

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**SEROPREVALENCIA DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA
BOVINA (IBR) EN VACUNOS DE LA RAZA BROWN SWISS EN
LAS COMUNIDADES COTAÑA Y CENTRAL YANARICO DEL
DISTRITO DE VILQUE**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. JEAN CARLOS CALLATA VALENCIA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**“SEROPREVALENCIA DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR)
EN VACUNOS DE RAZA BROWN SWISS EN LAS COMUNIDADES COTAÑA
Y CENTRAL YANARICO DEL DISTRITO DE VILQUE”**

PRESENTADA POR:

Bach. JEAN CARLOS CALLATA VALENCIA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE

: 

Dr. CEFERINO UBERTO OLARTE DAZA

PRIMER MIEMBRO

: 

M.Sc. JOSE IVAN QUINONES GARCIA

SEGUNDO MIEMBRO

: 

M.Sc. URI HAROLD PÉREZ GUERRA

DIRECTOR

: 

D.Sc. NATALIO LUQUE MAMANI

ASESOR

: 

Mg. HUGO VILCANQUI MAMANI

Área : Salud animal

Tema : Seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina

Fecha de sustentación: 10 de junio de 2019

Dedicatorio

Con mucho afecto y agradecimiento a mi madre Anastasia Valencia Jara por apoyarme desde el cielo que nunca me abandono.

A Felipe Jesus Callata Soncco, mi padre con respeto, aprecio, cariño y eterna gratitud: por haberme forjado mi anhelo profesional.

A mis hermanos Javier, Livia, Edy Falcon, Wilfredo y Elizabeth quien le estaré eternamente agradecido, por su atención, comprensión y cariño.

Agradecimiento

A dios por darme la vida y permitir mi existencia.

A mi mater, la universidad nacional del altiplano puno

A la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, en donde me formé y me hice profesional.

Al Dr. Natalio Luque Mamani, por su voto de confianza y dirigir el presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	5
INDICE DE FIGURAS.....	7
INDICE DE TABLAS.....	8
INDICE DE ACRÓNIMOS.....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
I. INTRODUCCION.....	12
1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
1.1.1. Objetivo general.....	13
1.1.2. Objetivos específicos.....	13
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.....	14
2.2. ETIOLOGÍA.....	15
2.2.1. Genotipos del VHB-1.....	16
2.2.2. Replicación viral.....	16
2.3. EPIDEMIOLOGÍA.....	16
2.4. VIAS DE TRANSMICION.....	18
2.4.1. transmisión horizontal.....	18
2.4.2. Transmisión vertical.....	19
2.5. PATOGÉNESIS (VHB-1).....	19
2.5.1. Entrada y diseminación.....	20
2.5.2. Infección restringida a áreas locales.....	20
2.5.3. Difusión sistémica por viremia.....	21
2.5.4. Difusión neuronal.....	21
2.6. LATENCIA.....	21
2.7. SINTOMATOLOGÍA.....	22
2.7.1. Enfermedad respiratoria – aborto.....	22
2.7.2. Enfermedad genital.....	23
2.7.3. Enfermedad nerviosa.....	24
2.7.4. Enfermedad digestiva.....	24
2.8. MORBILIDAD Y MORTILIDAD.....	24
2.9. FACTOR DEL AGENTE PATÓGENO.....	25
2.10. DIAGNOSTICO.....	25
2.10.1. Aislamiento viral.....	25
2.10.2. Detección de Antígeno Viral.....	25
2.10.3 Detección de ácido nucleico viral.....	26
2.10.3. Detección de anticuerpos.....	26
A)Neutralización Viral.....	26

B)Prueba de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA):	27
2.11. CONTROL Y ERRADICACIÓN.	29
2.11.1. Manejo sanitario.....	29
2.11.2. Vacunación.	29
A)Vacunas convencionales vivas y muertas.	29
B)Vacunas marcadas vivas y muertas.....	29
2.11.3. Control.....	30
2.12. ANTECEDENTES.....	30
2.12.1. Antecedentes internacionales.	30
2.12.2. Antecedentes nacionales.	31
2.12.3. Antecedentes regionales.	33
III. MATERIAL Y METODOS.	34
3.1. LUGAR DE ESTUDIO.....	34
a) De los animales.....	34
b) Del tamaño de muestra.....	34
c) Materiales y reactivos	35
3.2. METODOLOGÍA.....	37
3.2.1. Toma de muestra.	37
3.2.2. Prueba de ELISA.....	38
3.2.3. Fundamento de la prueba de ELISA.	38
3.2.4. Desarrollo del ensayo.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.	41
4.1. SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) EN LAS COMUNIDADES DE COTAÑA Y CENTRAL YANARICO DEL DISTRITO DE VILQUE DE LA PROVINCIA DE PUNO.....	41
4.2. SEROPREVALENCIA AL RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) EN VACUNOS BROWN SWISS DEL DISTRITO DE VILQUE – PUNO, SEGÚN SEXO.	46
4.3. SEROPREVALENCIA AL VIRUS DE LA IBR EN VACUNOS BROWN SWISS DEL DISTRITO DE VILQUE – PUNO, SEGÚN EDAD.....	46
V. CONCLUSIONES	48
VI. RECOMENDACIONES.....	49
VII. REFERENCIAS	50
ANEXOS	55

