

Resistencia natural, *in vitro*, a los virus de estomatitis vesicular y de rinotraqueitis infecciosa en ganado Blanco Orejinegro

Albeiro López Herrera, Zoot, MV, MSc; Alexander D Salazar, est. Med. Vet; Guillermo A Restrepo MV; Fabio N Zuluaga MV, MS; Jorge E Ossa MV, MS, PhD.

Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, AA. 1226, Medellín, Colombia*
e-mail: albeirolopez@medicina.udea.edu.co

(Recibido: 25 agosto, 2001; aceptado: 6 diciembre, 2001)

Resumen

Este informe da cuenta de los resultados de un proyecto encaminado a determinar la posible diversidad fenotípica de la resistencia/susceptibilidad, in vitro, de la raza de ganado criollo colombiano, Blanco Orejinegro (BON), a la infección por virus de estomatitis vesicular (EV) y de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB). Se probaron 47 muestras de fibroblastos primarios de igual número de animales, mediante titulación viral, y se determinó la Dosis Infecciosa Mínima 50% por ml ($DIM_{50\%}/ml$) por el método de Spearman karber. Luego se obtuvieron los Índices de Resistencia/Susceptibilidad (IRS) y se agruparon los cultivos primarios de fibroblastos en resistentes y susceptibles con los siguientes resultados: Para RIB los 47 cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON resultaron susceptibles; para EV serotipo Indiana, 37 fueron susceptibles y 10 resistentes, y para EV serotipo New Jersey, se encontraron 41 susceptibles y 5 resistentes. Un polimorfismo fenotípico en resistencia/susceptibilidad, in vitro, del ganado BON, se había demostrado previamente para el virus de la fiebre aftosa.

Palabras clave: *Cultivos primarios de fibroblastos, ganado criollo colombiano, índice de resistencia/susceptibilidad, replicación viral.*

Introducción

Algunos individuos tienen la capacidad de contrarrestar las infecciones, por medio de mecanismos llamados de resistencia natural. La resistencia natural frente a las enfermedades infecciosas ha sido observada en varias especies de animales y según Templeton y colaboradores (26), ésta se define como “la capacidad inherente de un individuo para contrarrestar la enfermedad, sin previa exposición o inmunización con un patógeno, donde el mayor componente es heredable y establemente transmitido de los padres a la progenie». Además, se ha demostrado que los mecanismos por los cuales un individuo puede

resistir la enfermedad en forma natural incluyen factores inmunes y no inmunes.

El concepto de resistencia natural a infecciones virales ha sido estudiado desde la primera mitad del siglo XX cuando Webster demostró el fenómeno en ratones infectados con el virus de la fiebre amarilla; este investigador observó que la resistencia a este agente viral tenía un patrón de herencia mendeliana y de esta manera abrió el campo de la resistencia natural que, en la actualidad, es tema de investigación en enfermedades infecciosas del hombre (resistencia natural al HIV por ejemplo), y los animales (resistencia natural al virus de la fiebre amarilla en ratón)(6).

* Dirección para solicitar reimpresos

En Colombia existen siete razas de ganado criollo, todas ellas en un estado vulnerable según los parámetros de clasificación de especies en vía de extinción de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (10), dentro de estas razas se encuentra el ganado Blanco Orejinegro (BON), el cual se originó a partir de los ganados introducidos por los conquistadores, desde hace alrededor de cinco siglos, y se adaptó a las condiciones medioambientales de la región cafetera andina, sin una selección técnica por parte de los ganaderos. Esta raza representa un recurso genético valioso, pues su desempeño productivo ha sido caracterizado por sus buenos rendimientos, la alta fertilidad, la rusticidad y la longevidad, a pesar de las condiciones de explotación en suelos pobres, pendientes y en medio de los parásitos y demás condiciones propias de los climas cálidos y húmedos del trópico colombiano (2).

