

EFFECTO DE LA INFECCIÓN CON LOS VIRUS DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA Y DIARREA VIRAL BOVINA SOBRE LA REPRODUCCIÓN EN BOVINOS NO VACUNADOS

Effect of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus and Bovine Viral Diarrhea Virus Infections on Reproduction in a Non-Vaccinated Cattle Herd

César Obando¹, Diego Ocanto², Mayra Hidalgo¹, Josefa Rodríguez¹ y Rolando Durán

¹Instituto de Investigaciones Veterinarias. CENIAP-INIA. Teléfono (0243) 2419176.

E-mail: cobando@inia.gov.ve. ²Ejercicio libre.

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar si las infecciones por los virus de rinotraqueitis infecciosa bovina (VRIB) y diarrea viral bovina (VDVB) afectaban el comportamiento reproductivo de un rebaño de alto mestizaje Brahman, no vacunado contra ambos virus. El manejo reproductivo se basó en una estación de servicio (ES) con inseminación artificial (IA), al inicio, y monta natural (MN) posteriormente. Para ello, una muestra de 80 vientres se categorizó en dos grupos para efectos de comparación: 1) Desempeño deficiente (DD) y 2) Desempeño ideal (DI), conformados por 35 y 45 animales, respectivamente. Todos los animales fueron objeto de monitoreo serológico para ambos virus, antes y durante la ES, mediante kits de ELISA comerciales (SVANOVA, Biotech). Los resultados muestran que el 51% de los animales, de ambos grupos, se infectaron con VRIB antes de la ES. El 26% de los animales de los grupos DD y el 16% del grupo DI se infectaron durante la ES y de los mismos, quedaron preñados y parieron normalmente el 78 y el 100%, respectivamente. En relación al VDVB, el 86 y el 78% de los animales de los grupos DD y DI, respectivamente, se infectaron antes de la ES y, escasamente, 3 y 7% de ellos se infectaron durante la ES. La prueba de Fisher indicó que no hubo asociación entre la ocurrencia de infección por VRIB y VDVB con la condición de preñez ($P \leq 0,62$ y $P \leq 0,60$, respectivamente). Estos hallazgos indican que las infecciones por estos virus no interfirieron con el desempeño reproductivo del rebaño.

Palabras clave: Eficiencia reproductiva, rinotraqueitis infecciosa bovina, diarrea viral bovina, ELISA, monitoreo serológico.

ABSTRACT

A study was carried out to determine if infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV) and bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections were involved in the reproductive efficiency of a non-vaccinated crossbred Brahman herd. Management of reproduction consisted of a four months breeding season (BS) with artificial insemination (AI) at first, and natural breeding. Eighty female cattle were categorized into two groups for comparison: 1) Deficient performance (DP) and 2) Good performance (GP), composed of 35 and 45 animals, respectively. A serological profile for both viruses was determined by ELISA (SVANOVA Biotech) on all cattle before and during the BS. Fifty one percent of both groups were infected with IBRV before the BS. Twenty six and 16% of the groups DP and GP, respectively, were infected with this virus during the BS, and 78 and 100% of them became pregnant and delivered normally. Association between IBRV infection and pregnancy was not found by Fisher test ($P \leq 0.62$). Regarding BVDV, 86 and 78% of the groups DP and GP, respectively, were infected before BS and scarcely 3 and 7% of them were infected during the BS. Association between BVDV infection and pregnancy was not found ($P \leq 0.60$). These results indicate that IBRV and BVDV infections were not involved in the reproductive efficiency of the herd.

Key words: Reproductive efficiency, infectious bovine rhinotracheitis, bovine viral diarrhea, ELISA, serological profile.

INTRODUCCIÓN

Los virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (VRIB) y de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), son agentes del Complejo Respiratorio de los Bovinos [22]. Una de las características co-

munes de estos virus, es la capacidad para afectar el sistema reproductivo provocando, usualmente después de la infección primaria, infertilidad temporal, reabsorciones embrionarias y abortos [13, 16, 17, 20], lo cual se traduce en pérdidas económicas.

El VRIB establece latencia con períodos de reactivación y excreción en bovinos después de infectados en forma natural o inmunizados con vacunas a virus vivo modificado [23], manteniendo la infección en los rebaños [24, 25]. Algunos abortos, sin fuente obvia de infección, pudieran resultar de la reactivación de estas infecciones [14].

