

# EVIDENCIA SEROLÓGICA DE HERPESVIRUS BOVINO 5 (BoHV-5) EN BOVINOS DE LA REGIÓN DE LOS LLANOS ORIENTALES DE COLOMBIA

## Serological Evidence of Bovine Herpesvirus 5 (BoHV-5) in Cattle at the Colombia's Eastern Plains

**Francisco Pedraza-Ordóñez<sup>1\*</sup>, Juan Pablo López<sup>2</sup>, Jaime Alberto Ávila<sup>2</sup>,  
Antonio Carlos Alessi<sup>3</sup> y Eduardo Furtado Flores<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Manizales Colombia. Doutorando FCAV-UNESP, Bolsista do CNPq, Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil. E-mail: fpedraza@ucaldas.edu.co. <sup>2</sup> Grupo de Investigación en Patología Veterinaria, Universidad de Caldas, Manizales Colombia. <sup>3</sup> Departamento de Patología, Universidad Estadual Paulista, Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil. <sup>4</sup> Departamento de Medicina Preventiva, Universidad Federal de Santa María, Río Grande do Sul, Brasil.

### RESUMEN

Varias enfermedades afectan el sistema nervioso de los bovinos entre las que se destacan las infecciones con los virus de la rabia y el herpes virus bovino 5 (BoHV-5). Con el fin de detectar animales seropositivos al BoHV-5 se analizaron mediante la técnica de seroneutralización en placa, muestras de sangre de 156 bovinos de la raza Cebú-Brahman comercial, procedentes de la región de los llanos orientales colombianos donde existen antecedentes de animales muertos con síntomas nerviosos y en los cuales se descartó la enfermedad de la rabia. Todos los animales estudiados fueron mayores a un año de edad, aleatoriamente seleccionados en dos hatos diferentes que reportaron la ausencia de vacunación para rinotraqueitis infecciosa bovina en un período de tiempo superior a un año. Los resultados indicaron seropositividad para BoHV-5 en 91 casos (58,4%), de los cuales 88 fueron seropositivos también para el Herpes Virus Bovino 1 (BoHV-1), mientras que 41 resultaron seronegativos para los dos agentes etiológicos. De 64 casos seronegativos para el BoHV-5, 22 fueron seropositivos para BoHV-1 y de 43 casos seronegativos para BoHV-1, dos casos fueron seropositivos para BoHV-5, permitiendo presumir que tales animales podrían estar infectados exclusivamente con el virus de la encefalitis herpética. Con estos primeros hallazgos se hace énfasis sobre la necesidad de establecer el verdadero impacto de la enfermedad en el país y se propone la observación epidemiológica de los bovinos en la región estudiada para establecer mecanismos de control de esta infección viral.

**Palabras clave:** Seroneutralización, encefalitis bovina, herpesvirus bovino 5.

### ABSTRACT

Several diseases involve the nervous system of cattle, among which infections with Rabies Virus and Bovine Herpes Virus 5 (BoHV-5) are noteworthy. In order to detect seropositive animals to BoHV-5, 156 Brahman-Zebu bovines' blood samples from Colombia's eastern plains were analyzed through seroneutralization assay; the area has a history of animals dying with nervous symptoms and which rule out the disease of rabies. All animals were over one year old and randomly selected from two different herds reporting no vaccination for infectious bovine rhinotracheitis in a period exceeding one year. Results indicated seropositivity for BoHV-5 in 91 cases (58.4%), of which 88 were also seropositive for bovine herpes virus 1 (BoHV-1), while 41 were seronegative for both agents. 22/64 seronegative cases for BoHV-5 were seropositive for BoHV-1 and 2/43 seronegative cases for BoHV-1 were seropositive for BoHV-5, and consequently, these animals could be only infected by encephalitis herpes virus. With these initial findings, emphasis its placed on the need establish the true impact of the disease in Colombia and proposes the epidemiological surveillance of cattle in the region studied in order to establish mechanisms for control of viral infection.

