

# Estudio seroepidemiológico del Herpesvirus Bovino 1 (BoHV-1) en ganado destinado al sacrificio en la región del Magdalena Medio colombiano\*

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN



Luis Mauricio Montoya-Flórez<sup>1</sup>, Oscar Alejandro Chacón-Echeverry<sup>1</sup>,  
Francisco Javier Pedraza-Ordóñez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Patología Veterinaria, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP, Sao Paulo, Brasil. Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

maomontoya53@yahoo.es

(Recibido: marzo 2, 2011; aprobado: abril 26, 2011)

**RESUMEN:** El objetivo del estudio fue identificar anticuerpos neutralizantes contra Herpesvirus Bovino 1 en la región del Magdalena Medio colombiano. Mediante la prueba de seroneutralización se analizó la presencia de anticuerpos séricos contra herpesvirus bovino en 150 animales procedentes de diferentes subregiones del Magdalena Medio colombiano que llegaron para sacrificio a la Central de La Dorada, Caldas. La prueba de seroneutralización en placa se realizó en el Laboratorio de Virología de la *Universidade Federal de Santa Maria*, Rio Grande do Sul, Brasil; se utilizó la cepa Cooper 100 TCDI50 del BoHV-1 y células MDBK. 53,3% de los animales resultaron positivos considerando el punto de corte  $1/2$ , mientras que el 45,3% fueron negativos para el agente viral. El 1,3% de los animales presentó toxicidad sobre el cultivo celular. Se presentan resultados diferenciando variables como sexo, edad, sistema productivo y procedencia de los animales seropositivos. Se discutió el significado de los anticuerpos en los bovinos. Se deben realizar investigaciones que permitan desarrollar un sistema de evaluación de riesgo y pérdidas económicas inducidas por la presencia del virus, además de establecer los puntos críticos y los momentos adecuados para la vacunación que permitan mantener el equilibrio agente, hospedador, medio. Además de recomendar la realización de nuevos estudios regionales tendientes al diagnóstico directo del agente.

**Palabras clave:** anticuerpos, hospederos, serología, seroneutralización, virus

## Seroepidemiologic study of the Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1) in the cattle destined to slaughtering in the Colombian Magdalena Medio region

**ABSTRACT:** The objective of the study was to identify neutralizing antibodies against Bovine Herpesvirus 1 in the Colombian Magdalena Medio region. Using the serum neutralization test in 150 animals from different subregions from the Colombian Magdalena Medio region who came for slaughtering in the Central Slaughter House in Dorada, Caldas, the presence of serum antibodies against bovine herpesvirus was analyzed. The serum neutralization test in plaque was performed in the virology laboratory of the Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. The Cooper 100 TCDI50 of BoHV-1 stump and MDBK cells were used. Eighty animals (53.3%) were positive considering  $1/2$  the cutoff point, while 68 (45.3%) were negative for viral agent. Two samples (1.3%) showed toxicity in cell cultures. Results differing variables such as sex, age, production system and origin of seropositive animals are presented. We discuss the significance of antibodies in bovines. Research should be conducted to develop a risk assessment system and economic losses induced by the presence of the virus, and to establish the critical points and the appropriate time for vaccination to maintain the balance agent, host, and environment. In addition, the implementation of new regional studies aimed at direct diagnosis of the agent is recommended.

**Key words:** antibodies, hosts, serology, seroneutralization, virus

\* Financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas.