La RIB ocurre desde la forma esporádica baja hasta enzootica, en muchos países de América, Europa, Asia y Oceanía. Esta enfermedad, a pesar de que fue descrita por primera vez en Alemania en el siglo XIX, en Europa se convivió con ella sin vacunación, por no ocasionar pérdidas económicas de consideración. A partir de 1970, con la aparición de infecciones severas, probablemente por la acción de cepas más virulentas [25] o por el efecto de infecciones simultáneas por el VDVB, agente inmunosupresor responsable de la enfermedad que lleva el mismo nombre, la cual fue descrita por primera vez en Norte América en 1946 [19], y posteriormente diagnosticada en Europa, es cuando algunos países incorporan estrategias de control [25].

Las infecciones con VDVB son subclínicas en el 70 al 90% de los casos [2], sin embargo, cuando ocurren durante el primer tercio de gestación, además de los problemas señalados para RIB, pueden ocasionar el nacimiento de becerros persistentemente infectados (PI), los cuales excretan grandes cantidades de virus durante su vida [5, 15], constituyendo la principal fuente de infección en los rebaños [4, 7].

De acuerdo a un estudio realizado por Obando y col. [18], en la ganadería extensiva del estado Apure, donde no se vacuna contra los VRIB y VDVB, la prevalencia serológica fue de 67% y 36%, respectivamente, lo que hace pensar que en áreas con ganadería semiintensiva o intensiva las prevalencias probablemente sean mayores, tomando en consideración los mecanismos de transmisión [1, 3].

En Venezuela, a pesar de la elevada proporción de animales seropositivos a ambos virus, hay pocos reportes de la ocurrencia de patologías con pérdidas económicas de consideración, que pudieran clínicamente ser asociadas con ellas, lo que pudiera hacer pensar que las cepas actuantes sean poco virulentas, tal como fue sostenido en otros países [25]. En consecuencia, el propósito del trabajo fue determinar la ocurrencia y frecuencia de infecciones por los VRIB y VDVB en una muestra de vacas y novillas de un rebaño infectado, nunca vacunado contra estos virus, durante una estación de servicio, y asociar estas infecciones con su desempeño reproductivo, para evaluar la significancia de dichas infecciones sobre la reproducción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de animales y recolección de muestras

El trabajo se desarrolló en una finca de bovinos de carne, de alto mestizaje Brahman, con una población de 1900 animales, nunca vacunada contra los virus de RIB y DVB, ubicada en el estado Cojedes de Venezuela, en la cual los porcentajes de preñez durante los años 1998, 1999 y 2000 fueron de 79,1; 69,3 y 52,6%, respectivamente, indicando una tendencia mantenida a la disminución. Las vacas y las novillas que se detectaron en condiciones de ser apareadas, mediante exámenes ginecológicos, se incorporaron a una estación de servicio (ES) de cuatro meses, en la cual se combinaron las prácticas de inseminación artificial (IA), al inicio, y la monta natural (MN), posteriormente.

Antes de comenzar la ES se seleccionaron 200 hembras al azar, a las cuales se les hizo un seguimiento de su comportamiento reproductivo, durante toda la ES. Además, se sangraron en tres oportunidades, previo al inicio de la ES (S1), al final del período de IA (S2) y después de terminada la ES (S3). La finalidad fue disponer, al terminar el proceso reproductivo, de animales con comportamientos reproductivos deficientes e ideales, acompañados de sus respectivas muestras de suero, para relacionar la calidad del desempeño reproductivo con el perfil serológico para los virus de RIB y DVB. Es decir, con la ocurrencia de seroconversión, indicativa de infección por dichos virus.

Las muestras de sangre se procesaron para la separación de los sueros correspondientes, mediante centrifugación y se conservaron a -20°C, hasta su procesamiento.

El semen y los toros utilizados en IA y MN, respectivamente, se consideraron aptos para el servicio de las novillas y vacas, después de su evaluación.

