 10% de formalina buferada fueron procesadas con técnicas de rutina para visualización histopatológica por microscopio de luz y fueron coloreadas con hematoxilina y eosina. Las lesiones se evaluaron teniendo en cuenta su distribución e intensidad. Los cambios analizados abarcaron diferentes aspectos como el infiltrado intersticial, la presencia de edema o fibrina en el espacio alveolar, la proliferación de neumocitos tipo II, la existencia de necrosis, las alteraciones en el epitelio de las vías de conducción (bronquios y bronquiolos) y la hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquiolos (BALT). Todas estas lesiones fueron clasificadas con base en su severidad, asignándoles un score así: cero (0) para ausencia de lesiones, uno (1) para lesiones leves, dos (2) para lesiones moderadas y tres (3) para lesiones severas. Los distintos casos se agruparon en diferentes categorías según los tipos específicos de lesiones observadas, siendo identificados como: bronconeumonía supurativa (BNS), bronconeumonía fibrinosa (BNF), neumonía intersticial (NI), neumonía broncointersticial (NBI) y bronquiolititis (B) ^{21,22}.

2.2.10 Análisis estadístico

En este estudio se llevaron a cabo análisis estadísticos descriptivos de distribuciones de frecuencia para las variables de interés. En el caso de análisis de correspondencias múltiples se llevó a cabo una etapa de preparación de los datos para asegurar su calidad y análisis adecuado. Para ello, se eliminaron los datos faltantes, identificando y excluyendo registros que contuvieran valores faltantes. Por último, se crearon tablas de contingencia que muestran las frecuencias conjuntas entre todas las variables categóricas involucradas en el análisis. Este análisis de correspondencias múltiples se realizó con el objetivo de examinar la relación entre las variables categóricas incluidas en el estudio. Para el análisis se utilizaron las coordenadas factoriales resultantes para representar las categorías y los perfiles de categorías en un espacio de dimensiones reducidas. Todos los análisis se realizaron con el software R con sus paquetes factoextra y dplyr.

2.2.11 Aval Comité de Bioética

El proyecto cuenta con el aval del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá (Acta 2 No. 2023). La ejecución de este proyecto está sustentada según lo expuesto en la resolución 8430 de 1993 “Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y

administrativas para la investigación en salud”. La ley 84 de 1989 “Por la cual se adopta el estatuto nacional de protección de los animales y se crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia”, ley 576 del 2000 “Por la cual se expide el Código de Ética para el ejercicio profesional de la medicina veterinaria, la medicina veterinaria y zootecnia y la zootecnia”, y la ley 1774 de 2016 “por medio de la cual se modifican el código civil, la ley 84 de 1989”. Por último, el Código Penal, artículo 1 “Los animales como seres sintientes no son cosas, recibirán especial protección contra el sufrimiento y el dolor, en especial, el causado directa o indirectamente por los humanos, por lo cual en la presente ley se tipifican como punibles algunas conductas relacionadas con el maltrato a los animales, y se establece un procedimiento sancionatorio de carácter policivo y judicial”.

2.3 Resultados

2.3.1 Población y muestras obtenidas

El desarrollo de este proyecto se realizó en una planta de beneficio de la región de la Sabana de Bogotá. En total, se colectaron muestras de P y RN de 96 terneros con las que finalmente se obtuvieron 48 muestras (pooles) de RN y 50 de P (Tabla 2.4). Por distribución geográfica, 62 (64.58%) terneros provenían de la Sabana de Bogotá y 34 (35.41%) del departamento de Antioquia.

Tabla 2.4. Distribución de muestras de tracto respiratorio de terneros lecheros y colectadas en planta de beneficio.

Muestreo	Terneros muestreados	Pooles de RN	Pooles P
1	15	7	8
2	19	9	10
3	18	9	9
4	23	12	12
5	21	11	11
Totales	96 terneros	48 RN	50 P

*RN: raspado nasal; P: pulmón.

2.3.2 Detección de los virus por PCR y qPCR

Las detecciones hechas a través de PCR convencional mostraron que todas las muestras tanto de P (0 / 48) como RN (0 / 50) fueron negativas a BoHV-1 y BVDV. Para el caso de

BRSV, por esta técnica se encontró positividad del 25% en muestras RN (12 / 48) y no se detectó en muestras P. Finalmente, el BPIV3 fue detectado en muestras RN en el 14.6% (7 / 48) y en el 4% (2 / 50) de muestras P (Tabla 2.5).

Tabla 2.5. Detección de BRSV, BPIV3, BVDV-1 y BoHV-1 por PCR convencional y PCR en tiempo real en muestras de raspado nasal (RN) y pulmón (P) de terneros provenientes de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá y de Antioquia.

Virus	PCR		qPCR	
	RN	P	RN	P
BPIV3	7/48 (14.6%)	2/50 (4%)	20/48 (41.7%)	13/50 (26%)
BRSV	12/48 (25%)	0/50 (0%)	NR	NR
BVDV-1	0/48 (0%)	0/50 (0%)	NR	NR
BoHV-1	0/48 (0%)	0/50 (0%)	NR	NR

NR: No realizado

De las 98 muestras (pooles) analizadas, el 51% (50 / 98 pooles) correspondieron a P y el 49% (48 / 98) a RN y estas a su vez tuvieron una distribución por origen geográfico correspondiente a (i) Antioquia: un total de 34 divididas en 18 muestras de P (18 / 98; 18.3%) y 16 muestras de RN (16 / 98; 16.32%). (ii) Sabana de Bogotá: un total de 64 muestras divididas en 32 muestras de P (32 / 98; 32.4%) y 32 muestras de RN (32 / 98; 32.4%). Los resultados regionales por PCR convencional para BRSV mostraron que no hubo detección en Antioquia para las muestras de P, mientras que dos muestras de RN (2 / 98; 2%) fueron positivas. La frecuencia de esta detección tomando como base el 100% de las muestras (n= 98) se encuentran en la Figura 2.1. En el caso de la Sabana de Bogotá, tampoco se detectó BRSV en muestras de P mientras que 10 muestras (10/98; 10.8%) fueron positivas (Figura 2.1).

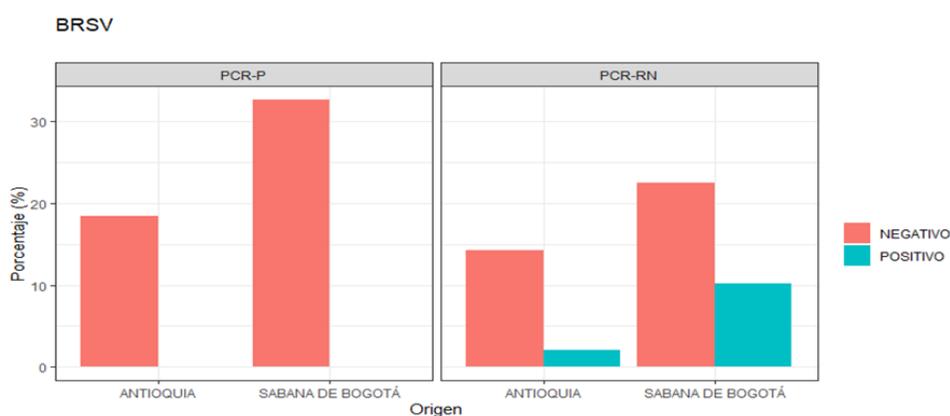


Figura 2.1. Distribución de frecuencias para BRSV mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional realizada en muestras de pulmón (P) y raspado nasal (RN) provenientes de dos regiones (Antioquia y Sabana de Bogotá).

En cuanto al BPIV3 y su distribución por regiones geográficas, para Antioquia se encontró una muestra de P (1 / 98; 1%) y tres de RN (3 / 98; 3.1%) positivas: mientras que en la Sabana de Bogotá fueron también una en P (1 / 98; 1%) y cuatro en RN (4/ 98; 4.1%). Lo anterior evidencia una mayor detección de BPIV3 en muestras de RN independiente de la región evaluada (Figura 2.2).

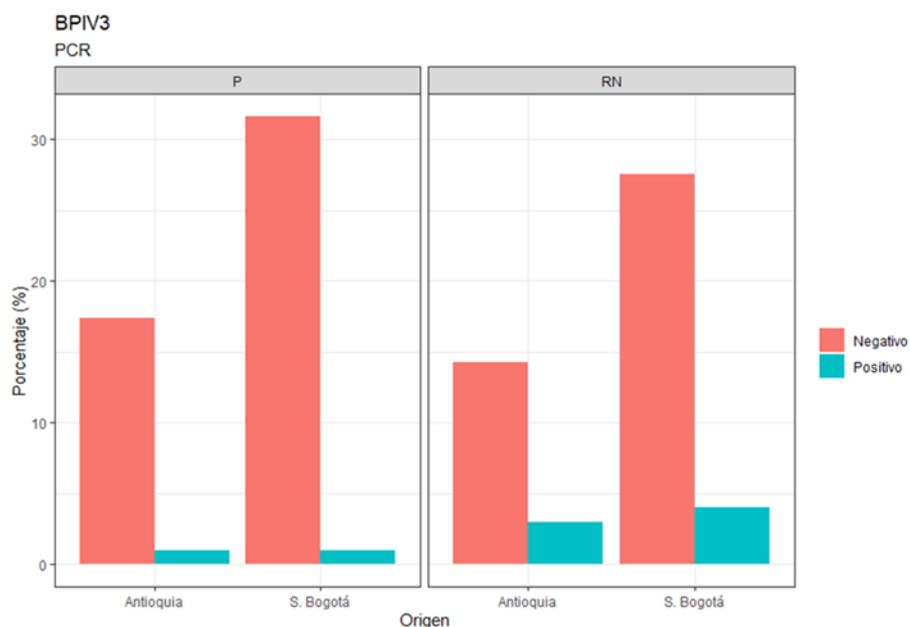


Figura 2.2. Distribución de frecuencias para BPIV3 mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional en muestras de pulmón (P) y raspado nasal (RN) provenientes de dos regiones (Antioquia y Sabana de Bogotá).