En la actualidad existen 2.866 animales BON puros en el país (10), distribuidos en unos pocos núcleos conservados por algunas instituciones públicas y por algunos ganaderos que junto con los programas de recursos genéticos del gobierno, han evitado su extinción. A pesar de los esfuerzos realizados por algunas personas y entidades para promover la raza y dar a conocer sus bondades en la producción pecuaria, los ganaderos siguen prefiriendo la explotación de razas foráneas.

Uno de los mayores atributos que ha contribuido al mantenimiento de esta raza, es la marcada resistencia a los ectoparásitos, especialmente al nuche (2, 7, 9, 14, 22). Se ha demostrado que los individuos de raza BON presentan una menor susceptibilidad a la infestación con la larva de *Dermatobia hominis* y la respuesta inflamatoria que induce contra la misma es significativamente menor, en comparación con la raza Costeño con Cuernos que exhibe reacciones inflamatorias más intensas (4, 5). Además, se ha confirmado la resistencia del BON al nuche, como un carácter hereditario transmitido en forma dominante y, correlativamente, se clasificó al BON como medianamente resistente, comparado con el ganado Cebú que es resistente y el ganado Holstein que presenta el rasgo de susceptibilidad (8).

Según relatos de ganaderos y campesinos se sugiere que esta raza es más resistente a la brucelosis y a la fiebre aftosa, en comparación con razas especializadas en producción de carne y leche;

además, se relata que cuando estos animales sufren estas enfermedades, las manifestaciones clínicas son más leves (5).

Para colaborar con la caracterización de los recursos genéticos de Colombia y afianzar los conocimientos sobre su biodiversidad, nuestro grupo de investigación está desarrollando proyectos tendientes a verificar la resistencia natural del ganado criollo colombiano BON a varios agentes infecciosos entre ellos, *Salmonella Dublin SL2260* (modelo para estudiar resistencia a *brucella sp*) (24, 25) y el virus de la fiebre aftosa (18, 19). Con el presente estudio nos propusimos ampliar el campo de investigación de la resistencia a otros agentes virales, incluyendo otras enfermedades de común ocurrencia en nuestro medio, tales como la Estomatitis Vesicular (EV) y la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB).

La EV es una enfermedad infecciosa aguda que afecta a los equinos, bovinos y suinos, producida por un virus de la familia Rhabdoviridae, género vesiculovirus del cual existen más de 10 serotipos, cuyos signos clínicos incluyen la presentación de vesículas en lengua, nariz, ubre y al rededor de los rodetes coronarios de las pezuñas (16).

Esta enfermedad es endémica en América y en Colombia circulan los serotipos Indiana y New Jersey (EV-I y EV-NJ) (12). y ocurre con presentaciones de ondas epizooticas en ciclos que se repiten anualmente desde 1929, año en el que este virus entró al país (16, 28). La mayor incidencia ocurre generalmente entre los meses de diciembre a abril (pico mayor) y de junio a octubre (pico menor) (20). Esta entidad clínica es de mucha importancia en Colombia, no solo por su similitud con la fiebre aftosa, sino por las cuantiosas pérdidas que ocasiona en las industrias lecheras y ganaderas localizadas en las diferentes áreas (16).

La ecología del virus de EV no es bien entendida aún. Existen muchas preguntas sobre dónde y cómo se mantiene el virus en la naturaleza, cómo se transmite y cómo se introduce en los hatos libres de infección. Los serotipos Indiana y New Jersey pueden tener diferentes ciclos y se ha demostrado que la infección producida por EV-I es frecuente entre animales arbóreos o semiarbóreos dentro de las zonas enzoóticas, y que el agente se puede aislar a partir de ácaros y mosquitos. Se sugiere, entonces que el virus

es sacado de su ciclo natural por vectores; de tal suerte que los animales domésticos sólo serían hospederos accidentales (11).