**Key words:** Bovine encephalitis, bovine herpesvirus 5, seroneutralization.

## INTRODUCCIÓN

Los primeros casos de meningoencefalitis herpética se describieron en Australia [9], Estados Unidos de América [1, 7], Canadá [3], Hungría [2] y Argentina [5]. Inicialmente se pensó que el agente etiológico era el BoHV-1, responsable también de la enfermedad respiratoria y reproductiva, sin embargo, debido a la presentación de brotes de la enfermedad en bovinos (*Bos taurus-indicus*) con signos clínicos exclusivamente neurológicos, se concluyó que se trataba de un herpesvirus con características de neuropatogenicidad [11, 28, 29]. En 1986, usando técnicas moleculares se denominó este agente como herpes virus bovino tipo 1.3 [15] y en 1992, el Comité Internacional de taxonomía viral propuso que el virus de la encefalitis bovina se denominara BoHV-5 [18]. Recientemente se aclaró que, algunas cepas de BoHV-1 también pueden causar encefalitis y se discute el papel de estos dos virus en la enfermedad neurológica [23]. La encefalitis por BoHV-5, clínicamente es similar a la polioencefalomalacia por deficiencia de tiamina, las intoxicaciones por sal, plomo o sulfuros, e inclusive puede confundirse con la rabia parálitica bovina [16, 21].

El virus penetra por vía aérea replicándose en la mucosa del tracto respiratorio superior y en las tonsilas; posteriormente se disemina por el nervio trigémino alojándose en los ganglios sensoriales donde puede permanecer en estado de latencia o causar una viremia leve con síntomas asociados a la infección herpética [6]. La primoinfección provoca una respuesta inmune detectable por seroneutralización después de 10 días y luego de alcanzar niveles máximos tiende a descender para permanecer indefinidamente con títulos bajos [8]. A lo largo de la vida del animal pueden ocurrir nuevas infecciones o estados de reactivación viral generalmente inducidas por estímulos negativos como el parto, transporte, tratamientos inmunosupresores con corticoides, súper infección con otros microorganismos y radiación ultravioleta entre otros. La latencia en los alfa herpesvirus involucra el mantenimiento del ADN viral en forma extracromosomal, típicamente en las neuronas de los ganglios sensoriales trigémino y sacro [6]. Otra vía de ingreso viral es el nervio olfatorio llegando hasta el cerebro y causando signos neurológicos agudos [12].

A la necropsia, no siempre hay lesiones, pero se puede observar pérdida en la profundidad de las circunvoluciones cerebrales y un reblandecimiento cortical que generalmente se torna de color amarillento. Histológicamente se observa necrosis neuronal, gliosis, ruptura del neuropilo y manguitos perivasculares mononucleares principalmente de linfocitos y macrófagos (células gitter), las lesiones son concluyentes por los severos cambios citonecroticos en ambos hemisferios cerebrales [19]. La encefalitis muestra su especificidad por los cuerpos de inclusión eosinofílicos intranucleares, los cuales están presentes en astrocitos y neuronas [10].

El propósito de la presente investigación fue la detección de bovinos seropositivos a los herpesvirus BoHV-1 y BoHV-5, con particular énfasis en este último que es el responsable de

la enfermedad nerviosa y teniendo en cuenta, que en la región de los llanos orientales colombianos se relata con frecuencia la muerte de algunos animales en condiciones naturales con síntomas nerviosos, sin que hasta el momento se haya establecido su causa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de estudio y tipo de explotación

El presente estudio se realizó en la vereda Cristalina, municipio de Puerto Gaitán, departamento del Meta, Colombia, región que corresponde a un bosque húmedo tropical (bh-t), con una temperatura superior a 24°C, precipitación promedio de 3.000 mm/año, altitud promedio de 500 m.s.n.m., la topografía presenta áreas onduladas y llanura, con dos periodos climáticos marcados uno de sequía y otro de lluvias [27]. El sistema de producción era generalmente de cría extensiva mejorada, compuesta en su gran mayoría por bovinos de las razas Cebú Brahman comercial. En la región se utiliza el sistema de monta natural (un toro por cada quince hembras) y existen aproximadamente 200.000 cabezas en explotaciones dedicadas a la producción de terneros y venta de machos destetados, mientras que las hembras se destinan al reemplazo de las vacas. Los animales son nacidos y criados en la misma región. Los potreros están constituidos por pastos nativos en su mayoría *Axonopus purpusii* y algunas brachiarias (*B. decumbens*, *B. dictyoneura*, *B. humidicola*).