Con base en los resultados obtenidos por PCR convencional se decidió continuar con la evaluación de los dos virus que fueron detectados (BRSV, BPIV3) por PCR en tiempo real. Los resultados de esta técnica corroboraron la presencia de BPIV3 en los dos tipos de muestra. Inicialmente, se estableció para BPIV3 un umbral (CT) de corte, basada en la curva patrón lograda, de $CT \leq 31.5$ para indicar positividad. Así, se encontró de manera general que el 26% (13 / 50) de muestras de P fueron positivas mientras que el 41.7% (20 / 48) de muestras RN fueron positivas. Aquí es importante señalar tres cosas: primero, que hubo un incremento ostensible en la positividad (detección) de BPIV3 por qPCR comparado con PCR convencional sobre las mismas muestras. En segundo lugar, que los CT de las muestras positivas oscilaron entre 25 y 30, es decir, las cargas virales estuvieron entre 10^3 y 10^2 ; y tercero, que tanto las muestras de RN como las P positivas por qPCR coincidieron con las positivas por PCR convencional.

En cuanto al análisis de BPIV3 por región geográfica, en Antioquia ocho muestras (8 / 98; 8.2%) de P fueron positivas y el mismo número también fue positivo para RN. Para la Sabana de Bogotá, cinco muestras (5 / 98; 5.1%) de P fueron positivas y 12 (12 / 98; 12.2%) lo fueron en muestras de RN (Figura 2.3). Aquí es importante señalar que, proporcionalmente, fue mayor la detección de BPIV3 en la región de Antioquia que en la Sabana de Bogotá. En este sentido, sobre un total de 34 muestras de Antioquia, el 47.05% (16 / 34) fueron positivas mientras que en la sabana de Bogotá se redujo a cerca de la mitad correspondiente al 26.56 % (17 / 64). Por otra parte, en Antioquia la detección de BPIV3 fue similar tanto en RN como en P, indicando que estaba presente tanto en tracto respiratorio alto como bajo. Por el contrario, para la Sabana de Bogotá, la detección fue mayor a nivel de tracto superior (RN).

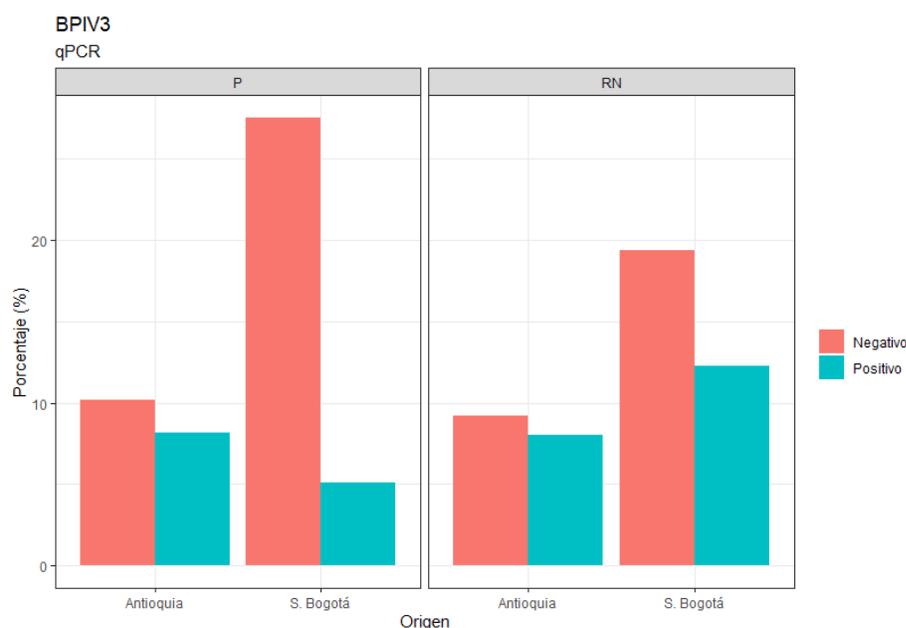


Figura 2.3. Distribución de frecuencias para BPIV3 mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) realizada en muestras de pulmón (P) y raspado nasal (RN) provenientes de dos regiones (Antioquia y Sabana de Bogotá).

Para el caso de BRSV, se hicieron múltiples intentos para estandarizar la curva patrón para la PCR en tiempo real, la mejor de ellas permitió establecer un rango de detección entre 10^{-3} y 10^{-7} (CT entre 10 y 23) (Tabla 2.3) pero ninguna de las muestras cayó en este rango. Todas presentaron CT por encima de 29, aunque algunas de 29 - 30, quedando la duda si podrían ser positivas con cargas virales bajas ($10^1 - 10^2$), pero al no poder ratificarlo se decidió no incluir estos datos en el análisis y reportarlo como no realizado.

Debido a que en el presente estudio se trabajaron como muestras pools de dos terneros (dos pulmones o dos raspados nasales), no fue posible distinguir y establecer la presencia de coinfecciones (dos o más virus presentes simultáneamente en un mismo individuo); sin embargo, si se estableció la copresencia de virus en dos muestras. Estas correspondieron a dos pools de RN provenientes de la región de la Sabana de Bogotá donde se encontraron BRSV / BPIV3. Adicionalmente, también se encontró en otra muestra proveniente de Antioquía que el pool de RN fue positivo para BRSV mientras que el pool (mismos terneros) de P fue positiva para BPIV3.

2.3.3 Histopatología

Basados en los resultados de BPIV3 (33 pools positivos), de estos se escogieron al azar y se enviaron 34 muestras individuales de tejido pulmonar para histopatología. De ellas, en el 32% (11 / 34) no se encontraron lesiones evidentes (Figuras 2.4 y 2.5). En el 64% (21 / 34) se identificó la presencia de neumonía intersticial (Figuras 2.6, 2.7 y 2.8), mientras que en el 5.88% (2 / 34) se observó neumonía intersticial acompañada de hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquiolos (BALT). Entre las lesiones más reportadas, se encontraron la presencia de un infiltrado intersticial de leve a moderado, así como la presencia de fibrina y edema pleural leve. Además, se observó la presencia de microtrombosis en algunos pulmones.

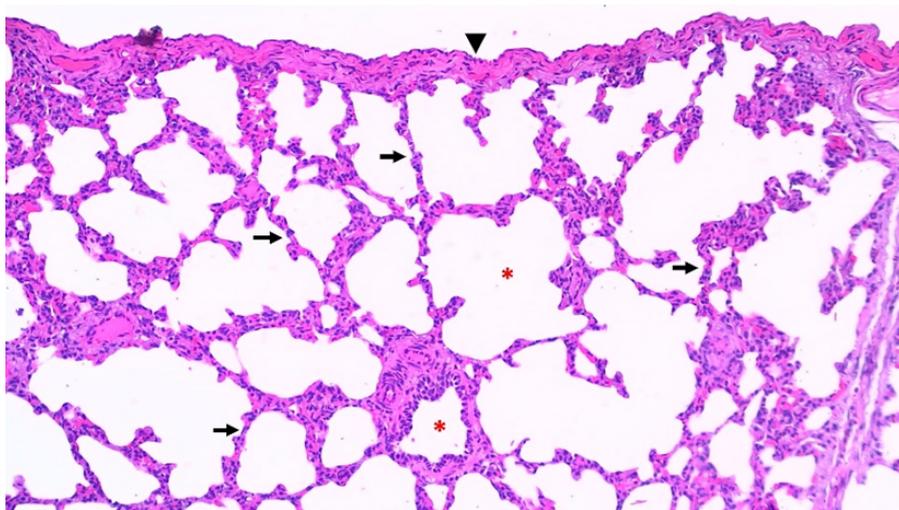


Figura 2.4. Microfotografía correspondiente a un pulmón sano (lóbulo craneal accesorio) sin cambios histopatológicos de un ternero positivo a BPIV3 proveniente de un hato

lechero. (*): Bronquiolo y espacio alveolar. Flechas: Septos alveolares. Triángulo: Pleura. Coloración hematoxilina y eosina. 10X.

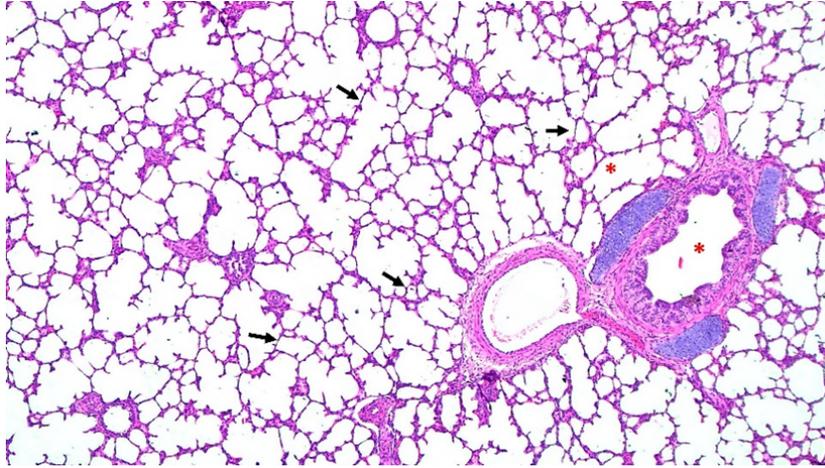


Figura 2.5. Microfotografía correspondiente a un pulmón sano (lóbulo craneal accesorio) sin cambios histopatológicos de un ternero positivo a BPIV3 proveniente de un hato lechero. (*): Bronquiolo y espacio alveolar. Flechas: Septos alveolares. Coloración hematoxilina y eosina. 4X.