Detección de presencia y/o incremento de anticuerpos contra los VRIB y VDVB

Para detectar la presencia de anticuerpos contra los VRIB y VDVB se utilizaron kits de ELISA comerciales (SVA-NOVA Biotech), siguiendo las especificaciones del fabricante. Para evaluar la ocurrencia de incremento significativo en los niveles de anticuerpos contra ambos virus, es decir seroconversión, se utilizaron los mismos kits, pero siguiendo el procedimiento descrito por Graham y col. [11], es decir, mediante el análisis de diluciones únicas de los sueros (1/100), recolectados con los intervalos descritos, y la determinación de incremento, y en que magnitud, del porcentaje de positividad entre ellos. En resumen, se añadieron 100 µl por duplicado de diluciones 1/25, para la detección de anticuerpos, y de diluciones 1/100, para evaluar seroconversión, de los sueros recolectados, a pozos de las placas de microtécnica previamente tapizados con antígeno de virus RIB o DVB, según el caso (colum-

nas impares) y en los pozos correspondientes a los controles de antígeno (columnas pares). De la misma manera se colocaron 100 µl de una dilución 1/100 de los sueros controles, positivos y negativos. Los platos se agitaron e incubaron a 37°C por 1 hora, se lavaron 3 veces con solución de lavado, se les añadió 100 µl por pozo de conjugado (anticuerpo monoclonal específico contra IgG bovina marcada con peroxidasa) y se incubaron por 1 hora a 37°C. Posteriormente, se repitieron los lavados y se añadieron 100 µl de solución sustrato (tetrametilbenzidina en buffer conteniendo H₂O₂). Después de 10 minutos de incubación, a temperatura ambiente, se añadieron 50 µl por pozo de solución de frenado (ácido sulfúrico). La densidad óptica (DO) se leyó en un espectrofotómetro Elx 800 (Biotek Instruments, Inc) a 450 nm.

Interpretación de los resultados

Sobre la base del punto de corte establecido por el fabricante, DO de 0,25 y 0,20 para VRIB y VDVB, respectivamente, los sueros con valores superiores a éstos se consideraron contentivos de anticuerpos contra dichos virus.

Se consideraron animales que sufrieron infecciones por los VRIB y VDVB, previas a la ES, aquellos en los cuales se detectaron anticuerpos contra dichos virus en el primer muestreo (S1) y que mantuvieron o disminuyeron el porcentaje de positividad de ese suero en comparación con los recolectados en los siguientes muestreos.

Se consideró que un animal sufrió infección con el VRIB, durante la ES, cuando después de resultar negativo a anticuerpos contra el virus, al inicio de ella (S1), presentó anticuerpos en las muestras S2 o S3. De igual manera, cuando entre dos muestras sucesivas se registró un incremento en el porcentaje de positividad igual o mayor a 35%, equivalente a 4 o más diluciones en el título.

Los criterios de infección para el VDVB fueron los mismos, pero cuando el incremento de positividad entre dos muestras sucesivas fue igual o mayor a 31%, equivalente a 4 o más diluciones en el título.

El porcentaje de positividad de un determinado suero se calculó dividiendo el valor corregido de la DO del suero en análisis, entre el valor corregido del control positivo de la misma placa, multiplicando dicho resultado por 100.

Análisis estadístico

Los resultados de preñez en los animales infectados y no infectados con los VRIB y VDVB se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sobre la base de los 200 vientres que fueron sangrados al azar y a los cuales se les hizo un seguimiento de sus de-

sempeños reproductivos, se conformaron dos grupos sólo con los 80 animales que mostraron actividad reproductiva, utilizando su desempeño como criterio de selección: Grupo 1, desempeño deficiente (DD), integrado por 35, todos con evidencia de presentar celo, distribuidos de la siguiente manera: a) 18 novillas, 14 de las cuales quedaron vacías por IA y preñadas por MN; 3 que resultaron vacías tanto por IA como por MN y 1 que se preñó por IA pero que luego abortó. b) 7 vacas, 3 horras y 4 paridas, las cuales quedaron vacías por IA y preñadas por MN y c) 10 vacas, 6 horras y 4 paridas, 8 de las cuales resultaron vacías tanto por IA como por MN y 2 que abortaron. Grupo 2, desempeño ideal (DI), conformado por 45 vientres, todos preñados con la primera IA y que mantuvieron la preñez hasta el parto, las cuales se distribuyen de la siguiente manera: a) 17 novillas, b) 7 vacas paridas y c) 21 vacas horras. El resto de los animales (120), en su totalidad vacas que ingresaron a la ES con becerros, no mostraron celo durante el período de IA y resultaron vacías al final de la MN, por lo que se consideraron que no tuvieron actividad ovárica durante la ES. En consecuencia, no pudieron ser incorporadas en el estudio.

Los resultados obtenidos en los grupos DD y DI, durante la ES, se muestran en las TABLAS I y II, respectivamente, observándose en el primer grupo un porcentaje de preñez inferior al del segundo (69 vs. 100%).