### Animales y muestras

En dos explotaciones pecuarias se muestrearon de manera aleatoria 156 bovinos de la raza Cebú-Brahman comercial de ambos sexos, mayores de un año de edad (para evitar la detección de anticuerpos maternos), obteniendo muestras de sangre por punción de la vena yugular. Cien animales correspondieron al primer ható que en el momento de realizar esta investigación contaba con 8.000 animales y 56 al segundo ható, que tenía en ese mismo momento 1.600 animales. El plan sanitario del lugar incluye protección contra brucela, aftosa, carbón sintomático, edema maligno, septicemia hemorrágica y en algunos animales, una vacuna polivalente que incluye rinotraqueitis infecciosa bovina (Vira Shield®, Novartis Animal Health Inc., EUA). Los bovinos del primer ható, que habían sido inmunizados con esta última vacuna llevaban dos años sin recibirla, mientras que en los del segundo ható, ese periodo de tiempo fue superior a un año. Debido a que no se vacunaron todos los animales y al tiempo que llevaban sin este tipo de inmunización se consideró baja la probabilidad de detección de anticuerpos vacunales.

El tamaño de la muestra se hizo de acuerdo a lo recomendado por Thrusfield [26] para grandes poblaciones (teóricamente infinitas) con la fórmula:

$$n = 1,96^2 P esp (1 - P esp) \div d^2$$

donde,  $n$  es igual al tamaño de la muestra, 1,96 es una constante para un intervalo de confianza del 95%,  $P$  esp es la prevalencia esperada, que en este caso fue de 50% por la carencia de trabajos previos en la región [26] y  $d$  es la precisión absoluta deseada (en este caso 10%). Reemplazando en la fórmula el tamaño de la muestra en este estudio fue un número mínimo de 96 animales.

La sangre fue recogida en tubos de ensayo sin anticoagulante para obtener el suero por métodos estándares conocidos (usando una centrifuga eléctrica Janetzi T-32, Shanghai Chemical Machinery Plant Co. Shanghai, China), colocando luego los sueros en tubos plásticos de 2 mL dentro de una caja térmica con hielo y así fueron transportados hasta el laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad de Caldas donde se conservaron a una temperatura de menos 20°C (Freezer Stabletemp®, Cole-Parmer, Vernon Hills, Illinois, EUA) hasta la realización de la prueba de neutralización viral.

#### Prueba de seroneutralización

Los sueros fueron transportados hasta el laboratorio de Virología de la Universidad Federal de Santa Maria (UFMS), Rio Grande do Sul, en Brasil, donde se realizaron las pruebas serológicas (seroneutralización en placa) para lo cual en primera instancia se hace una dilución en serie geométrica y uniformemente espaciada con base uno en dos (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256) en una placa de 96 pozos que contiene una concentración constante de virus (TCDI/100). Se utilizaron las cepas Cooper del BoHV-1 y SV507 del BoHV-5. Posteriormente se adicionaron células (CRIB) y se incubó todo el complejo durante 72 horas a 37°C (estufa incubadora microprocesada B.O.D. modelo Q315M16, Quimis®, Sao Paulo, Brasil). La interpretación de los resultados consistió en detectar la dilución del suero capaz de inhibir la replicación viral y a partir de ese momento considerar el título serológico.