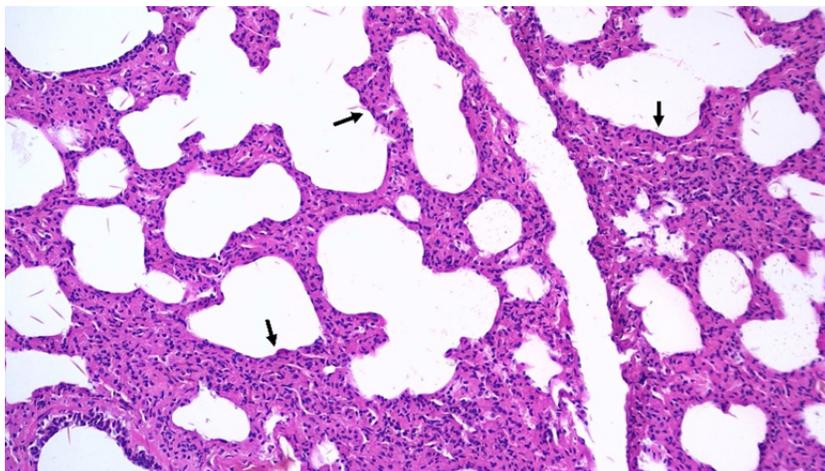


Figura 2.6. Microfotografía correspondiente a una neumonía intersticial de un pulmón (lóbulo craneal accesorio) de un ternero positivo a BPIV3 proveniente de un hato lechero. Flechas: Septos alveolares moderadamente engrosados debido a infiltrado inflamatorio. Coloración hematoxilina y eosina. 10X.

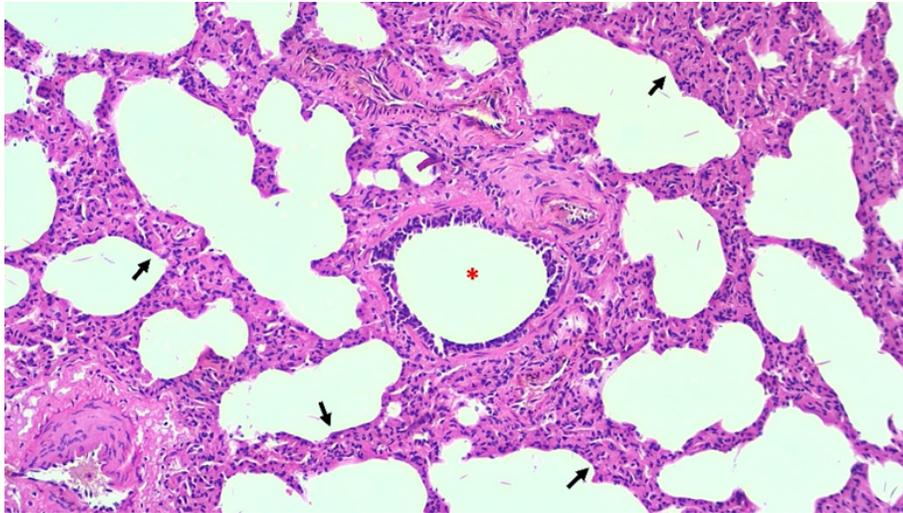


Figura 2.7. Microfotografía correspondiente a una neumonía intersticial de un pulmón (lóbulo craneal accesorio) de un ternero positivo a BPIV3 proveniente de un hato lechero. Flechas: Septos alveolares moderadamente engrosados debido a infiltrado inflamatorio. Coloración hematoxilina y eosina. 10X.

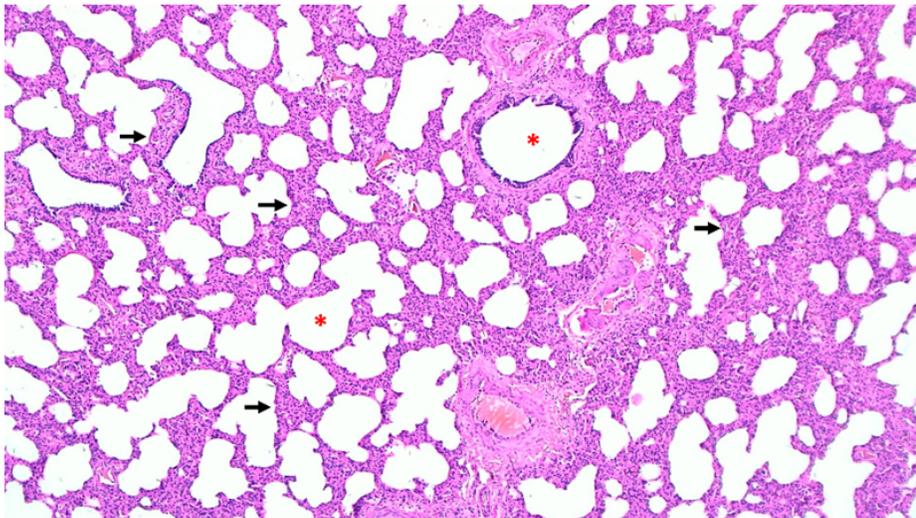


Figura 2.8. Microfotografía correspondiente a una neumonía intersticial de un pulmón (lóbulo craneal accesorio) de un ternero positivo a BPIV3 proveniente de un hato lechero. Flechas: Septos alveolares moderadamente engrosados. Coloración hematoxilina y eosina. 4X.

2.3.4 Análisis de relación entre variables

Tanto para BPIV3 como para BRSV se buscó establecer asociación entre las diferentes variables medidas en el estudio. Inicialmente se hizo para origen geográfico y diagnóstico molecular. En la Figura 2.9 se establece esta relación, encontrándose que para los dos

virus se evidencia una mayor tasa de resultados negativos que positivos. Para BPIV3 se evidenció como la mayor cantidad de positivos se encontraron por qPCR en muestras de RN seguido por P y en definitiva que dentro de cada técnica (qPCR o PCR convencional), la mayor detección de BPIV3 se hizo a partir de muestras de RN. Para BRSV la detección fue posible únicamente en muestras de RN.

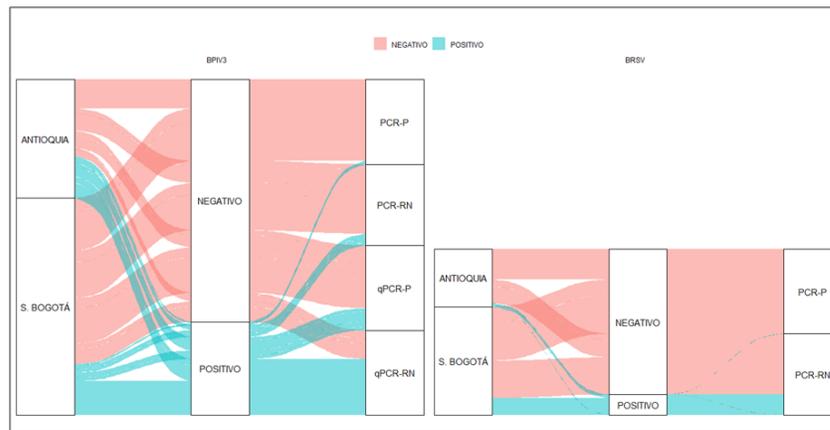


Figura 2.9. Diagrama aluvial de las relaciones entre origen geográfico (Antioquia y Sabana de Bogotá), positividad o negatividad de las muestras y tipo de detección molecular (PCR convencional o qPCR) para BPIV3 y BRSV. Cada cuadro corresponde en tamaño a la proporcionalidad de la variable.

Este mismo análisis, pero incluyendo ahora como nueva variable el resultado histopatológico en términos de presencia de neumonía intersticial (NI) y sin lesión (SL) mostró, como complemento a lo ya planteado antes, que para BPIV3 la mayoría de las muestras negativas no evidenciaron lesiones pulmonares pero una buena proporción sí, indicando un probable origen diferente al viral. Para las muestras BPIV3 positivas se encontró que la mayoría no se asoció con lesiones pulmonares y una proporción menor sí (Figura 2.10). Lo anterior se podría explicar por las cargas virales bajas que mantengan una infección subclínica en este órgano sin ocasionar daño, que el agente viral esporádicamente descienda al pulmón y se mantenga más en vías respiratorias superiores o que esté en fase de infección temprana cuando el virus aún no ha colonizado los pulmones. Por otro lado, aunque la proporción de detección de BPIV3 en muestras de P fue menor comparado con RN, se destaca que los casos P-positivos estaban asociados principalmente con neumonía intersticial (NI) sugiriendo que cuando el BPIV3 está presente en este órgano, incluso con cargas virales bajas, tiene la capacidad de inducir lesiones.