La RIB es una enfermedad viral con distribución mundial, cuyo agente etiológico es el Herpesvirus bovino 1 (HVB-1), perteneciente a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae, género varicellovirus. El agente causante de la RIB, la cual se presenta como una enfermedad respiratoria aguda en los bovinos, puede también causar la vulvovaginitis pustular infecciosa y abortos en las hembras, y balanopostitis pustular infecciosa, en los machos (11).

El virus penetra al hospedero por el tracto respiratorio por medio de aerosoles, o por contacto directo con secreciones nasales; la transmisión venérea ocurre a través del coito o de semen contaminado. Este virus tiene la capacidad de establecer un estado de latencia por largo tiempo y producir reactivación de la infección de manera intermitente, al igual que otros virus pertenecientes a la misma familia (11, 12).

En Colombia se aisló el virus de RIB por primera vez en 1972, en muestras obtenidas en matadero, de vacas con historia de abortos; desde entonces el virus ha sido asociado con abortos y problemas reproductivos (13), pero una verdadera asociación etiológica no se ha demostrado y se cuenta con pocos aislamientos del virus; lo cual contrasta con la alta prevalencia de anticuerpos, determinada en encuestas serológicas que muestran una amplia distribución de la infección en el país (1, 3, 29).

En intentos de aislamiento en Antioquia, realizados por Zapata y colaboradores desde 1.993, en 2.100 muestras vaginales no se pudo aislar el virus. Además en este mismo trabajo se caracterizó molecularmente un aislamiento de RIB, hecho por el grupo de trabajo de la Universidad Nacional de Colombia seccional Bogotá, que resultó pertenecer al subtipo molecular 2b, no relacionado con producción de abortos (27).

En un estudio de prevalencia de la infección por HVB-1 en el ganado BON de Antioquia se encontró un nivel bajo de reactores (11.5%) (23), en comparación con los índices reportados para el departamento y para otras regiones del país, en general, que fluctuaba entre 13% en la costa atlántica y 67% en la población de toros del Urabá antioqueño (29).

Materiales y métodos

Cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON. Para el desarrollo de esta investigación se utilizaron 47 cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON obtenidos del Repositorio de células del Laboratorio de Virología Facultad de Medicina Universidad de Antioquia. Los cultivos primarios de fibroblastos se replicaron en medio de crecimiento, RPMI-1640 Sigma® con 10% de suero fetal bovino y adicionado con 1% de penicilina-estreptomicina.

Células MDBK. Células de riñón bovino, obtenidas del Repositorio de células del Laboratorio de Virología Facultad de Medicina Universidad de Antioquia se replicaron en medio de crecimiento, (MEM Sigma® con 10% de suero fetal bovino y 1% de Vitaminas, de aminoácidos no esenciales, de L-glutamina y de penicilina-estreptomicina). Las células MDBK fueron utilizadas para replicar el virus de IBR y como control de susceptibilidad para IBR y EV.

Células Vero 76. Células de riñón de mono verde africano, obtenidas del Repositorio de células del Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, se replicaron en medio de crecimiento. Estas células se utilizaron para replicar y titular los virus EV-I y EV-NJ.

Virus de Estomatitis Vesicular. Monocapas de células Vero 76 fueron infectadas con cepas de referencia de EV (EV-I o EV-NJ) mantenidas en nuestro Laboratorio en botellas de cultivo celular de 25 cm², el virus fue cosechado cuando se observó al microscopio invertido un efecto citopático en el 80 a 90% de la monocapa (18-24 horas post-infección), clarificado por centrifugación, distribuido en alícuotas, titulado y conservado a -70°C hasta el momento de su uso.

Virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Monocapas de células MDBK en botellas de cultivo celular de 25 cm² fueron infectadas con IBR cepa Bogotá mantenido en nuestro Laboratorio, el virus fue cosechado, alícuotado y titulado como se describió anteriormente para EV.