#### Punto de corte

El punto de corte en la presente investigación se fijó en la dilución 1/2 de acuerdo a la estandarización previa de la técnica [8]. Por otro lado y teniendo en cuenta que el objetivo del trabajo consistió en detectar animales seropositivos, se interpretó la prueba direccionándola para aumentar la sensibilidad con sacrificio de la especificidad, lo cual es válido cuando se hace un gran levantamiento de datos de tipo corte transversal que es inicialmente conducido para detectar una enfermedad, es decir, de esta forma no se pretende entregar diagnósticos definitivos, sino, detectar tantos casos como sean posibles [26].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican que los animales muestreados estuvieron en contacto con antígenos de ambos herpesvirus bovinos (BoHV-1 y BoHV-5). En la TABLA I se observan los resultados de la seroneutralización en ocho diluciones diferen-

**TABLA I**  
**SERONEUTRALIZACIÓN PARA BoHV-1 y BoHV-5**  
**EN BOVINOS COLOMBIANOS EN DIFERENTES**  
**DILUCIONES DEL SUERO**

Dilución	BoHV-1		BoHV-5	
	No.	%	No.	%
1/256	1	0,6	0	0
1/128	1	0,6	3	1,9
1/64	5	3,2	9	5,8
1/32	21	13,5	14	9,0
1/16	29	18,6	19	12,2
1/8	19	12,2	16	10,3
1/4	12	7,7	20	12,8
1/2	22	14,1	10	6,4
Toxico *	3	1,9	1	0,6
Negativo	43	27,6	64	41,0
Total	156	100,0	156	100,0

\* Indica que la muestra es tóxica para el cultivo celular, probablemente ocurre debido a la presencia de eritrocitos o alguna otra sustancia que inhibe el crecimiento de la célula.

tes (desde 1/2 hasta 1/256), los resultados “tóxicos” corresponden a muestras donde el suero deterioró el cultivo celular, lo cual probablemente ocurrió debido a la presencia de eritrocitos o alguna otra sustancia inhibidora del crecimiento de la célula. Se prestó especial atención a los resultados en la dilución 1/64 (TABLA II), en los que 7 casos fueron seropositivos para BoHV-1 (4,4%) y 12 casos para BoHV-5 (7,7%), porque los seropositivos en una dilución alta como esta, representan animales con una gran cantidad de anticuerpos, lo cual ocurre cuando hay una infección reciente, una reactivación viral o un título vacunal, recordando que en los bovinos muestreados se concluyó la inexistencia de anticuerpos vacunales.

En general, ochenta y ocho casos fueron seropositivos para ambos herpesvirus mientras que 41 resultaron seronegativos para los dos agentes etiológicos (en la primera dilución). De todos los casos seronegativos para BoHV-1, dos casos fueron seropositivos para BoHV-5, lo cual podría ser un indicio de especificidad de agentes, permitiendo presumir, que estos dos animales estaban exclusivamente infectados con el virus de la encefalitis herpética. Respecto de los casos seronegativos para el BoHV-5, 22 casos fueron seropositivos para BoHV-1. Estos resultados se observan en la TABLA III.

La encefalitis en bovinos puede tener varias etiologías incluyendo agentes infecciosos, metabólicos y tóxicos, la infección con el BoHV-5 clínicamente se puede confundir con cualquiera de las entidades que afectan el sistema nervioso de los bovinos [13, 25]. La presente investigación demostró serológicamente la presencia del BoHV-5 en bovinos de la región de los llanos orientales de Colombia, zona cercana a la frontera con Venezuela y Brasil. En esta importante zona ganadera de Colombia existen relatos sobre animales que murieron con

**TABLA II**  
**RESULTADOS DE SERONEUTRALIZACIÓN PARA BoHV-5**  
**EN BOVINOS COLOMBIANOS COMPARANDO DOS**  
**DILUCIONES DIFERENTES**

Resultado	Dilución 1/2		Dilución 1/64	
	No.	%	No.	%
Positivo	91	58,4	12	7,7
Sospechoso	0	0	79	50,6
Tóxico	1	0,6	1	0,6
Negativo	64	41,0	64	41
Total	156	100,0	156	100,0

**TABLA III**  
**NÚMERO DE ANIMALES SIMULTÁNEAMENTE**  
**SEROPOSITIVOS PARA BoHV-5 Y BoHV-1 POR**  
**SERONEUTRALIZACIÓN (TÍTULO 1:2) EN MUESTRAS**  
**DE BOVINOS COLOMBIANOS**

		BoHV-5			Total
		Positivo	Negativo	Tóxico	
BoHV-1	Positivo	88	22	0	110
	Negativo	2	41	0	43
	Tóxico	1	1	1	3
Total		91	64	1	156

síntomas nerviosos y que en algunos casos han quedado sin el establecimiento de un diagnóstico definitivo, Benavides reportó que, animales de la orinoquía colombiana sufrían muerte súbita debido al uso de pesticidas y a parásitos como el *Sarcocystis bovis* y aunque no relata diagnósticos directos menciona la posibilidad de existencia de enfermedades como botulismo y rabia [4].