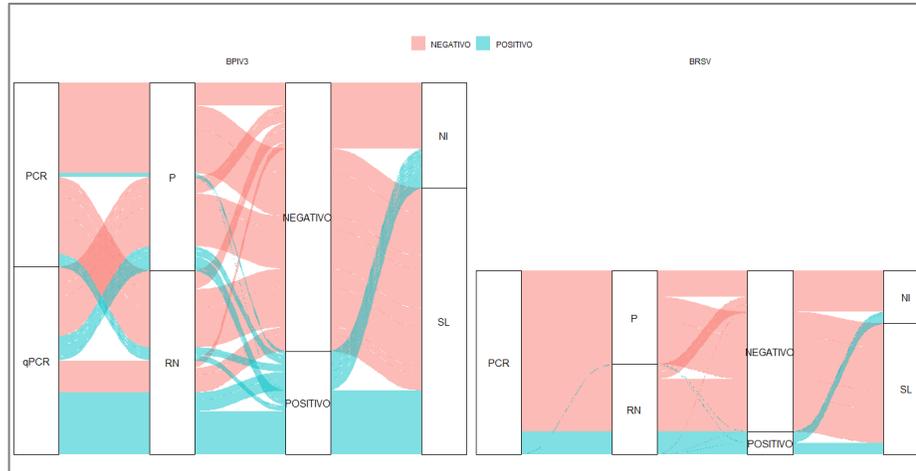


Figura 2.10. Diagrama aluvial de las relaciones entre detección molecular (PCR convencional o qPCR), tipo de muestra (pulmón o raspado nasal) y su resultado junto con lesiones pulmonares (NI: neumonía intersticial; SL: sin lesiones) para BPIV3 y BRSV. Cada cuadro corresponde en tamaño a la proporcionalidad de la variable.

Al realizar un análisis de correspondencias múltiples (Figura 2.11), se revelaron patrones de relación entre el diagnóstico histopatológico y las técnicas de detección viral. Para BPIV3 esta relación fue principalmente con la detección por qPCR, tanto en muestras de RN como en P. Esta misma coincidencia se observó, y con mayor grado de correspondencia, para muestras de P y detección por PCR convencional; esto último podría sugerir que las lesiones encontradas a nivel histopatológico se relacionan con infecciones en estadios avanzados en pulmón. Además, se identificó una correlación entre detección de BPIV3 en RN y la presencia de BRSV. La asociación entre la detección de estos dos virus en RN subraya la importancia de considerar la copresencia (coinfeción) y que la presencia de uno favorecería a su vez la presencia del otro.

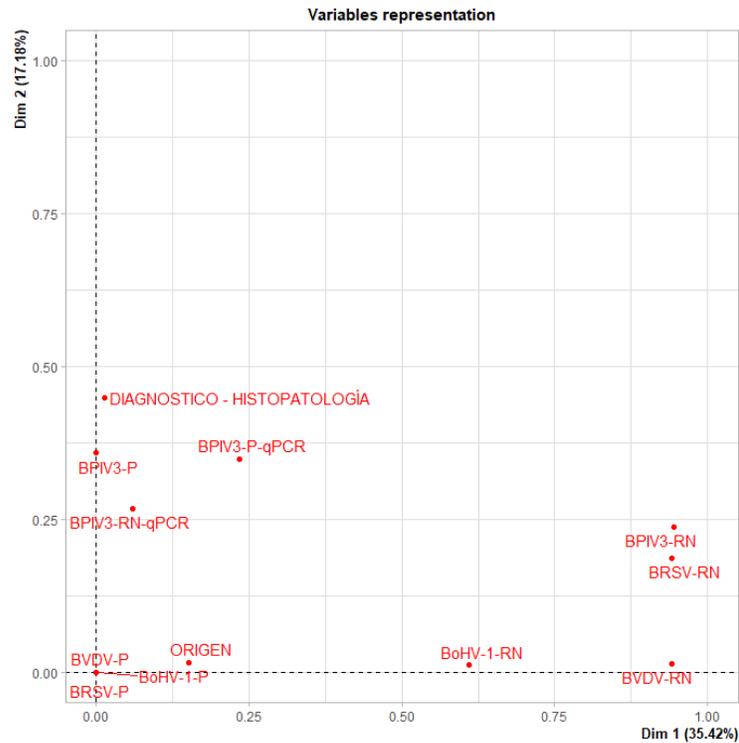


Figura 2.11. Análisis de correspondencias múltiples entre variables. Diagnóstico histopatológico (presencia de neumonía intersticial); BPIV3-P/RN [(BPIV3-positivo por PCR convencional (c) en muestras de pulmón (P) o raspado nasal (RN)]; BPIV3-P/RN-qPCR (BPIV3-positivo a qPCR en P o RN); BVDV-P/RN (BVDV-positivo por PCRc); BoHV-1 P/RN (BoHV-1 positivo por PCRc).

Los datos relacionados con el origen de las muestras no revelaron una separación clara entre los grupos examinados (Figura 2.12). De manera similar, el diagnóstico basado en el análisis histopatológico no presenta una clasificación totalmente precisa, pero exhibe una tendencia discernible en la distribución de las muestras. Estos resultados sugieren que tanto la procedencia de las muestras como el diagnóstico histopatológico podrían tener alguna relación, aunque esta asociación no se define de manera nítida (Figura 2.13). Es muy probable que otros factores o variables, que no han sido tomados en cuenta en este análisis, puedan estar influyendo en los resultados observados.

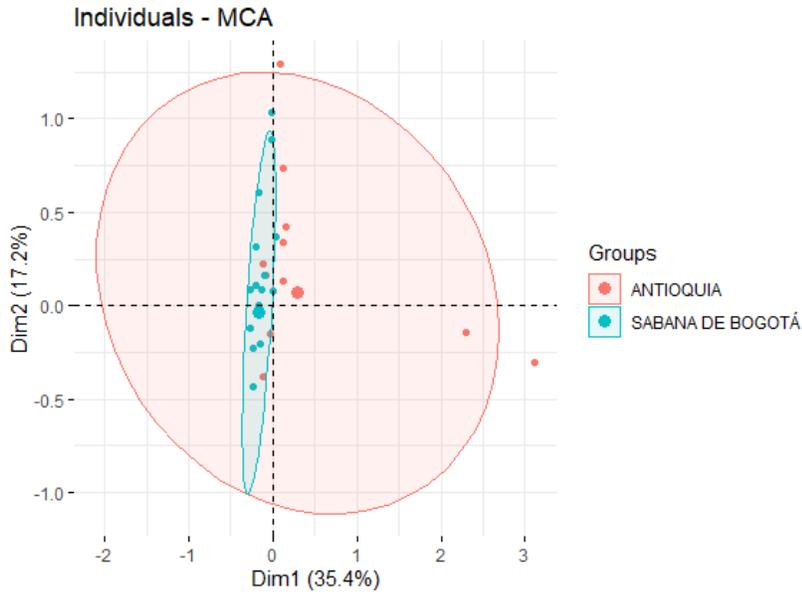


Figura 2.12. Grafica individual de los componentes de las correspondencias múltiples por origen geográfico. El agrupamiento no muestra una discriminación entre grupos, lo que confirma que no hay una diferencia significativa entre los orígenes geográficos (Antioquia y Sabana de Bogotá) para ninguno de los agentes virales evaluados.

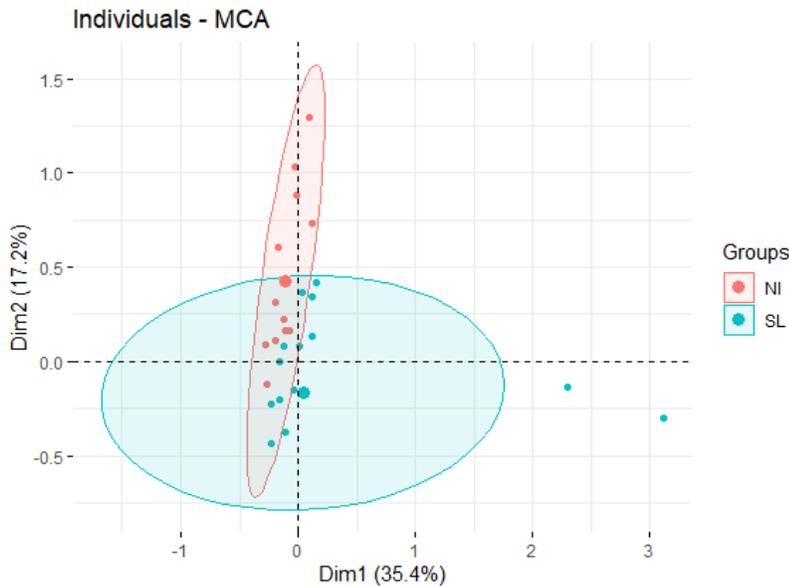


Figura 2.13. Grafica individual de los componentes de las correspondencias múltiples por diagnóstico histopatológico. El agrupamiento muestra una discriminación clara entre grupos, confirmando que el diagnóstico positivo a nivel pulmonar tiene una relación significativa con el diagnóstico de NI.

2.3.5 Genotipificación viral

De las muestras de BRSV-positivas por PCR convencional no se lograron obtener amplicones en concentraciones (tamaño de banda) suficientes para secuenciar. En contraste, a partir de dos muestras de RN provenientes de la región de Antioquia se obtuvo una secuencia parcial del gen P de BPIV3. La Figura 2.14 muestra un árbol filogenético de la cepa colombiana detectada, está comparte entre 81,14 - 100% de identidad de nt con las 33 cepas reportadas en GenBank para el gen P de BPIV3. Nuestra secuencia (BPIV/Colombia/2023) se ubica dentro del genotipo A, junto con 12 secuencias con las que comparte una identidad de nt de 91.32 - 99.5%. En contraste, la identidad de nt con respecto a los genotipos B y C estuvo entre 83.37 - 85.11% y 81.14 - 83.37%, respectivamente. La relación filogenética más alta fue con una cepa de la China (JQ063064 BPIV3/China/2008) y con una de Egipto y algunas de Estados Unidos.