Titulación de virus. Se determinó el título para EV-I y EV-NJ en células Vero 76 y de RIB en células MDBK. Ambos virus fueron titulados en los 47 cultivos primarios de fibroblastos de BON. Los virus

fueron titulados por el método de Dosis Infecciosa Mínima 50% (DIM_{50%}) y se definió como DIM_{50%} la mayor dilución capaz de producir algún efecto citopático en por lo menos el 50% de los pozos infectados.

Fenotipificación de resistencia/susceptibilidad. Para evaluar la resistencia/susceptibilidad a los virus estudiados en cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON se determinó la DIM_{50%} para cada uno de los tres virus en cultivos de fibroblastos de los animales a probar así: Se sembraron 50.000 células en un volumen de 100 ml de medio de crecimiento en cada uno de los pozos de un plato de 96 pozos, para cada uno de los animales; El plato fue infectado con 100 ml por pozo de diluciones decimales de los virus (4 pozos por dilución), EV-I y EV-NJ desde 10⁻² hasta 10⁻⁸, IBR desde 10⁻³ hasta 10⁻⁹; cada plato incluía un control de células no infectadas. Los platos se incubaron durante 72 horas en atmósfera húmeda al 5% de CO₂ a 37°C, luego de lo cual se evaluó el efecto citopático por observación al microscopio invertido y por tinción con cristal violeta; el título se determinó por el método de Spearman-Kärber. En cada jornada que se realizaba la prueba con animales BON (máximo seis animales por jornada) se incluía la titulación de las mismas diluciones del virus en células MDBK, siguiendo el mismo protocolo. El título obtenido en MDBK en cada jornada, se utilizó como el referente de máxima susceptibilidad para hacer las comparaciones con los fibroblastos de BON respectivos.

Cálculo del índice de resistencia/susceptibilidad (IRS). Este índice es el resultado de la comparación del título obtenido en células MDBK y el título obtenido para cada uno de los animales BON y se expresó como el logaritmo de la división entre el título en células MDBK y el título en células de BON, así: $IRS = \text{Log}(\text{DIM}_{50\%} \text{ BHK-21} / \text{DIM}_{50\%} \text{ BON})$.

Análisis estadístico. Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva determinando promedio, desviación estándar (ds), máximo y mínimo para cada grupo.

Resultados

Una vez obtenidos los lotes de virus a utilizar en los diferentes ensayos, fueron titulados y los DIM_{50%} resultantes fueron 10⁷, 10^{6.25} y 10⁸ para EV-I, EV-NJ y RIB respectivamente, estos títulos se utilizaron como

control interno de titulación durante el desarrollo de los experimentos, ya que si el control de cada una de las sesiones variaba más de un logaritmo por encima o por debajo del título del stock, los experimentos serían repetidos.

Los DIM_{50%} en células MDBK en las 14 sesiones de titulación variaron entre 10^{6.5} y 10^{7.5} para EV-I, 10^{5.25} y 10^{6.5} para EV-NJ y 10⁷ y 10⁹ para RIB. Para los 47 cultivos primarios de fibroblastos BON los DIM_{50%} variaron así: para EV-I entre 10^{3.5} y 10⁹, para EV-NJ entre 10¹ y 10^{11.2}, para RIB variaron entre 10⁷ y 10^{9.5} (Tabla 1).

Para categorizar los cultivos primarios de fibroblastos, de acuerdo a su IRS, se tuvo en cuenta la variación de la prueba de titulación de los virus en las células control susceptible MDBK. La tabla 2 muestra los valores promedio del título en células MDBK y la desviación estándar (ds) para cada uno de los virus usados a lo largo de los experimentos como control de susceptibilidad. Los cultivos primarios de fibroblastos BON, para cada uno de los tres virus utilizados, se clasificaron en las categorías resistente (R) y susceptible (S) así: Un cultivo primario se ubicó en el grupo S, cuando el IRS fue menor o igual de dos ds en las células control (la ds de los títulos en células MDBK para EV-I fue 0.35, para EV-NJ 0.4 y para RIB de 0.5), es decir cuando el log