## Introducción

El Herpesvirus Bovino 1 (BoHV-1) es un patógeno del ganado bovino que causa importantes pérdidas económicas en todo el mundo (Campos et al., 2009); debidas a la disminución en producción ya sea en ganado con fines productivos de carne o leche y a las bajas tasas de fertilidad por los altos índices de abortos (Zapata et al., 2002). El BoHV-1 es un virus ADN, perteneciente a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesviridae, género *Varicellovirus* (Roizman et al., 1992). El virus presenta una gran variabilidad de cepas, las cuales son serológicamente indistinguibles. Sin embargo, con base en el análisis del genoma con endonucleasas de restricción y sus respectivos patrones de migración en gel, se han clasificado en tres tipos y en cinco subtipos: BoHV-1.1, BoHV-1.2a, BoHV-1.2b, BoHV-1.3a y BoHV-1.3b (Wyler et al., 1995). Posteriormente, los subtipos BoHV-1.3a y BoHV-1.3b fueron reclasificados como BoHV-5, el cual presenta un alto potencial neuropatogénico (Büchen-Osmond, 1998). El BoHV-1 presenta un rango amplio de posibles hospederos y alta capacidad para establecer infección latente. El ciclo reproductivo es relativamente corto, y crecen fácilmente en cultivos celulares (Roizman & Pellett, 2001; Jones, 2003). El virus afecta naturalmente al bovino, especie en la que provoca la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), enfermedad respiratoria caracterizada por rinitis, traqueítis y fiebre, además de la vulvovaginitis/balanopostitis pustular infecciosa (VPI/BPI) y aborto (Kahrs, 2001). Por lo que algunos autores sugieren que el BoHV-1 es el más grande patógeno del ganado (Weiblen et al., 1992). Otros trastornos que produce este virus incluyen conjuntivitis, queratoconjuntivitis, enteritis (Takiuchi et al., 2005) y enfermedad neurológica (Silva et al., 2007), aunque la afinidad por este sistema se relaciona más con el BoHV-5, que produce meningoencefalitis fatal (Meyer et al., 2001; Rissi et al., 2007).

En Colombia el BoHV-1 es uno de los agentes más ampliamente distribuidos y se sospecha que es uno de los mayores generadores de pérdidas

económicas en la producción ganadera (Ruiz et al., 2010). El virus fue reportado por primera vez en la década del setenta (CIAT, 1972), desde entonces se han realizado diferentes estudios seroepidemiológicos (Zapata et al., 2002; Betancur et al., 2006) y aislamiento de algunas cepas nativas. Las primeras a comienzos de los años 70 (CIAT, 1972, 1975); otra a mitad de los años 90 a partir de muestras tomadas en los Llanos Orientales (Molano et al., 1996); y más recientemente una en la Sabana de Bogotá en 2001 (Piedrahita et al., 2005) y otra en Córdoba (Vera & Betancur, 2008). El alto número de relatos de campo de enfermedad reproductiva en bovinos de la región del Magdalena Medio, motivó la realización de esta investigación que tuvo como objetivo obtener información serológica de la presencia de este virus en la región, buscado aportar datos que en un futuro faciliten el establecimiento de un mapa epidemiológico regional y la búsqueda de medidas de prevención y control de la enfermedad.

## Materiales y Métodos

### Tipo de estudio y animales

Se realizó un estudio descriptivo con fuentes de información primarias y secundarias. El estudio se realizó a partir de un muestreo aleatorio en bovinos procedentes de diferentes departamentos de la región del Magdalena Medio, que llegaron durante dos días a la Central de Sacrificio FRIOGAN ubicada en el municipio de La Dorada, departamento de Caldas. Se tomaron un total de 150 muestras de suero de igual número de animales, utilizando punción de la vena coccígea media de forma aséptica.

De cada animal se registró información sobre la edad, sexo, raza, procedencia, tipo de explotación y plan sanitario al que fue sometido. Luego de coleccionar las muestras de sangre en tubos de ensayo, fueron centrifugadas a 500 G durante 10 minutos y los sueros almacenados en Eppendorf de 1,5 ml, posteriormente fueron transportados en refrigeración hasta el Laboratorio de Patología de la Universidad de Caldas.

Las muestras fueron congeladas a menos 20°C, y posteriormente se llevaron al Laboratorio de Virología de la UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil, para realizar la prueba de seroneutralización en placa en busca de anticuerpos contra el Herpesvirus Bovino 1.