Respecto al diagnóstico, las pruebas más comúnmente usadas para identificar el BoHV-5 son seroneutralización en placa, inmunohistoquímica y reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) [24]. En Colombia hasta el momento, no se aplican de manera rutinaria técnicas de diagnóstico específicas que permitan diferenciar entre el virus de la rabia y el BoHV-5, lo cual debería implementarse para tener una mejor organización en el control epidemiológico con estas enfermedades que causan grandes pérdidas económicas para los productores pecuarios [21]. Aunque el BoHV-5 en Colombia todavía no ha sido oficialmente reportado por el Ministerio de Agricultura [13], estudios previos de bovinos colombianos que murieron con encefalitis viral, revelaron cinco animales positivos al BoHV-5 por recuperación de su material genético mediante nested-PCR en el Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Minas Gerais en Belo Horizonte, Brasil [14].

En este estudio se incluyó la detección de anticuerpos contra BoHV-1, debido a la posible reacción cruzada con el BoHV-5 en su identificación y porque se trata de un virus que desde hace varios años ha sido asociado a la enfermedad re-

productiva en bovinos en Colombia [30]. No hubo relación entre la condición de seropositividad y el tipo de virus involucrado, es decir, animales seropositivos para BoHV-5 fueron seronegativos para BoHV-1 y viceversa. Esto, sumado a la alta sensibilidad de la prueba utilizada [8], permite concluir que por lo menos, en los hatos analizados es posible la existencia del BoHV-5, siendo entonces absolutamente necesario, realizar nuevas investigaciones tendientes al diagnóstico directo del agente y su asociación con la responsabilidad en la muerte de animales con síntomas nerviosos.

La falta de conocimiento sobre las características clínicas que ocasiona la infección con el BoHV-5, puede hacer que esta entidad pase desapercibida y por lo tanto, es importante analizar epidemiológicamente lo que ocurre con el movimiento de rebaños entre las diferentes regiones e incluso con otros países donde la enfermedad ha sido descrita desde hace varios años [17, 20]. Los productores han informado que muchos animales solo se transportan entre hatos de la región, pero que sus padres, fueron introducidos al llano procedente del interior de Colombia e incluso, un gran número de animales llegaron desde Brasil, con el fin de hacer mejoramiento genético de las razas cebuínas. En la actualidad, la región posee alrededor de 200.000 cabezas de bovinos, un solo animal positivo a BoHV-5 sería un factor de riesgo para cualquier explotación, debido a la capacidad que tiene este agente para transmitirse y permanecer latente en el organismo, además, por las condiciones epidemiológicas que facilitan su transmisión, como la alta densidad de animales en espacios reducidos, la introducción de animales posiblemente infectados y el estrés (por transporte, manejo, aclimatación y presencia de becerros huérfanos), entre otros [22]. Desafortunadamente hasta el momento, el verdadero estado sanitario de los animales de estos hatos es una incógnita ya que es difícil su monitoreo en las condiciones rutinarias de manejo de los mismos.

Finalmente se debe seguir el ejemplo de países como Brasil y Argentina, quienes están desarrollando investigaciones tendientes a la identificación y caracterización del BoHV-5 para facilitar la elaboración de programas de prevención, control y tratamiento de los animales afectados [12, 15].

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se concluye que existen animales seropositivos a BoHV-5 en la zona y por lo tanto, se requiere iniciar investigaciones que permitan establecer el impacto económico de la infección en los rebaños, además se debe verificar el estado sanitario respecto de este agente etiológico y su diferenciación con otros que causan síndromes neurológicos y afectan a los bovinos en todo Colombia. Por otro lado, se demuestra la utilidad de la prueba de seroneutralización para BoHV-1 (siempre que sea interpretada por expertos) y la diferenciación con BoHV-5 pese a la co-existencia de estos agentes en los hatos bovinos.