Tabla 1. Rangos de variación de los DIM_{50%} en Cultivos primarios de fibroblastos BON y Células MDBK (control de susceptibilidad)

	HVB-1		VEV I		VEV NJ	
	MDBK	BON	MDBK	BON	MDBK	BON
Máximo	10 ⁹	10 ^{9.5}	10 ^{7.5}	10 ⁹	10 ^{6.5}	10 ^{11.25}
Mínimo	10 ⁷	10 ⁷	10 ^{6.5}	10 ^{3.5}	10 ^{5.25}	10 ¹

Tabla 2. Promedio y desviación estándar (ds), de los DIM_{50%} para cada uno de los virus en células MDBK control de susceptibilidad. n: Numero de titulaciones = 14.

Parámetro	HVB-1	VEV I	VEV NJ
n	14	14	14
promedio	10 ⁸	10 ^{6.8}	10 ^{5.8}
ds	0.5	0.35	0.4

de la diferencia entre el $DIM_{50\%}$ en las células MDBK (control de susceptibilidad) con el $DIM_{50\%}$ de los fibroblastos fue menor o igual a dos ds, si esta diferencia era mayor a dos ds, el cultivo primario fue considerado R; así que para EV-I los cultivos primarios S fueron todos aquellos cuyos IRS fueran ≤ 0.7 y los R cuyos IRS fueron $>$ que 0.7; para EV-NJ, si el IRS fue ≤ 0.8 el cultivo fue S y R si el IRS fue $>$ 0.8; para IBR los S fueron aquellos cuyos IRS fue \leq que 1.0 y los R los que el IRS fue $>$ 1.0 (Tabla 3).

Como se observa en la figura 1 de los 47 animales BON fenotipificados, *in vitro*, 37 (79%) fueron susceptibles y 10 (21%) resistentes para EV-I; para EV-NJ 41 (87%) se ubicaron en la categoría S y 6 (13%) en la R y para RIB, el 100% de los cultivos primarios fueron susceptibles, 29 de los cuales (62%) fueron más susceptibles que las células MDBK control de susceptibilidad; de los cultivos primarios que se ubicaron dentro de la categoría de resistentes para EV-I y EV-NJ sólo dos resultaron ser resistentes a ambos serotipos.

Tabla 3. Categorización (S: susceptible, R: resistente) de los cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON para cada uno de los tres agentes estudiados. IRS: Índice de resistencia/susceptibilidad.

Categoría	HVB-1	VEV I	VEV NJ
S	IRS \leq 1.0	IRS \leq 0.7	IRS \leq 0.8
R	IRS $>$ 1.0	IRS $>$ 0.7	IRS $>$ 0.8

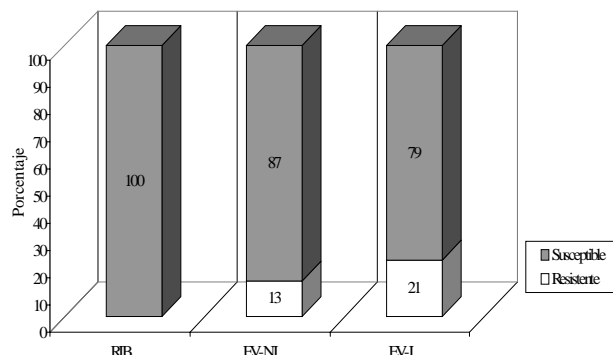


Figura 1. Porcentaje de cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON resistentes y susceptibles a la infección por rinotraqueitis infecciosa bovina cepa Bogotá (RIB), virus de estomatitis vesicular serotipo New Jersey (EV-NJ) y virus de estomatitis vesicular serotipo Indiana (EV-I).

Discusión

La investigación sobre la existencia o no de resistencia natural a la infección por virus de Estomatitis Vesicular y de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, en bovinos de la raza BON, es una contribución al conocimiento para la caracterización genética de esta raza de ganado criollo, considerada como un valioso recurso para la producción en nuestro medio. El estudio está inscrito dentro de nuestra línea de investigación sobre resistencia/susceptibilidad del Ganado Criollo colombiano BON a infecciones virales.