### Prueba de seroneutralización

Después de la inactivación de los sueros a 56°C durante 30 minutos, alícuotas de 50 µL del suero fueron diluidas en medio esencial mínimo (MEM) desde la primera dilución (1:2) hasta la última (1:256), y fueron incubadas por dos horas a 37°C con una concentración constante de virus (100 TCDI50 [dosis infectivas en cultivo celular]) de la cepa Cooper del BoHV-1 en placas de polietileno de 96 pozos. Terminado el tiempo de incubación, una suspensión de 4 x 10<sup>6</sup> células MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) en MEM fue adicionada en cada una de las cavidades de la placa. Posteriormente, el complejo fue incubado en una cámara de CO<sub>2</sub> al 5% y a 37°C durante tres días. Al concluir este tiempo, se realizó la respectiva lectura, en la cual se consideró como positivos a los sueros que inhibieran el 100% del efecto citopático (ECP) causado por el virus (un suero negativo no tiene anticuerpos contra el virus y, por lo tanto, las células MDBK son destruidas en el momento de adicionar la cepa viral).

### Análisis estadístico

El análisis se realizó mediante estadística de tipo descriptiva utilizando el programa Microsoft® Excel® 2007 para Windows®.

### Resultados

Teniendo en cuenta como punto de corte la dilución 1:2, 80 animales (53,3%) resultaron positivos para Herpesvirus Bovino 1, 68 (45,3%) fueron negativos y dos muestras presentaron toxicidad. En la Tabla 1 se observan los casos positivos en ocho títulos diferentes (sueros diluidos desde 1/2 hasta 1/256), además de los casos negativos (un suero negativo en la dilución más

pequeña, seguirá comportándose negativo en las siguientes diluciones) y los resultados “tóxicos”, que son el producto del deterioro del cultivo celular por la muestra de suero, lo cual ocurre debido a la presencia de eritrocitos o alguna otra sustancia que inhibe el crecimiento de la célula.

Teniendo en cuenta que en la región del Magdalena Medio existen varios departamentos de Colombia, los bovinos reactores positivos que procedían de Cundinamarca correspondieron al 47,5% del total, seguido por animales que venían del departamento de Santander (26%), mientras que con porcentajes inferiores al 10% estuvieron los restantes semovientes que procedían de Antioquia, Caldas y Boyacá. Respecto a la edad y por la característica de los animales que entran a las centrales de sacrificio, el 85% de los animales seropositivos se encontraba entre 24 y 48 meses, mientras que el 15% restante correspondió a individuos más viejos. Discriminando por sexo, los machos representaron el 60% y las hembras el restante 40% del total de animales. El 90% de los animales procedía de explotaciones dedicadas al engorde de los mismos y solo un 10% procedía de ganaderías de doble propósito, por lo tanto, la raza Cebú representó el 85% del total de animales, mientras que el 15% restante fueron mestizos. El 100% de los animales recibió vacuna anti-aftosa y no se pudo establecer si los animales recibieron vacuna contra IBR.

### Discusión y Conclusiones

Si bien el 53% (80/150) de los sueros analizados presentaron anticuerpos contra el BoHV-1 durante la prueba de seroneutralización en placa, no se puede afirmar que el 100% de estos anticuerpos son el producto de una respuesta humoral contra una cepa viral de campo, debido a que no se pudo establecer en el momento del muestreo si los animales recibieron vacuna contra la IBR; no obstante, puede resaltarse que los animales con títulos entre 1/32 y 1/64 que correspondieron a un 16% (24/150) (ver Tabla 1), sugieren la presencia de infección subclínica por el BoHV-1 y concuerda con lo descrito por

autores como Rivera et al. (2004), quienes relatan que las infecciones subclínicas por el virus son una condición generalmente presente en bovinos adultos; de igual forma, los títulos entre  $1/_{128}$  y  $1/_{256}$  que representaron un 2% (3/150) de los sueros, indican una presencia activa del virus en los animales o su reactivación como consecuencia de factores estresantes tales como transporte y/o las prácticas de manejo. Por ello, en este caso se puede considerar que estos títulos fueron el producto del desafío con cepas virales de campo e implicó que los bovinos con esta condición fueran responsables por el mantenimiento y/o la perpetuación del virus en los hatos.

**Tabla 1.** Título de anticuerpos neutralizantes contra Herpesvirus Bovino 1 en bovinos de la región del Magdalena Medio.