El porcentaje de animales con anticuerpos contra el VRIB, previa a la ES, fue de 51% en ambos grupos, indicativo de que habían tenido infección con este virus. De igual forma, se detectó seroconversión para este virus en animales de ambos grupos, durante la ES, indicativo de la ocurrencia de infección por VRIB durante este período. En el grupo DD, hubo mayor proporción de animales con seroconversión que en el grupo DI, 26 y 16%, respectivamente. Este resultado pudiera hacer pensar que la infección por el VRIB, en alguna forma, influyó sobre los resultados de la preñez. No obstante, el 78 y el 100% de los respectivos animales quedaron preñados y no tuvieron interrupción de la gestación, lo que debilita la hipótesis anterior. Además, 14 de 16 vientres (87,5%) que se infectaron con el VRIB, entre ambos grupos, durante la ES, quedaron preñados, así como 25 de 27 (92,5%) de los que no se infectaron. El análisis estadístico de estos resultados mostró que no hubo asociación entre la ocurrencia de infección por VRIB y la condición de preñez ($P \leq 0,62$).

En relación al VDVB, el porcentaje de animales con anticuerpos, antes de la ES, fue ligeramente mayor en el grupo DD con respecto al grupo DI, 86 Vs 78%, indicando ocurrencia de infección en los animales de ambos grupos. El perfil serológico para este virus, en ellos, mostró un menor número de animales infectados durante la ES, en el grupo DD en comparación con el grupo DI (3 Vs 7%), lo que pudiera estar relacionado con el menor número de animales susceptibles en el primer grupo. Este resultado parece indicar que la infección por el VDVB no tuvo ninguna influencia sobre la preñez o la ocurrencia de abortos, deducción que es fortalecida al observarse que el 100% de los animales que se infectaron en el grupo DI, durante la ES, quedaron preñados y parieron en la fecha espera-

TABLA I
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DEL GRUPO DESEMPEÑO DEFICIENTE EN RELACIÓN CON SU PERFIL SEROLÓGICO PARA LOS VIRUS DE RIB Y DVB, DURANTE LA ESTACIÓN DE MONTA

Virus	Condición serológica e interpretación				Eventos reproductivos		
	Tipo	Inicio	Después	Infección	Preñez	Abortos	Vacías
R	Negativas	17 (49%)	11 (31%)	No	9 (82%)	1	2 (18%)
I	Positivas	18 (51%)	15 (43%)	Previa	8 (53%)	2	7 (64%)
B	Seroconversión		9 (26%)	Reciente	7 (78%)	0	2 (18%)
	Total	35	35		24 (69%)	3 (12,5%)	11 (31%)
D	Negativas	5 (14%)	4 (11%)	No	2 (50%)	2	2 (18%)
V	Positivas	30 (86%)	30 (86%)	Previa	22 (73%)	1	8 (73%)
B	Seroconversión		1 (3%)	Reciente	0	0	1 (9%)
	Total	35	35		24 (69%)	3	11 (31%)

TABLA II
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DEL GRUPO DESEMPEÑO IDEAL EN RELACIÓN CON SU PERFIL SEROLÓGICO PARA LOS VIRUS DE RIB Y DVB, DURANTE LA ESTACIÓN DE MONTA

Virus	Condición serológica e interpretación				Eventos reproductivos		
	Tipo	Inicio	Después	Infección	Preñez	Abortos	Vacías
R	Negativas	22 (49%)	16 (35%)	No	16(100%)	0	0
I	Positivas	23 (51%)	22 (49%)	Previa	22(100%)	0	0
B	Seroconversión		7 (16%)	Reciente	7 (100%)	0	0
	Total	45	45		45(100%)	0	0
D	Negativas	10 (22%)	7 (15%)	No	7 (100%)	0	0
V	Positivas	35 (78%)	35 (78%)	Previa	35(100%)	0	0
B	Seroconversión		3 (7%)	Reciente	3 (100%)	0	0
	Total	45	45		45(100%)	0	0

da. Tres de los 4 animales que se infectaron con este virus entre los dos grupos, durante la ES, quedaron preñados, así como 9 de 11 de los que no se infectaron en el mismo período. El análisis estadístico de estos datos mostró que tampoco hubo asociación entre la ocurrencia de infección por el VDVB y la condición de preñez ($P \leq 0,60$).