Acorde con los resultados descritos, se demostró polimorfismo fenotípico para la resistencia/susceptibilidad, *in vitro*, del ganado BON a la infección por los dos serotipos del virus de EV con una mayor prevalencia del fenotipo de resistencia frente al serotipo Indiana.

Un posible mecanismo para la resistencia a EV podría ser a través del interferón, puesto que este virus es muy interferogénico, ya que posee como genoma un RNA y, durante su replicación en el citoplasma de la célula infectada, pasa por RNA de doble cadena que es el mayor inductor biológico de interferón (12). Otros mecanismos como la apoptosis podrían también estar involucrados, ya que se ha demostrado que algunas células infectadas con virus de estomatitis vesicular entran rápidamente en apoptosis, lo que disminuye la diseminación del virus (15, 17).

Llama la atención que dos serotipos del mismo virus presenten diferente respuesta de resistencia/susceptibilidad en los mismos cultivos primarios, este mismo fenómeno se presentó en otro estudio realizado con virus de fiebre aftosa subtipos A24 Cruzeiro y O1 Campos (18, 19).

En cuanto al virus de rinotraqueitis infecciosa bovina, todos los cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON fueron susceptibles; más aún el 62% presentó mayor susceptibilidad que el control de células MDBK, lo que indica, en principio, que todos los individuos probados son igualmente susceptibles; esto es, que no existen polimorfismos en la resistencia frente a este virus.

Para contribuir a la caracterización de los recursos genéticos con los que cuenta Colombia, nuestro grupo de investigación se propuso determinar la resistencia

natural del ganado BON a otros agentes infecciosos y se demostró que el gen que codifica para la proteína del macrófago asociada a la resistencia natural (Nrampl) contra patógenos intracelulares, como la *Brucella abortus* y la *Salmonella Dublín*, está presente en forma homocigótica para el alelo de resistencia en 79 de 80 (98.75%) animales genotipificados; sólo uno resultó ser heterocigótico (24, 25). También se ha fenotipificado la resistencia/susceptibilidad, *in vitro*, de este ganado al virus de fiebre aftosa; 55 de 60 (93.3%) animales fueron resistentes, al subtipo A 24 Cruzeiro y 50 de 97(52.8%) lo fueron al subtipo O1 Campos; además, se demostró que hay correlación entre la capacidad de producción de interferón ante la infección con el virus de la fiebre aftosa y la resistencia a este agente; así, los cultivos primarios de fibroblastos BON altos productores de interferón, 32-64 Unidades internacionales de interferón por mililitro (UIIFN/ml), resultaron resistentes a la infección con ambos subtipos; mientras que en los que se induce baja producción de IFN (2 UIIFN/ml) siempre son susceptibles (19).

De los 47 animales fenotipificados para estos virus, 10 fueron probados también para resistencia al virus de la fiebre aftosa y sólo se encontró una coincidencia de un cultivo que resultó ser resistente tanto a la infección por el virus de la fiebre aftosa A24-C como EV-I, lo que podría estar indicando que los mecanismos, en cada caso, no son los mismos o no operan de la misma manera.

Otros estudios en marcha, tienen el objetivo de evaluar la inducción de IFN tipo I en los cultivos primarios de estos animales ante la infección por los dos serotipos de EV, para establecer si la resistencia a este virus está determinada por la producción de IFN; así mismo, se determinará si la resistencia, *in vitro*, a fiebre aftosa y a EV es mediada por la apoptosis inducida por estos virus en las células infectadas. Por último, será necesario realizar estudios de resistencia *in vivo* para corroborar los resultados obtenidos *in vitro*. Una vez definidos estos fenotipos *in vivo*, y con la ayuda de procedimientos biotecnológicos, será posible aplicar estos conocimientos para mejorar la producción pecuaria del país.