Título	No. de muestras	(%)
$1/_{2}$	8	5,3
$1/_{4}$	5	3,3
$1/_{8}$	20	13,3
$1/_{16}$	20	13,3
$1/_{32}$	13	8,6
$1/_{64}$	11	7,3
$1/_{128}$	2	1,3
$1/_{256}$	1	0,6
Tóxico	2	1,3
Negativo	68	45,3
Total	150	100,0

Los títulos menores a  $1/_{32}$  correspondieron al 35% (53/150) de los sueros evaluados, el análisis de estas titulaciones es diferente, debido a que su presencia pudo ser el producto de anticuerpos contra vacunas anti-BoHV-1 o contra virus de campo; sin embargo, en este estudio, la posibilidad de interferencia de anticuerpos pos-vacunales sobre los resultados se considera baja debido a que el 90% de los sueros analizados procedían de animales dedicados al engorde.

Por otro lado, al analizar las variables registradas en cada uno de los animales, es necesario aclarar que el sistema oficial colombiano de inspección, vigilancia y control de la carne, en el Decreto 1500 de 2007 regula las características de los

bovinos que ingresan a la Central de Sacrificio e incide de forma directa sobre estas. Por lo tanto, esta razón determinó que un alto porcentaje de animales estuviera en edades que oscilaron entre los 24 y 48 meses; sin embargo, es importante anotar respecto de la presentación de anticuerpos contra el BoHV-1, que esta edad es óptima para evitar la detección de anticuerpos maternos, lo que garantiza que los anticuerpos en los animales seropositivos son el producto del virus de campo o en su defecto anticuerpos pos-vacunales.

Asimismo, se debe resaltar que los bovinos en esta fase etaria, se encuentran en una etapa de producción muy exigente que supone mayores niveles de estrés en los animales, lo que es determinante en los casos de infección natural para la reactivación de la latencia viral (Betancur et al., 2006). Igualmente, es en este período donde en algunas explotaciones especialmente las dedicadas al doble propósito o a la cría, se llevan a cabo los programas de prevención de la enfermedad a través de la vacunación y, como efecto, se favorece la presencia de anticuerpos pos-vacunales, que dificulta la interpretación de los resultados serológicos facilitando la confusión con reacciones generadas por virus de campo (Lemaire et al., 1995). Sin embargo, en este estudio, solo un 10% de los animales muestreados procedía de explotaciones de doble propósito y ninguno procedía de una explotación dedicada a la cría, por ello se asume que la interferencia de anticuerpos pos-vacunales durante la prueba de seroneutralización es baja.

En cuanto al tipo de sistema productivo, el mayor número de animales muestreados procedía de ganaderías dedicadas al engorde, lo que se relaciona directamente con la aptitud productiva de la región y no con una mayor susceptibilidad de este grupo de animales ante el virus. De la misma manera, este tipo de sistemas incide de forma directa sobre la proporción de animales de una determinada raza y en algunos casos sobre el tipo de sexo; por ello, la mayoría de animales muestreados era de la raza Cebú o cruces de esta y el 60% fueron machos. En estas ganaderías dedicadas exclusivamente al engorde, se espera



que ningún animal reciba vacuna contra IBR debido a que estos sistemas no tienen un fin reproductivo, por eso, se puede admitir que los títulos contra el BoHV-1 en este grupo de animales, son el resultado directo de la exposición al agente o la reactivación de la latencia viral, por lo tanto, en este estudio se consideró que el 90% de los animales estuvo expuesto a cepas virales de campo en alguna etapa de su vida, y permite suponer que el virus se encuentra circulando en las regiones de las que procedían los bovinos.