En razón a que en la actualidad no existen diagnósticos directos del BoHV-5 en la región de los Llanos orientales de

Colombia, es importante que los veterinarios de campo detecten animales infectados o muertos con síntomas nerviosos, para establecer diagnósticos definitivos por técnicas histopatológicas de rutina. Así mismo, los resultados de este estudio permiten alertar a las autoridades sanitarias regionales para implementar técnicas de diagnóstico que permitan determinar el papel del BoHV-5 en la condición de enfermedad de bovinos de la zona, con el fin de contribuir a mejorar el estado sanitario de esta importante población ganadera en Colombia.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BARENFUS, M.; DELLI Q., C.A.; MCINTYRE, R.W.; SCHROEDER, R.J. Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from calves with meningoencephalitis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 143:725-728. 1963.
- [2] BARTHA, A.; HAJDU, G.; ALDASSY, P.; PACZOLAY, G. Occurrence of encephalomyelitis caused by infectious bovine rhinotracheitis virus in calves in Hungary. **Acta Vet. Acad. Sci. Hung.** 19:145-151. 1969.
- [3] BECK, B.E. Infectious bovine rhinotracheitis encephalomyelitis in cattle and its differential diagnosis. **Can. Vet. J.** 16:269-271. 1975.
- [4] BENAVIDES, E. Causas de muerte súbita en bovinos en pastoreo en las sabanas de America Tropical. **Rev. Col. Cien. Pec.** 17 (2):182-192. 2004.
- [5] CARRILLO, B.J.; AMBROGÍ, A.; SCHUDEL, A.; VAZQUEZ, M.; DAHME, M.E.; POSPISCHIL, A. Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina. **Zbl. Vet. Méd. B.** 30:327-332. 1983.
- [6] COELHO, D.H.; VIDOR, T. Infecções por herpesvirus bovino 1 y herpesvirus bovino 5. En: **Doenças de ruminantes e eqüinos**. Franklin Riet-Correa, Ana Lucia Schild, María del Carmen Méndez, Ricardo Antonio Amaral Lemos (Eds). São Paulo: Livraria Varela, Vol. 1. Pp. 97-108. 2001.
- [7] EUGSTER, A.K.; ANGULO, A.B.; JONES, L.P. Herpesvirus encephalitis in range calves. **Proc. 17th Ann. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnost.** Davis CA, United States of America. 267-281 pp. 1974.
- [8] FLORES, E.F. Diagnostico laboratorial das infecções viricas. En: Flores, EF (Org) **Virologia Veterinária**. Editora da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Pp. 296-326. 2007.
- [9] JOHNSTON, L.A.; M<sup>C</sup>GAVIN, M.D. A viral meningoencephalitis in calves. **Aust. Vet. J.** 38: 207-215. 1962.
- [10] MAXIE, G.; SAMEH, Y. Inflammation in the central nervous system. In: Maxie, G. (Ed) **Jubb Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5th Ed. Vol. 1, Elsevier Saunders, Philadelphia. Vol. 1. Pp. 428-429. 2007.
- [11] MORETTI, B.; ORFEI, Z.; MONDINO, G.; PERSECHINO, A. Infectious bovine rinotracheitis, clinical observations and isolation of virus. **Vet. Ital.** 15:676. 1964.
- [12] NAKAZATO, L.; LEMOS, R.A.; RIET-CORREA, F. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.** 20 (3): 119-125. 2000.
- [13] PEDRAZA, F.J.; ALESSI, A.C. Encefalitis bovina por herpesvirus bovino tipo 5 (HVB-5). Una revisión. **Rev. Col. Cien. Pec.** 17 (2): 148-155. 2004.
- [14] PEDRAZA, F.J.; BARBOSA-STANCIOLI, E.F.; ALESSI, A.C. Detection of bovine Herpesvirus 5 (BoHV-5) in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by nested PCR in colombian cattle. **Rev. Col. Cien. Pec.** 23 (3): 292-298. 2010.
- [15] PÉREZ, S.E.; VAGNOZZI, A.; SUR, J.H.; ODRIOZOLA, E.; CAMPERO, C.M.; ODEÓN, A.C. Análisis retrospectivo de casos con diagnóstico de necrosis cerebrocortical y su relación con herpesvirus bovino tipo 5. **Rev. Arg. Microbiol.** 35: 69-73. 2003.
- [16] RIET-CORREA, F.; VIDOR, T.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C. Meningoencefalite e necrose da cortex cerebral em bovinos causados por herpesvirus bovino 1. **Pesq. Vet. Bras.** 9: 13-16. 1989.
- [17] RIET-CORREA, G.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, M.C.; CERQUEIRA, V.D.; BRITO, M.F. RIET-CORREA, F. Meningoencefalite por Herpesvirus bovino-5 no Estado do Pará. **Pesq. Vet. Bras.** 26: 44-46. 2006.
- [18] ROIZMAN, B. The family Herpesviridae: An update. **Arch. Virol.** 123: 432-445.1992.
- [19] SALVADOR, S.C.; LEMOS, R.A.; RIET-CORREA, F.; ROEHE, P.M.; OSORIO, A.L. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvirus bovino tipo 5 (BHV-5). **Pesq. Vet. Bras.** 18: 76-83. 1998.
- [20] SÁNCHEZ, A.W.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 20: 113-118. 2000.
- [21] SANT'ANA, F.J.; BARROS, C.S. Polioencefalomalacia in ruminants in Brazil. **Braz. J. Vet. Pathol.** 3 (1): 70-79. 2010.
- [22] SCHILD, A.L.; RIET-CORREA, F.; PEREIRA, D.B. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório Regional de Diagnósticos em 1993. **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico.** 1 (14): 23-26. 1994.
- [23] SILVA, M.S.; BRUM, M.C.; LORETO, E.L.; 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: 191-199. 2007.