Agradecimientos

A Milady Mogollón, Gloria Mejía, Maribel Martínez, Juan D. Rodas, Omar Saldarriaga y John Jairo Arboleda por su colaboración en el establecimiento del repositorio de cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON del laboratorio de Virología de la Universidad de Antioquia y a la Universidad de Antioquia por la cofinanciación del proyecto y por el apoyo económico al Joven Investigador A. Salazar.

Summary

In vitro natural resistance to Vesicular Stomatitis Virus and Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Blanco Orejinegro cattle

This report presents the results of a project whose goal was to determine the possible phenotypic diversity in, in vitro, resistance/susceptibility of the Colombian Criollo cattle, Blanco Orejinegro (BON), to the infection with Vesicular Stomatitis Virus (VSV) and Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (IBRV). 47 primary fibroblasts cultures belonging to same number of animals were tested by means of viral titration, and the Minimum Infectious Dose 50% by ml ($MID_{50\%}/ml$) was determined by the Spearman karber method. Then the Resistance/Susceptibility Index (RSI) was obtained and the primary fibroblasts cultures were categorized as resistant or susceptible with reference to MDBK cells as susceptible control. For IBRV all primary fibroblasts cultures were susceptible; for VSV serotype Indiana, 37 were susceptible and 10 resistant, and for VSE serotype New Jersey, 41 were susceptible and 5 resistant. Our research group had previously demonstrated phenotypic polymorphism in, in vitro, resistance/susceptibility to foot and mouth disease virus in this cattle breed.

Key Words: Colombian Criollo Cattle, primary fibroblasts cultures, resistance/susceptibility index, viral replication.