La interpretación de los títulos en aquellas ganaderías dedicadas al doble propósito (10%) (reproducción y producción de leche), es un poco diferente debido a las prácticas de manejo que en general son más intensivas que en el sistema de engorde, lo que posibilita una mayor facilidad de transmisión del agente viral (Médici et al., 2000). Igualmente, porque en este tipo de sistemas el virus puede ser transmitido desde machos infectados a hembras o viceversa. En este sentido, en múltiples estudios se ha reportado la importancia de los toros infectados como fuente de transmisión y diseminación de la infección por vía venérea (Góngora et al., 1995; Betancur et al., 2006). De igual manera, las vacas también desempeñan un importante papel epidemiológico, ya que pueden reactivar y excretar virus con capacidad infecciosa (Ruiz et al., 2010). Así mismo, en este tipo de ganaderías, no se puede descartar el uso de vacunas (especialmente a virus vivo atenuado) como potencial fuente de infección. De acuerdo a Zapata et al. (2002), el virus vivo atenuado se puede replicar en el animal, establecer latencia y excretarse para infectar otros individuos susceptibles, lo que sugiere que esta pueda ser otra posible explicación del origen de los anticuerpos en los animales procedentes de este sistema.

Respecto de la procedencia de los animales, se debe destacar que los socios comerciales que tiene la Central de Sacrificio desempeñan un rol importante sobre el número de animales procedentes de un departamento en particular, por lo que estos resultados no deben tomarse como indicativo epidemiológico que diferencie

los departamentos del Magdalena Medio sobre la presencia de Herpesvirus Bovino, sin embargo, estos títulos permiten suponer una amplia distribución del BoHV-1 en la región.

Desafortunadamente, en esta ocasión no se dispuso del historial sanitario de los animales, pero el hallazgo de altos títulos serológicos es indicativo de la presencia del virus en los hatos y puede estar asociado con trastornos del tracto reproductivo o respiratorio de los bovinos de estas regiones, con consecuencias económicas negativas para el sistema. De la misma manera, es importante revisar las medidas de prevención y control de la enfermedad, pues la normatividad vigente para la movilización de bovinos en el país, no contempla enfermedades infecciosas como la IBR, lo que facilita que esta infección pueda ser introducida desde zonas endémicas a zonas libres donde podría difundirse rápidamente a animales susceptibles con consecuencias nefastas.

En conclusión, basados en los resultados de la investigación y en estudios previos realizados por el grupo de investigación en la misma región (Piedrahita et al., 2010), es necesario que en la zona se desarrollen sistemas de evaluación de riesgo y pérdidas económicas inducidas por la presencia del virus, además de establecer los puntos críticos y los momentos adecuados para la vacunación que permitan mantener el equilibrio agente, hospedador, medio y evitar las pérdidas económicas. Además de recomendar la realización de nuevos estudios regionales tendientes al diagnóstico directo del agente por aislamiento viral, se puede hacer uso de la prueba PCR (Reacción de Cadena de la Polimerasa) o de la Inmunohistoquímica con el fin de caracterizar las cepas presentes en la región.

### **Agradecimientos**

Al personal de la Central de Sacrificio FRIOGAN en el municipio de La Dorada (Caldas), y al personal del Sector de Virología de la Universidad Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul en Brasil.