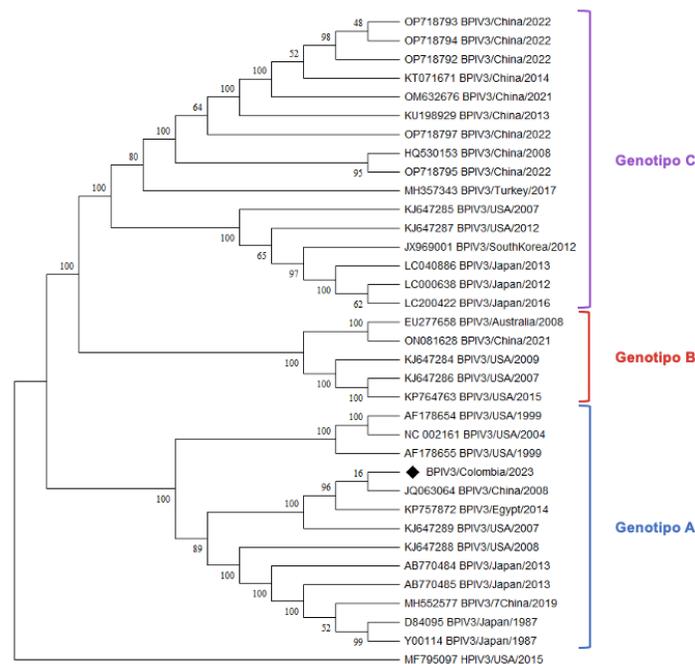


Figura 2.14. Árbol filogenético para BPIV3 de 33 secuencias reportadas en el GenBank del gen P de BPIV3. Se establece la clasificación del BPIV3 en tres genotipos (A, B y C) donde la secuencia colombiana (♦) BPIV3/Colombia/2023 proviene de una muestra de raspado nasal (RN) de un ternero del departamento de Antioquia. Esta se ubica en el genotipo A.

2.4 Discusión

Los estudios de campo en bovinos en Colombia no son fáciles de desarrollar por limitantes de colaboración de los productores, desplazamientos, obtención de muestras representativas, entre otros. Por lo anterior, se decidió realizar este estudio en una población de relativa fácil consecución de muestras como son las plantas de beneficio. Una práctica común y generalizada en el medio de la producción bovina lechera es la venta de terneros machos poco después de su nacimiento, usualmente entre 3 a 7 días después del parto. En el contexto de Colombia, estos terneros son vendidos y recogidos en rutas programadas que abarcan varias fincas e incluso pueden incluir más de un municipio o región. Posteriormente, estos son llevados a centros de acopio donde se suelen encontrar animales enfermos o de descarte, que luego serán llevados a planta de beneficio. Este manejo de los terneros puede favorecer los factores de riesgo asociados con la aparición de la ERT y facilita la infección por agentes virales y bacterianos.

En este escenario, algunos de estos factores de riesgo incluyen la movilización prolongada (largos periodos de tiempo) de los animales, el agrupamiento de estos con otros de diferentes orígenes y grupos etarios, y la mezcla de animales con diferentes estados sanitarios y protocolos de vacunación^{23,24}. Para este estudio, se seleccionaron dos tipos de muestras: epitelio nasal y tejido pulmonar, esto se fundamentó en que los agentes virales respiratorios pueden ubicarse en el tracto respiratorio alto o bajo, dependiendo del estadio de infección. Normalmente, la transmisión viral se da por la vía aérea, donde los virus ingresan al tracto respiratorio superior e inician su replicación en células epiteliales ciliadas, y posteriormente en neumocitos tipo I y II²⁵.

Se ha comprobado que el BoHV-1 y el BVDV circulan en las ganaderías lecheras en Colombia, y su presencia se ha confirmado mediante serología, detección y aislamiento viral²⁶⁻³². Sin embargo, en este estudio, no se detectaron estos agentes, lo que podría explicarse desde un enfoque inmunológico. Por un lado, es importante destacar la edad de los terneros seleccionados para el muestreo, ya que se encuentran en la ventana inmunológica materna^{33,34}. Es posible que la alta prevalencia del BoHV-1 y BVDV-1 como también los procesos de vacunación contra ellos (particularmente en los hatos lecheros de las dos regiones de proveniencia de las muestras) lleve a que la transferencia de Acs en calostro sea adecuada para proteger a los terneros contra estos dos agentes en las

primeras semanas de vida. Debido a que no se hizo una evaluación serológica, la explicación planteada es especulativa, pero se soporta desde la perspectiva inmunológica. Por otra parte, se ha observado que la seroprevalencia de BoHV-1 es mayor en animales adultos, y la enfermedad respiratoria bovina (ERB) asociada a este agente viral generalmente afecta a animales mayores^{33,36}.

Para cada uno de estos dos virus (BoHV-1 y BVDV), por sus particularidades en términos de patogénesis, se pueden plantear diversas hipótesis para explicar la ausencia de detección en la población estudiada. Para el BoHV1, al ser un herpesvirus, se debe plantear la posibilidad de latencia. La teoría indica que durante este estado no se logra detectar virus; si este fuera el caso (improbable estadísticamente) de los terneros del presente estudio, las muestras analizadas (pulmón y raspado nasal) no eran las indicadas para la detección de genoma viral, sino se debió tomar ganglio trigémino o submandibular y hacer detección de genes LR o sus transcriptos³⁵. Sin embargo, no podemos descartar radicalmente que algunos terneros si estuvieran infectados con BoHV-1 pero se pudieron escapar por no tener la muestra adecuada para poderlo deectar. Aquí también se debe aclarar que el objetivo del presente estudio no era la detección de terneros en estado de latencia. Tampoco podemos descartar que hubiese terneros infectados, no en latencia, pero con cargas virales muy bajas en las muestras evaluadas. En este escenario entraríamos a discutir sobre el limite de detección de la técnica empleada (PCR convencional) situación que no se puede de plano rechazar. Sin embargo, parecería contradictorio con el hecho de que se tomaron muestras de raspado nasal, donde la probabilidad de encontrar BoHV-1 es alta por el tropismo viral; una de las muestras más empleadas para detección y aislamiento de este virus (cuando está replicándose) son los hisopados nasales, en este caso el RN es su equivalente adicionando una gran cantidad de contenido celular. Por lo anterior, no se descarta la posibilidad de las bajas cargas virales, pero se considera improbable por las muestras evaluadas.

En cuanto al BVDV, la pregunta que asaltaría es si cabe la posibilidad de que hubiera terneros PI. Inicialmente, al no tener serología de estos animales no se puede establecer una asociación con títulos de anticuerpos bajos o inexistentes. Adicionalmente, los PI tienen también como característica que eliminan constantemente el virus y aquí no hubo evidencia de esto (al menos no en RN ni en P), por esto también esta posibilidad parece poco probable. En ambos casos quedan dudas que valen la pena ser resueltas

complementando este trabajo con uno de detección de anticuerpos por serología y con otras muestras clásicas de detección de PI para BVDV como muesca de oreja y cultivo de linfocitos.

En el caso de BPIV3, este trabajo constituye el primer reporte de detección de genoma viral en terneros de Colombia. Los resultados de la PCR convencional y qPCR mostraron resultados positivos, primando estos en muestras de RN comparado con las muestras P. Sin embargo, algo llamativo es que proporcionalmente la detección fue casi el doble en las muestras provenientes de Antioquia vs las de la Sabana de Bogotá. Un factor que podría explicar esto es que los terneros provenientes de Antioquia tuvieron que someterse a un transporte prolongado (≥ 10 horas), a cambios climáticos más severos, a un ayuno más prolongado; todo esto pudo favorecer la expresión e infección viral. Incluso la detección en esos terneros de Antioquia fue igual tanto en tracto respiratorio alto como bajo, lo que supondría que el BPIV3 ya había colonizado el pulmón; esto a diferencia de los terneros de la Sabana de Bogotá donde hubo una diferencia muy grande a favor de la detección en RN.

En términos de detección, para BPIV3 se dio una amplia diferencia entre la técnica de PCR convencional y la de tiempo real, favoreciendo a esta última. En el caso de las muestras de RN pasó de 15% a 42% mientras que para P fue del 4% al 26%. Estos resultados ratifican, en términos de sensibilidad, la ventaja que tiene la qPCR sobre la convencional. Por otra parte, el incremento en esta detección seguramente se dio en muestras donde la capacidad de detección de la PCR convencional es baja, es decir muestras con cargas virales bajas ²¹, que en nuestro estudio fueron la mayoría. Por tanto y asociado con los hallazgos histopatológicos, para BPIV3 la presencia de animales con infección subclínica se convierte en un factor muy importante cuyas implicaciones en la epidemiología de la ERT puede ser determinante. Adicionalmente, la detección predominante de BPIV3 y exclusiva de BRSV en el epitelio nasal (particularmente en los de la Sabana de Bogotá) se puede explicar porque los terneros se encuentren en las fases iniciales de infección respiratoria con replicación a nivel del tracto respiratorio superior.