Referencias

- Arboleda JJ, Bedoya DA, Rodas JD, Acevedo L, Ossa JE. Estudio virológico y epidemiológico de la RIB en un hato lechero en Antioquia. Rev ACOVEZ 1993; 17: 34-35
- Arboleda O. El ganado Blanco Orejinegro. Suplemento ganadero 1980; 1:42p
- Aycardi EV, Sanclemente M, Cortes E. Prevalencia de anticuerpos para el virus RIB en ganado de carne en Colombia y aislamiento del virus de casos clínicos. Rev Vet y zoot 1977; 30: 14-19.
- Botero FM. El ganado Blanco Orejinegro. En: Hernández G, Botero M, González F y Rubio R (eds). Razas Criollas Colombianas, Manual de Asistencia Técnica ICA, 1979; 17-51.
- Botero FM. Influencia de la raza Jersey en el mejoramiento de la producción lechera del Blanco Orejinegro. Trabajo de grado M.V.Z. Universidad de Caldas, Manizales. Colombia. 1958; 75 p
- Brownstein D. Host genetic resistance. En: Webster R and Granoff A. Encyclopedia of Virology Academic Press, San Diego, USA, 1994; 554 – 559.
- Buitrago F, Gutiérrez ID. Potencial genético y productivo del ganado Blanco Orejinegro (BON). En: FEDEGAN, ICA, PRONATA, ASOBON. Censo y caracterización de los sistemas de producción del ganado criollo y Colombiano. Bogotá. 1999; 55-74.
- Colmenares CR. Investigaciones genéticas sobre el ganado colombiano BON. Rev. Vet. y Zoot. 1951; 5: 40-73.
- Derr JN, Davis SK, Estrada JL, Ossa JE, Westhusin M, et al. Genetic characterization and conservation Colombian criollo cattle. En: Proceedings of the third global conference on conservation of domestic animal genetic resources. Rare breeds international; Queens University, Kingston, Ontario-Canada. 1995; 307-313.
- FEDEGAN, ICA, PRONATA, ASOBON. Censo y caracterización de los sistemas de producción de ganado criollo y colombiano, Bogotá, 1999; 13-54.
- Fenner F, Bachman P, Gibbs E. Vet Virol. Orlando Academic Press. 1987; 550p.
- Fields B, Knipe D, Howley P (eds). Virology Third Edition. New York. Raven Press, 1995; 1122-1140.
- Góngora A, Villamil L, Vera V, Parra J, Ramírez G, López G. Aislamiento de un herpes virus Bovino tipo I de secreción nasal y esmegma prepucial en un toro reproductor. Rev Med Vet y Zoot. 1996; 43, 43-46.
- Hernández G, Martínez G. Producción de leche en clima medio con cruces Holstein y Blanco Orejinegro. Rev. ICA. 1985; 20: 197-202
- Horn A, Hommel G, Brahmi Z. FAS mediated cytotoxicity induced degradation of vesicular stomatitis virus RNA transcripts and reduces viral titer. Molecular immunology. 1997; 34:1055-1055.
- ICA. La fiebre Aftosa y otras Enfermedades Vesiculares en Colombia. Boletín técnico 1995; 32: 135p.
- Koyama H, Arakawa T, Adachi A. Acceleration of virus induced apoptosis by Tumor Necrosis Factor. FEBS Letter. 1998; 475: 179-182.
- López A, Arango A, Ossa J, Zuluaga FN. Análisis de resistencia/susceptibilidad al virus de la fiebre aftosa en el ganado Blanco Orejinegro BON. Rev. Col. Cienc. Pec. 1999; 12 (supl):227.
- López A, Zuluaga FN, Barrera J, Arango A, Ossa J. Fenotipificación del ganado criollo colombiano Blanco Orejinegro (BON) para resistencia/susceptibilidad y producción de IFN α - β , contra el virus de la fiebre aftosa. Trabajo de grado Maestría. Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. 2000; 103p.
- Morales LF, Piedrahita ID. Estomatitis vesicular en el departamento de Antioquia, aspectos clínicos y epidemiológicos. En Memorias Seminario Internacional Epidemiología molecular de la estomatitis vesicular. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad de Antioquia, Medellín. 1998; 19-34.
- Morris CA. Genetics of Disease Resistance in *Bos Taurus* cattle. Animal Genetics Resources. Information. 1998; 23: 1-11.
- Munévar MG. Blanco Orejinegro, Clave para Cruces. Carta Ganadera. 1990; 27: 4-10.
- Rodas JD, Arboleda JJ, Zuluaga FN, Trujillo LE, Ossa JE. Estandarización de una técnica de ELISA para RIB y determinación de la prevalencia de infección en hato BON de Antioquia. Rev. Col. Cienc. Pec. 1995; 9: 35-39.
- Saldarriaga OA, Rugeles MT, Velásquez JI, Bedoya G, Ossa JE. Caracterización genotípica de la resistencia natural del ganado blanco orejinegro BON a Salmonella Dublín SL 2250. Rev. Col. De Cienc. Pec. 1999; 12 (sup): 234
- Saldarriaga OA, Rugeles M T, Velásquez JI, Bedoya G, Ossa JE. Genotipificación del ganado “BON” a la Salmonella Dublín SL 2250. Rev. IATREIA. 2000; 13: 92.
- Templeton J, Smith R, Adams G. Natural Disease Resistance in Domestic Animals. J. Am. Vet. Med. Ass. 1988; 192: 1305-1315.
- Zapata JC. Rinotraqueitis infecciosa bovina RIB. caracterización molecular de una cepa colombiana de Herpes virus bovino tipo I. Trabajo de grado Maestría. Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. 1999; 89p.
- Zuluaga FN, Mejía GM. Estudios epidemiológicos de la estomatitis vesicular en Colombia. En Memorias Seminario Internacional Epidemiología molecular de la estomatitis vesicular. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia. Medellín. 1998; 1-13.
- Zúñiga L, Ossa J, Hincapié O. Prevalencia de IBR en reproductores de Urabá antioqueño para 1977. Rev. Col Cien. Pec. 1978; 1: 135-148.