## Referencias Bibliográficas

- Betancur, H.C.; González, T.M.; Reza, G.L. Seroepidemiología de la Rinotraqueitis infecciosa bovina en el municipio de Montería, Colombia. *Rev. MVZ*, Córdoba, 11(2), p.830-836, 2006.
- Büchen-Osmond, C. Alphabetical List of ICTV approved Virus Families and Genera. **Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Created April, 1995. Última actualización: 8 de abril de 1998. Revisado: octubre de 2010.
- Campos, F.S.; Franco, A.C.; Hübner, S.O.; Oliveira, M.T.; Silva, A.D. et al. High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Vet Mic*, 139, p.67-73, 2009.
- CIAT. **Reportes Anuales**. 1972, 1973, 1974, 1975. p.39-40.
- Góngora, A.; Villamil, L.C.; Vera, V.; Ramírez, G.; Parra, J. Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de la Sabana de Bogotá. Énfasis en RIB. *Rev. Med Vet Zoot*, 43, p.37-41, 1995.
- Jones, C. Herpes Simplex Virus Type 1 and Bovine Herpesvirus 1 Latency. *Clin Microbiol Rev*, 16, p.79-95, 2003.
- Karhs, R.F. **Infectious bovine rhinotracheitis a infectious Vulvovaginitis**. In: *Viral diseases of cattle*. 2.ed. Ames: Iowa State University, 2001. p.159-170.
- Lemaire, M.; Meyer, G.; Ernest, E.; Wanherreweghe, B.; Limbourg, P.; Pastoret, P.P.; Thiry, E. Latent bovine herpesvirus 1 infection in calves protected by colostral immunity. *The Veterinary Record*, 137(3), p.70-1, 1995.
- Médici, K.C.; Alfieri, A.A.; Alfieri, A.F. Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1 decorrente de infecção natural em rebanhos com distúrbios reprodutivos. *Ciência Rural*, Santa Maria, 30(2), p.347-350, 2000.
- Meyer, G.; Lemaire, M.; Ros, C.; Belak, K.; Gabriel, A.; Cassart, D.; Coignoul, F.; Belak, S.; Thiry, E. Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with bovine herpes virus type 1 and 5. *Arch Virol*, 146, p.633-652, 2001.
- Ministerio de la Protección Social. **Decreto 1500 de mayo 4 de 2007**. p.41.
- Molano, D.; Rodríguez, J.L.; Ramírez, G.; Villamil, L.C. Caracterización electroforética e inmunológica de una cepa de campo del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y su comparación con cepas de referencia. *Rev Med Vet Zoot*, 44, p.35-8, 1996.
- Piedrahita, D., Ramírez, G., Vera, V. Detección y caracterización por métodos moleculares de aislamientos colombianos de Herpesvirus bovino tipo 1. *Rev Fac Med Vet Zoot*, 52, p.122-127, 2005.
- Piedrahita, L.E.; Montoya, L.M.; Pedraza, F.J. 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. *Rev Colomb Cienc Pec*, 23, p.191-198, 2010.
- Rissi, D.R.; Rench, R.R.; Flores, E.F.; Kommers, G.D.; Barros, C.S. Meningoencefalitis por herpes bovino-5. *Pesq vet Bras*, 27(7), p.251-260, 2007.
- Rivera, H.G.; Benito, A.Z.; Ramos, O.C.; Manchego, A. Prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de la Estación Experimental de Trópico del Centro de Investigaciones IVITA. *Rev. Inves. Vet.*, Perú, 15(2), p.83-86, 2004.
- Ruiz-Sáenz, J.; Jaime, J.; Vera, V.J. Prevalencia serológica y aislamiento del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) en hatos ganaderos de Antioquia y del Valle del Cauca. *Rev Colomb Cienc Pec*, 23, p.299-307, 2010.
- Roizman, B. et al. The family herpesviridae on update. *Arch virol*, v.123, p.425-499, 1992.
- Roizman, B.; Pellett, P.E. **The family herpesviridae: A brief introduction**. In: Knipe, D.M.; Howley, P.M. (Eds.). *Fields Virology*. 4.ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p.2381-2397.
- Silva, M.S.; Brum, M.C.S.; Loreto, E.L.S.; Weiblen, R.; Flores, E.F. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. *Virus Res*, 129, p.191-199, 2007.
- Takiuchi, E.; Medici, K.C.; Alfieri, A.F. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi-nested PCR in Brazilian cattle herds. *Rev Vet Sci*, 79, p.85-88, 2005.
- Vera, V.; Betancur, C. Aislamiento del virus herpes bovino tipo 1 en bovinos del departamento de Córdoba, Colombia. *Rev MVZ*, Córdoba, 13, p.1495-1503, 2008.
- Weiblen, R. **Doenças víricas que interferem na produção leiteira**. In: Charles, T.P.; Furlong, J. (Eds.). *Doenças dos Bovinos de Leite Adultos*. Coronel Pacheco. EMBRAPA CNPGL, 1992. p.45-62.
- Wyler, R.; Engels, M.; Schwyzer, M. **Infectious Bovine Rhinotracheitis/ Vulvovaginitis (BHV-1)**. Institute of Virology, University of Zurich, 1995. p.1-55.
- Zapata, J.C.; Ossa, J.E.; Zuluaga, F.N. Actualización de los viejos enigmas y visión de futuro de la RIB en Colombia. *Rev Colomb Cienc Pec*, 15, p.155-159, 2002.