Para BRSV, las muestras positivas se encontraron en su totalidad en RN y por PCR convencional. Aquí es importante señalar varias cosas: la ausencia de este virus a nivel pulmonar podría indicar también mayor tropismo por el tracto respiratorio superior o que

los terneros donde se encontró apenas estaban en la fase inicial de la infección. Probablemente la presencia de BRSV haya estado sub-detectada por la técnica de PCR convencional y que por qPCR hubiera sido mayor. Lo anterior, establecería un marco similar al presentado con BPIV3 en términos de la importancia de detectar positivos con cargas virales bajas y el de la importancia de los animales con infección subclínica para el mantenimiento del virus en la naturaleza. Aquí caímos en una limitante que no se pudo superar en el estudio y fue la imposibilidad de estandarizar la prueba de qPCR para BRSV, o mejor, la carencia de una curva patrón que nos dejara captar muestras con bajas cargas del virus. Este inconveniente no es nuevo en la investigación con BRSV; en varios reportes aconsejan no emplear la muestra directa para detección por qPCR sino hacer pasos previos de exposición *in vitro* de cultivos celulares con la muestra para incrementar el título viral y hacerlo detectable en técnicas moleculares. En nuestro caso varias muestras tuvieron un CT= 30, que podría estar en un rango de sospechoso y donde la exposición en cultivos celulares hubiese sido la estrategia a seguir.

En la actualidad los síndromes como la ERB/ERT se entienden como una interacción de diversos patógenos (virales y bacterianos) que se deben estudiar con abordajes de detección de múltiples agentes de forma simultánea (aquí se intentó hacer esto) y determinar causalidad de los mismos. En otras especies la presencia de coinfecciones es común, aunque estas se hacen más frecuentes (en términos de prevalencia) y de variedad (cantidad de patógenos presentes de forma simultánea) a medida que los individuos tienen más edad. Seguramente en la especie bovina ocurre lo mismo y la probabilidad de encontrar coinfecciones sea inferior en terneros jóvenes, como fue el caso de la presente investigación. Aquí es importante señalar dos cosas: la primera, que se encontró la copresencia (tal vez coinfección) BPIV3 / BRSV en solo dos muestras correspondientes a RN provenientes de Antioquia; y segundo, que hubo una asociación estadística significativa entre BPIV3 y BRSV en raspados nasales indicando que, en el contexto de este estudio, la presencia de uno pudo favorecer la del otro. Basado en lo anterior, los hallazgos de este estudio concuerdan con resultados de otras investigaciones sobre agentes virales asociados a ERB donde BRSV y BPIV3 se detectaron como agentes circulantes únicos (monoinfección) o en combinación con otros (coinfección) dentro de una población bovina ⁴³. Respecto a esto, es muy importante determinar las coinfecciones presentes y comenzar a establecer el efecto de las mismas sobre la presentación clínica de la ERT. Igualmente, si bien los pools de muestras son muy prácticos en términos de

cubrimiento poblacional y de seguimiento epidemiológico, para establecer coinfecciones no son las ideales.

A nivel histopatológico, se detectó presencia de neumonía intersticial que es típica en infecciones de tipo viral y que probablemente tenga una relación con los virus detectados y con el desarrollo de enfermedad respiratoria^{23,37}. Por otra parte, no hubo evidencia histopatológica de neumonía de tipo bacteriano, esto excluye a estos patógenos como causantes de la neumonía encontrada y lleva a pensar que posiblemente las lesiones son producto de etapas tempranas de una enfermedad viral respiratoria²⁵, lo que también concuerda con los resultados (cargas virales bajas) obtenidos en las pruebas moleculares de este estudio. El hallazgo de neumonía intersticial en casos negativos a PCR / qPCR puede tener varias explicaciones posibles. En primer lugar, es viable que los terneros evaluados ya no estuvieran infectados cuando se tomaron las muestras y que las lesiones sean un remanente posinfección²¹. En segundo lugar, es posible que las lesiones estén siendo causadas por patógenos que no fueron objeto de este estudio, como el Coronavirus Bovino (BCoV) y los Virus de la Influenza D y C (IDV e ICV)³⁸⁻⁴⁰. En definitiva, la histopatología ayuda como complemento a la detección molecular, pero *per se* no es una herramienta definitiva para demostrar la causalidad, para esto se hace necesaria la implementación de técnicas que detecten la presencia del virus en tejidos con lesiones tipo neumonía intersticial. Esas técnicas son la inmunohistoquímica, la hibridación *in situ*, entre otras. Los resultados obtenidos aquí, resaltan la importancia de considerar otros virus potenciales como agentes desencadenantes o presentes en el desarrollo de ERT.

Respecto a la relación entre positividad viral con la región geográfica, a pesar de tener un porcentaje mayor de detección de BRSV y BPIV3 en la Sabana de Bogotá, estadísticamente no se encontró correlación significativa entre la positividad de estos virus con el origen geográfico de los terneros. Lo anterior podría indicar que la muestra poblacional no fue epidemiológicamente significativa como para establecer claramente esta correlación. También se puede especular que esta no significancia estadística se debió a que BRSV y BPIV3 circulan de forma indiscriminada en las dos regiones evaluadas; o también a que los terneros tuvieron un sitio común de infección, lo cual se descarta porque los terneros provenientes de Antioquia eran sacrificados cada jueves, mientras que los terneros de la Sabana de Bogotá los martes. Adicionalmente, para que esto último se hubiera dado es necesario tener en cuenta que el periodo de incubación de

estos virus (BPIV3 y BRSV) es de 2 - 6 días y los terneros no permanecían más de 12 horas desde su llegada hasta el beneficio y además, la excreción viral en secreciones nasales se ha reportado después de los 4 dpi^{9,41,42}.

En cuanto a la genotipificación del BPIV3 encontrado en una muestra, esta se hizo como en otras latitudes, es decir, a través de la secuenciación del gen P, empleado por tener alta variabilidad⁴⁴. La secuencia se ubicó dentro del genotipo A donde también se encuentran cepas reportadas en América en Argentina y Estados Unidos, como también en países de otros continentes como en África (Egipto) y Asia (China y Japón) indicando la distribución mundial de este genotipo⁴⁴⁻⁴⁸. La cepa colombiana (BPIV3) mostró cercanía con cepas de China, aunque con esta información no se puede inferir sobre su origen, para ello sería necesario complementar con secuenciación de otros genes como N, M y NH^{24,49}. Un efecto probable de haber tratado las muestras como pooles es que haya disminuido (por dilución) la posibilidad de haber obtenido muestras secuenciables y por tanto la de haber detectado otros genotipos. En conclusión, la detección de BPIV3a con base en la secuenciación parcial del gen P es evidencia de que esta cepa circula en los hatos bovinos de la región antioqueña, y se recomiendan investigaciones adicionales para obtener una información más completa sobre la diversidad genética y la distribución de este virus en las poblaciones bovinas de Colombia.

Finalmente, este estudio pionero demuestra la circulación de BRSV y BPIV3 en ganaderías lecheras. Sin embargo, es importante destacar que la detección de estos agentes virales no refleja el estado sanitario de los hatos lecheros de la Sabana de Bogotá ni del departamento de Antioquia. Esto se debe a que la muestra utilizada no fue epidemiológicamente representativa y a que no se incluyó la evaluación de factores de riesgo o de protección relevantes como el estado inmunológico de los terneros, el historial vacunal de terneros y madres, las prácticas de levante, el historial clínico y factores ambientales, el estado de salud al momento de la toma de muestras, la administración previa de medicamentos, la toma y calidad del calostro administrado al nacimiento, y la curación del ombligo, entre otros⁵⁰. Estos factores, desconocidos en esta investigación, ya que no fueron parte de los objetivos, podrían influir en la detección de los agentes virales investigados.

2.5 Bibliografía

1. Blakebrough-Hall C, McMeniman JP, González LA. An evaluation of the economic effects of bovine respiratory disease on animal performance, carcass traits, and economic outcomes in feedlot cattle defined using four BRD diagnosis methods. *J Anim Sci*. 2020;98(2):skaa005. doi:10.1093/jas/skaa005
2. Smith RA. North American cattle marketing and bovine respiratory disease (BRD). *Anim Health Res Rev*. 2009;10(2):105-108. doi:10.1017/S1466252309990107
3. Dubrovsky SA, Van Eenennaam AL, Karle BM, Rossitto PV, Lehenbauer TW, Aly SS. Epidemiology of bovine respiratory disease (BRD) in preweaned calves on California dairies: The BRD 10K study. *Journal of Dairy Science*. 2019;102(8):7306-7319. doi:10.3168/jds.2018-14774
4. Gorden PJ, Plummer P. Control, Management, and Prevention of Bovine Respiratory Disease in Dairy Calves and Cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(2):243-259. doi:10.1016/j.cvfa.2010.03.004
5. Ellis JA. Update on viral pathogenesis in BRD. *Anim Health Res Rev*. 2009;10(2):149-153. doi:10.1017/S146625230999020X
6. Fulton RW. Viruses in Bovine Respiratory Disease in North America. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2020;36(2):321-332. doi:10.1016/j.cvfa.2020.02.004
7. Jones C, Chowdhury S. Bovine Herpesvirus Type 1 (BHV-1) is an Important Cofactor in the Bovine Respiratory Disease Complex. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(2):303-321. doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.007
8. Hay KE, Ambrose RCK, Morton JM, et al. Effects of exposure to Bovine viral diarrhoea virus 1 on risk of bovine respiratory disease in Australian feedlot cattle. *Preventive Veterinary Medicine*. 2016;126:159-169. doi:10.1016/j.prevetmed.2016.01.025
9. Ellis JA. Bovine Parainfluenza-3 Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010;26(3):575-593. doi:10.1016/j.cvfa.2010.08.002
10. Hoppe IBAL, Medeiros ASR de, Arns CW, Samara SI. Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in non-vaccinated dairy cattle herds in Brazil. *BMC Vet Res*. 2018;14(1):208. doi:10.1186/s12917-018-1535-8
11. Murray GM, O'Neill RG, Lee AM, et al. The bovine paranasal sinuses: Bacterial flora, epithelial expression of nitric oxide and potential role in the in-herd persistence of respiratory disease pathogens. Melcher U, ed. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0173845. doi:10.1371/journal.pone.0173845