- [24] SOUZA, V.F.; MELO, S.V.; ESTEVES, P.A.; SCHMIDT, C.S.; GONÇALVES, D.; SCHAEFER, R.; SILVA, T.C.; ALMEIDA, R.S.; VICENTINI, F.K.; FRANCO, A.C.; OLIVEIRA, E.A.; SPILKI, F.R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F.; LEMOS, R.A.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M.; ROEHE, P.M. Monoclonal antibody characterization of bovine herpesviruses types 1 (BoHV-1) and 5 (BoHV-5). **Pesq. Vet. Bras.** 22: 13-18. 2002.
- [25] SPILKI, F.R.; FRANCO, A.C.; ESTEVES, P.A.; TEIXEIRA, M.B.; ESTEVES, P.A.; SCHAEFER, R.; SCHMIDT, E.; LEMOS, R.A.; ROEHE, P.M. Bovine herpesvirus type 5 (BHV-5) in a calf with rabies. **Pesq. Vet. Bras.** 23: 1-4. 2003.
- [26] THRUSFIELD, M. Diagnostic Test. In: Thrusfield Michael (Ed) **Veterinary Epidemiology**. 2nd Ed. Blackwell Science Ltd, Oxford. Pp 266-285. 1995.
- [27] URREA, C.E. Monografía Puerto Gaitán. 2008. Documento de la Alcaldía de Puerto Gaitán Meta, Colombia. En línea. <http://www.puertogaitan-meta.gov.co/index.shtml>. 25/10/2010.
- [28] WATT, J.A.; JONSTON, W.S.; MACLEOD, N.S.; BARLOW, R.M. Infectious bovine rhinotracheitis and encephalitis. **Vet. Rec.** 108: 63-63.1981.
- [29] WEIBLEN, R.; BARROS, C.S.; CANABARRO, T.F. Bovine meningoencephalitis from IBR virus. **Vet. Rec.** 124: 666-667.1989.
- [30] ZAPATA, J.; OSSA, J.E.; ZULUAGA, F.N. Actualización de los viejos enigmas y visión del futuro de la IBR en Colombia. **Rev. Col. Cien. Pec.** 15 (2): 155-159. 2002.