Los resultados anteriores parecen indicar que la infección de las hembras por ambos virus, durante la ES, no afectó su desempeño reproductivo, posiblemente debido a que las cepas sean poco virulentas, lo que ha sido también reportado en varios países [12, 25].

Si se analiza el perfil serológico de los 11 animales que quedaron vacíos, después de la ES, se observa que 7 (64%) tenían anticuerpos contra el VRIB, es decir, tenían algún grado

de inmunidad contra este virus [10]. Si a ello le sumamos los 2 que permanecieron sin anticuerpos, desde el inicio y durante la ES, vemos que en 9 de los 11 (82%) el VRIB difícilmente tuvo alguna responsabilidad. Situación similar se encontró con el VDVB donde 8 (73%) tenían anticuerpos contra este virus antes de la ES, es decir, que se habían infectado y, en consecuencia, tenían inmunidad por varios años [5, 8] y 2 (18%) permanecieron sin infectarse.

En el grupo DD se registraron 3 abortos (12%), no así en el grupo DI donde no hubo. El perfil serológico de estos animales mostró que ninguno había sufrido infección por el VRIB, durante la ES, y que 2 de los 3 se habían infectado con VRIB antes de la ES. Si se toma en consideración que el VRIB permanece en el bovino en estado de latencia después de la infección primaria [6, 12], existe la probabilidad de que este vi-

rus, producto de su reactivación, la cual por lo general no es acompañada de incremento significativo de los títulos de anticuerpos, hubiera participado en el aborto de estos animales [14]. Sin embargo, la misma condición existió en 22 animales del grupo DI, sin que en ninguno de ellos ocurriera aborto, lo que lleva a pensar que la probabilidad anterior es sumamente baja. El perfil serológico para el VDVB, en los 3 animales con aborto, indicó que ninguno sufrió infección por este virus durante la ES, lo cual descarta la posibilidad de que éste pudiera haber potenciado la acción de un agente abortificante, particularmente VRIB, por su efecto inmunosupresor [9]. Efecto que es común observar cuando ocurren coinfecciones virales de VDVB con otros agentes virales [21].

Por otro lado, el porcentaje de preñez del rebaño total fue de 52,6%, y 67,3% de los vientres que quedaron vacíos se encontraban lactando, lo que hace pensar que el problema reproductivo pudiera obedecer más a un problema de manejo.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sugieren que infecciones regulares por los virus de rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina ocurren en el rebaño no vacunado objeto de estudio y que tales infecciones en las hembras, durante y después del proceso de apareamiento, no interfieren significativamente con el desempeño reproductivo.