12. Zhu YM, Shi HF, Gao YR, et al. Isolation and genetic characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from cattle in China. *Veterinary Microbiology*. 2011;149(3):446-451. doi:10.1016/j.vetmic.2010.11.011
13. Bryson DG, McFerran JB, Ball HJ, Neill SD. Observations on outbreaks of respiratory disease in housed calves--(1) Epidemiological, clinical and microbiological findings. *Vet Rec*. 1978;103(22):485-489. doi:10.1136/vr.103.22.485
14. Bolaños D, Donado P, Oliver Espinosa OJ. The Effect Of Management Factors On Morbidity And Mortality Calves Up To Two Months Of Age In Colombian Dairy Farms At high Altitudes. In: Vol XIX. ; 1996. https://www.researchgate.net/publication/259398322_THE_EFFECT_OF_MANAGEMENT_FACTORS_ON_MORBIDITY_AND_MORTALITY_OF_CALVES_UPTO_TWO_MONTHS_OF_AGE_IN_COLOMBIAN_DAIRY_FARMS_AT_HIGH_ALTITUDE/references
15. Escobar Vargas A, Bonilla Quintero R, Oliver Espinosa O, Donado P. *Factores de Manejo Que Afectan La Morbilidad y Mortalidad En Terneros Durante Sus Primeros Tres Meses de Vida En El Municipio de San Pedro de Los Milagros, Departamento de Antioquia*. 1997. Accessed July 19, 2021. <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat01725a&AN=unc.000096783&lang=es&site=eds-live>
16. Mejía Ortega G, Oliver Espinosa OJ. *Estudio Sobre Los Factores Que Afectan La Morbilidad y La Mortalidad de Terneros Durante Sus Primeros Cuatro Meses de Edad En Hatos Selectos de La Sabana de Bogotá*. 2005. Accessed July 19, 2021. <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat01725a&AN=unc.000306109&lang=es&site=eds-live>
17. Horwood PF, Mahony TJ. Multiplex real-time RT-PCR detection of three viruses associated with the bovine respiratory disease complex. *Journal of Virological Methods*. 2011;171(2):360-363. doi:10.1016/j.jviromet.2010.11.020
18. Roche Diagnostics GmbH RAS. High Pure Viral Nucleic Acid Kit. High Pure Viral Nucleic Acid Kit Rapidly isolate highly purified viral DNA and RNA. <https://lifescience.roche.com/documents/High-Pure-Viral-Nucleic-Acid-Kit.pdf>
19. Roche Diagnostics GmbH RAS. High Pure Viral Nucleic Acid Kit. High Pure Viral Nucleic Acid Kit Rapidly isolate highly purified viral DNA and RNA. <https://lifescience.roche.com/documents/High-Pure-Viral-Nucleic-Acid-Kit.pdf>
20. High-Capacity RNA-to-cDNA™ Kit. Accessed March 28, 2023. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4387406>

21. Zhang M, Hill JE, Godson DL, Ngeleka M, Fernando C, Huang Y. The pulmonary virome, bacteriological and histopathological findings in bovine respiratory disease from western Canada. *Transbound Emerg Dis.* 2020;67(2):924-934. doi:10.1111/tbed.13419
22. Ridpath JF, Fulton RW, Bauermann FV, Falkenberg SM, Welch J, Confer AW. Sequential exposure to bovine viral diarrhoea virus and bovine coronavirus results in increased respiratory disease lesions: clinical, immunologic, pathologic, and immunohistochemical findings. *J VET Diagn Invest.* 2020;32(4):513-526. doi:10.1177/1040638720918561
23. Oliveira VHS, Dall Agnol AM, Fritzen JTT, Lorenzetti E, Alfieri AA, Alfieri AF. Microbial diversity involved in the etiology of a bovine respiratory disease outbreak in a dairy calf rearing unit. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2020;71:101494. doi:10.1016/j.cimid.2020.101494
24. Fulton RW, Neill JD, Saliki JT, Landis C, Burge LJ, Payton ME. Genomic and antigenic characterization of bovine parainfluenza-3 viruses in the United States including modified live virus vaccine (MLV) strains and field strains from cattle. *Virus Res.* 2017;235:77-81. doi:10.1016/j.virusres.2017.04.009
25. Mars MH, Brusckke CJ, van Oirschot JT. Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet Microbiol.* 1999;66(3):197-207. doi:10.1016/s0378-1135(99)00009-7
26. Parra L, Vera A V, Villamil LC, Ramirez G. Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina en explotaciones lecheras de la Sabana de Bogotá. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.* 1994;42(1):29-44. Accessed July 2, 2023. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remvez/article/view/48064>
27. Buitrago Horta ER. Determinación de la prevalencia de animales persistentemente infectados con el virus de diarrea viral bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá. Published online 2015. Accessed July 3, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55348>
28. Villamil VV, Ramírez GC, Vera VJ, Jaime JA. Primera evidencia del Virus de Diarrea Viral Bovina (VDVB) genotipo 2 en Colombia. *Rev Med Vet Zoot.* 2018;65(1). doi:10.15446/rfmvz.v65n1.72020
29. Piedrahita LE, Montoya LM, Pedraza FJ. Herpes Virus Bovino tipo 1 (BoHV-1) como posible causa de encefalitis en bovinos de la región del Magdalena Medio Colombiano: Estudio serológico y análisis epidemiológico. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 2010;23(2):191-198. Accessed July 3, 2023.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902010000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es

30. Góngora A, Villamil LC, Vera VJ, Ramírez GC, Parra JL. DIAGNÓSTICO DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS EN TOROS DE LA SABANA DE BOGOTÁ. ÉNFASIS EN RINOTRAQUEITIS INFECCIONOSA BOVINA (RIB). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 1995;43(1):37-42. Accessed July 3, 2023. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remvez/article/view/47566>
31. Piedrahita D, Ramírez G, Vera V. Detección y caracterización por métodos moleculares de aislamientos colombianos de herpesvirus bovino tipo 1. Published online 2005. Accessed July 4, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/31365>
32. Ruiz Sáenz J. Aislamiento y caracterización de cepas nativas del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) para la generación de un biológico vacunal inactivado y/o recombinante. Published online 2012. Accessed July 3, 2023. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11563>
33. Fulton RW, Briggs RE, Payton ME, et al. Maternally derived humoral immunity to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1a, BVDV1b, BVDV2, bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3 virus bovine respiratory syncytial virus, Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida in beef calves, antibody decline by half-life studies and effect on response to vaccination. *Vaccine*. 2004;22(5-6):643-649. doi:10.1016/j.vaccine.2003.08.033
34. Platt R, Widel PW, Kesl LD, Roth JA. Comparison of humoral and cellular immune responses to a pentavalent modified live virus vaccine in three age groups of calves with maternal antibodies, before and after BVDV type 2 challenge. *Vaccine*. 2009;27(33):4508-4519. doi:10.1016/j.vaccine.2009.05.012
35. Lovato L, Inman M, Henderson G, Doster A, Jones C. Infection of Cattle with a Bovine Herpesvirus 1 Strain That Contains a Mutation in the Latency-Related Gene Leads to Increased Apoptosis in Trigeminal Ganglia during the Transition from Acute Infection to Latency. *Journal of Virology*. 2003;77(8):4848-4857. doi:10.1128/JVI.77.8.4848-4857.2003
36. Dias JA, Alfieri AA, Ferreira-Neto JS, Gonçalves VSP, Muller EE. Seroprevalence and risk factors of bovine herpesvirus 1 infection in cattle herds in the state of Paraná, Brazil. *Transbound Emerg Dis*. 2013;60(1):39-47. doi:10.1111/j.1865-1682.2012.01316.x
37. Caswell JL, Hewson J, Slavić Đ, DeLay J, Bateman K. Laboratory and Postmortem Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2012;28(3):419-441. doi:10.1016/j.cvfa.2012.07.004