Por otro lado, se podría inferir que la incorporación de vacunas contra estos virus, en el rebaño estudiado, no mejoraría la eficiencia reproductiva y, por el contrario, aumentaría los costos de producción.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la AGROPECUARIA TRIPLE-PAR C. A, por permitir la utilización de su rebaño y colaborar con los insumos necesarios para desarrollar esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ACKERMAN, M.; BITSH, V.; EDWARD, S.; MOUSSA, A.; ROCKBORN, G.; THIRTY, E. Round table on infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control. **Vet. Microbiol.** 23: 361-363. 1990.
- [2] AMES, T. R. The causative agent of BVD: Its epidemiology and pathogenesis. **Vet. Med.** 81: 848-869. 1986.
- [3] BAKER, J. C. The clinical manifestation of bovine viral diarrhea infection. *The Veterinary Clinics of North America.* **Food Anim. Pract.** 11 (3): 521-547. 1995.
- [4] BARBER, D. M. L.; NETTLETON, P. F.; HERRING, J. A. Disease in a dairy herd associated with introduction and spread of bovine viral diarrhea virus. **Vet. Rec.** 117: 459-464. 1985.
- [5] BROWNLIE, J.; CLARKE, M.C.; HOWARD, C. J.; PO-COCK, D.H. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhea virus infection of cattle. **Ann. Rech. Vet** 18: 157-166. 1987.
- [6] DE WIT, J. J.; HAGE, J. J.; BRINKHOF, J.; WESTENBRIK, F. A comparative study of serological test for use in the bovine herpesvirus 1 eradication programme in the Netherlands. **Vet. Microbiol.**, 61: 153-163. 1998.
- [7] CORIA, M. F.; McCLURKIN, A. W. Specific immune tolerance in an apparently healthy bull persistently infected with bovine viral diarrhea virus. **J. Am. Vet. Med. Ass.** 172: 449-451. 1978.
- [8] DUFFELL, S. J.; HARKNESS, J. W. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. **Vet. Rec.**, 117: 240-245. 1985.
- [9] ELLIS, J. A.; DAVIS, W. C.; BELDEN, E. L.; PRATT, D. L. Flow cytofluorimetric analysis of lymphocytes subset alterations in cattle infected with bovine viral diarrhea virus. **Vet. Path.** 25: 231-236. 1988.
- [10] FLINT, S. J.; ENQUIST, L. W.; KRUG, R. M.; RACANELLO, V. R.; SKALKA, A. M. **Principles of Virology**, Molecular Biology, Pathogenesis and Control. A S M Press. Washington D C. 663-713 pp. 2000.
- [11] GRAHAM, K. A.; MAWHINNEY, J.; McSHANE, T. J.; CONNOR, B. M.; ADAIR, M.; MERZA, M. Standardization of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISAs) for quantitative estimation of antibodies specific for infectious bovine rhinotracheitis virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and bovine viral diarrhea virus. **J. Vet. Diagn. Invest.** 9: 24-31. 1997.
- [12] HAGE, J.J.; SCHUKKEN, Y.H.; BARKENA, H.W.; BENEDICTUS, G.; RIJSEWIJK, F.A.M.; WENTINK, G.H. Population dynamics of bovine herpesvirus 1 infection in dairy herd. **J.A.V.M.A.** 187: 716-720. 1996.
- [13] HAGE, J.J.; SCHUKKEN, Y.H.; DIJKSTRAT, T.; BARKENA, H.W.; VAN VALKENGOED PH.; WENTINK. GH. Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on dairy farm. **Prev. Vet. Med.** 34: 97-106. 1998.
- [14] KIRKBRITE, C. A. Viral agents and associated lesions detected in 10 - year study of bovine abortions and stillbirths. **J. Vet. Diagn. Invest.** 4: 374-379. 1992.
- [15] McCLURKING, A.W.; LITLEDIKE, E. T.; CUTLIP, R.C.; FRANK, G.H.; CORIA, M.F.; BOLIN, S.R. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. **J. Am Vet. Med. Ass.** 174: 1116-1119. 1984.
- [16] MILLER, J. M.; WHESTSTONE, C. A.; van der MAATEN, M. J. Abortifacient potencial of bovine herpes-

- virus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. **Am. J. Vet. Res.** 52: 458-461. 1991.
- [17] MOENING, V. Pestivirus: a review. **Vet. Microbiol.** 23: 35-54. 1990.
- [18] OBANDO, R.C.; HIDALGO, M.; MERZA, M.; MONTOYA, A.; KLINGEBORN, B.; MORENO-LÓPEZ, J. Seroprevalence to bovine virus diarrhoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure state). **Prev. Vet. Med.** 41: 271-278. 1999.
- [19] OLAFON, P.; McCALLUN, A. D.; FOX, F. H. An apparently new transmissible disease of cattle. **Cornell. Vet.** 36: 205-213. 1946.
- [20] ROCHA, M. A.; BARBOSA, E.F.; GUEDES, R.M.; LAGE, A. P.; LEITY R.C.; GOUVEA, A.M. Detection of BHV-1 in naturally infected bovine fetus by nested PCR assay. **Vet. Res. Commun.** 23: 133-141. 1999.
- [21] ROSENQUIST, B. D.; DOBSON, A W. Multiple viral infection in calves with acute bovine respiratory tract disease. **Am. J. Vet. Res.** 35: 363-365. 1974.
- [22] SCHUMAN, F.J.; JANZEN, E.D.; McKINNON, J.J. Prophylactic tilmicosin medication of feedlot calves at arrival. **Can. Vet. J.** 31: 285 - 288. 1990.
- [23] SNOWDON, W. A. The IBR - IPV virus: reaction to infection and intermittent recovery of virus from experimentally infected cattle. **Aust. Vet. J.** 41: 135-142. 1965.
- [24] STEVENS, J.G. Herpetic latency and reactivation. In: **Oncogenic viruses**. Ed. Rapp. C.R.C. Press, Boca Raton II; 1-11 pp. 1980.
- [25] WYLER, R.; ENGELS, M.; SCHWYZER, M. Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV-1). In: Wittmann, G (Ed). **Development in Veterinary Virology**. Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. Kluwer Academic Publisher, London. 1-57 pp. 1989.