38. Ambrose RK, Blakebrough-Hall C, Gravel JL, Gonzalez LA, Mahony TJ. *Characterisation of the Upper Respiratory Tract Virome of Feedlot Cattle and Its Association with Bovine Respiratory Disease*. BIOLOGY; 2022. doi:10.20944/preprints202212.0438.v1
39. Hause BM, Collin EA, Anderson J, Hesse RA, Anderson G. Bovine Rhinitis Viruses Are Common in U.S. Cattle with Bovine Respiratory Disease. Melcher U, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0121998. doi:10.1371/journal.pone.0121998
40. Nissly RH, Zaman N, Ibrahim PAS, et al. Influenza C and D viral load in cattle correlates with bovine respiratory disease (BRD): Emerging role of orthomyxoviruses in the pathogenesis of BRD. *Virology*. 2020;551:10-15. doi:10.1016/j.virol.2020.08.014
41. Valarcher JF, Taylor G. Bovine respiratory syncytial virus infection. *Vet Res*. 2007;38(2):153-180. doi:10.1051/vetres:2006053
42. West K, Bogdan J, Hamel A, et al. A comparison of diagnostic methods for the detection of bovine respiratory syncytial virus in experimental clinical specimens. *Can J Vet Res*. 1998;62(4):245-250. Accessed August 1, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189489/>
43. Fulton RW, Purdy CW, Confer AW, et al. Bovine viral diarrhea viral infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Can J Vet Res*. 2000;64(3):151-159.
44. Kumagai A, Kanno T, Kawauchi K, Tanaka K, Ishihara R, Hatama S. Phylogenetic and antigenic analysis of bovine parainfluenza virus type 3 isolated in Japan between 2002 and 2019. *Veterinary Microbiology*. 2020;247:108774. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108774
45. Ren Y, Tang C, Yue H. Prevalence and Molecular Characterization of Bovine Parainfluenza Virus Type 3 in Cattle Herds in China. *Animals (Basel)*. 2023;13(5):793. doi:10.3390/ani13050793
46. Maidana SS, Lomonaco PM, Combessies G, et al. Isolation and characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Argentina. *BMC Vet Res*. 2012;8(1):83. doi:10.1186/1746-6148-8-83
47. Sobhy NM, Mor SK, Bastawecy IM, Fakhry HM, Youssef CRB, Goyal SM. Surveillance, isolation and complete genome sequence of bovine parainfluenza virus type 3 in Egyptian cattle. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2017;5(1):8-13. doi:10.1016/j.ijvsm.2017.02.004
48. Wang X, Hu J, Meng F, et al. Isolation, Identification, and Genetic Phylogenetic Analysis of Two Different Genotypes of Bovine Parainfluenza 3 Virus in China. *Viruses*.

2022;14(10):2221. doi:10.3390/v14102221

49. Oem JK, Lee EY, Lee KK, Kim SH, Lee MH, Hyun BH. Molecular characterization of a Korean bovine parainfluenza virus type 3 isolate. *Vet Microbiol.* 2013;162(1):224-227. doi:10.1016/j.vetmic.2012.10.013

50. Windeyer MC, Leslie KE, Godden SM, Hodgins DC, Lissemore KD, LeBlanc SJ. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine.* 2014;113(2):231-240. doi:10.1016/j.prevetmed.2013.10.019

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1 Conclusiones

Este estudio representa el primer reporte de BRSV y BPIV3 en Colombia, lo que lo convierte en una contribución pionera en el ámbito académico. Así mismo, este trabajo proporciona evidencia de que el BRSV y el BPIV3 circulan en los hatos lecheros de la sabana de Bogotá y el departamento de Antioquia, aunque esta información se debe complementar con un estudio epidemiológico detallado y una muestra representativa para fortalecer dicha evidencia.

Por otro lado, aunque en esta investigación no se detectaron el BVDV-1 y el BoHV-1, es importante destacar que su ausencia en las muestras analizadas no descarta la posibilidad de que estos agentes circulen en las ganaderías de Colombia y puedan desempeñar un papel relevante en la enfermedad respiratoria bovina. Es fundamental reconocer que esta investigación se enfocó en un aspecto específico y no se consideraron otros factores inmunológicos, de manejo y ambientales que podrían influir en la detección viral en animales de este rango de edad.

Por último, los hallazgos obtenidos en este estudio son el punto de partida para futuras investigaciones sobre la circulación de estos virus en tracto respiratorio bovino, tanto en terneros como en animales adultos en el contexto ganadero en Colombia. Se deben reconocer las particularidades propias de cada región, pues los protocolos de manejo de estos animales cambian de finca a finca, por lo cual, es crucial considerar estas variaciones en estudios posteriores.

3.2 Recomendaciones

Se recomienda llevar a cabo estudios de campo que se enfoquen en estos agentes virales, especialmente durante la aparición de brotes respiratorios. Estos estudios permitirían diagnosticar los agentes involucrados en la enfermedad clínica y asegurar la obtención de suficientes cargas virales para su detección precisa.

Adicionalmente, es fundamental resaltar la importancia de realizar investigaciones con una muestra poblacional más amplia en las ganaderías lecheras de Colombia. Estos estudios deben tener en cuenta factores epidemiológicos, ambientales y de manejo para dilucidar el impacto real de los virus implicados en la Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) en diferentes regiones del país.

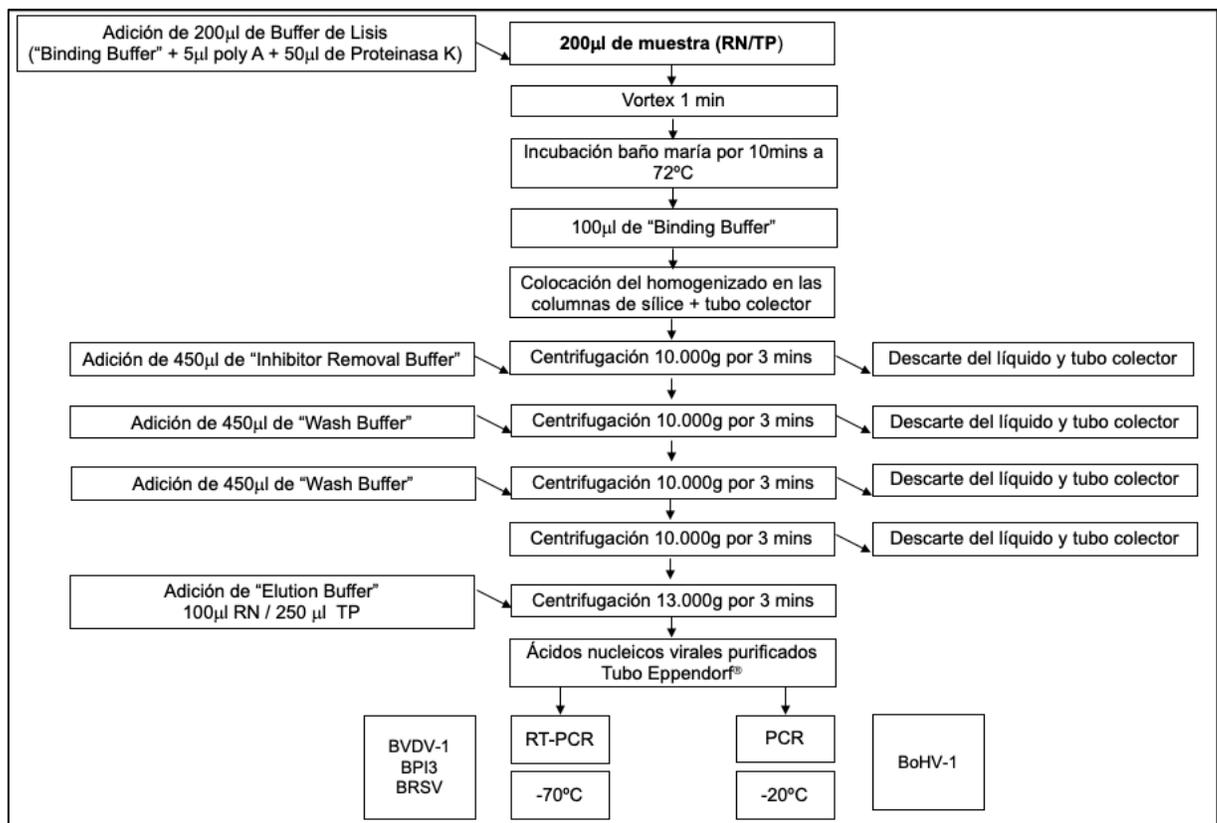
Una muestra poblacional significativa proporcionaría datos valiosos sobre la distribución, prevalencia y factores de riesgo asociados con la circulación de estos virus en la industria ganadera. Esta información sería esencial para implementar medidas de control y prevención más efectivas y así salvaguardar la salud del ganado bovino y la productividad del sector lechero en Colombia.

Se proponen futuras investigaciones centradas en la secuenciación del BRSV a partir de cultivos celulares. Esto permitiría el aislamiento e identificación de las cepas circulantes en el país, brindando una visión más completa de la epidemiología de este virus. Dicha información es esencial para comprender mejor su comportamiento y establecer relaciones entre las cepas presentes en Colombia y otras regiones del mundo. De esta manera, se podrían determinar posibles rutas de transmisión y su evolución potencial, lo que facilitaría el diseño de estrategias más eficientes para su control y prevención.

Finalmente, se recomienda llevar a cabo estudios seroepidemiológicos, en combinación con técnicas de diagnóstico molecular, para determinar el papel de la inmunidad materna en la infección por los agentes virales objeto de este estudio. Estas investigaciones permitirán analizar la presencia de anticuerpos específicos en muestras de suero y analizar cómo la inmunidad transferida interfiere con la susceptibilidad a la infección viral en los terneros y a nivel de hato.

A. Anexo: Diagrama del protocolo de purificación de Ácido Nucleico Viral

A continuación, se muestra el diagrama del protocolo de purificación de Ácido Nucleico Viral con el Kit de extracción viral “HP Viral Nucleic Acid Kit” de Roche®. Tomado y modificado de (Roche Diagnostics GmbH, s. f.).¹⁹.



B. Anexo: Diagrama del protocolo de síntesis de cDNA

A continuación, se muestra el diagrama del protocolo de RT-PCR, el cual se realizó empleando un kit comercial (High-Capacity RNA-to-cDNA Kit - Applied Biosystems). Tomado y modificado de: (*High-Capacity RNA-to-cDNA, Thermofisher*)²⁰