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Triada de la rinotraqueitis infecciosa bovina.	17
Figura 2. Recolección de muestra	56
Figura 3. Rotulado de las muestras obtenidas y su conservación.	56
Figura 4. Reactivos del KIT DE ELISA.....	57
Figura 5. Adición de muestra al KIT de ELISA	57
Figura 6. Incubación de las muestras por 15 minutos	58
Figura 7. Lectura del KIT de ELISA.....	58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de animales	34
Tabla 2. Seroprevalencia general de IBR en vacunos de la raza brown Swiss en el distrito de Vilque - Puno.....	41
Tabla 3. Ficha de muestreo nombre del productor y fundo.....	59
Tabla 4. Resultados emitidos por la prueba de ELISA	60
Tabla 5. Resultados de la seroprevalencia de virus de IBR	62

INDICE DE ACRÓNIMOS

RIB	: Rinotraqueitis Infecciosa Bovina
vRIB	: Virus De La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina
ELISA	: Ensayo De Inmunoabsorcion Ligada A Enzimas
VHB-1	: Virus Herpes Bovino Tipo 1
BPI	: Balanopostitis Pústular Infecciosa
VHB-5	: Virus Herpes Bovino Tipo 5
CP	: Citopatogénicos
OEI	: Organización Mundial De Sanidad Animal
NCP	: No Citopatogénicos
PI	: Persistentemente Infectados
ni	: Tamaño Inicial De La Muestra
Z²	: Nivel De Confianza 95 %
p	: Proporción De La Población Objeto De Estudio, Prevalencia
q	: Complemento (1-P)
n	: Tamaño De La Muestra
N	: Tamaño De La Población
IRPC	: Índice Relativo Por Cien
%IN	: Porcentaje De Inhibición
DO	: Densidad Óptica
X²	: Valor De Ji-Cuadrado
Σ	: Sumatoria
θ_i	: Frecuencia De Valor Observado
e_i	: Frecuencia De Valor Esperado
P	: Prevalencia

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el distrito de Vilque situada en la zona noroeste de la región de Puno, la toma de muestras se efectuó el mes de julio del 2018; el análisis en laboratorio se realizó en el laboratorio de Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en el Centro Experimental Chuquibambilla de la UNA-PUNO. El objetivo fué determinar la seroprevalencia del virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (vIBR) en 90 vacunos de la raza Brown Swiss, distribuidos según los siguientes factores: sexo (machos y hembras menores de 2 años), edad (< a 2 años y >a 2 años), estado reproductivo (preñadas secas y en producción). Se obtuvo muestras de sangre de la vena yugular para obtener el suero sanguíneo. El procedimiento de análisis fué mediante la prueba de ELISA indirecta, Los resultados para la seroprevalencia general de Rinotraqueitis Infecciosa Bovino (IBR) fué de 0.0 %; según sexo en machos y hembras 0.0 %, los cuales no hay presencia de la enfermedad, así mismo según edad los animales menores de 2 años y en mayores de 2 años también demostraron el 0.00 %; según el estado reproductivo fue de 0,00 % para las vacas preñadas en seca y 0,00 % para las vacas preñadas en producción. Por lo tanto, los vacunos de la raza Brown Swiss de las comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque se encuentran libre de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).

Palabras Clave: Brown Swiss, sexo, edad, Seroprevalencia y IBR.

ABSTRACT

The research work was carried out in the district of Vilque located in the northwestern area of the Puno region, sampling was carried out in July 2018; the laboratory analysis was carried out in the Animal Health laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics at the Chuquibambilla Experimental Center of UNA-PUNO. The objective was to determine the seroprevalence of Bovine Infectious Rhinotracheitis Virus (vIBR) in 90 Brown Swiss cattle, distributed according to the following factors: sex (males and females under 2 years), age (<2 years and > 2 years), reproductive status (pregnant and in production). Blood samples were obtained from the jugular vein to obtain blood serum. The procedure of analysis was through the indirect ELISA test. The results for the general seroprevalence of Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) was 0.0%; according to sex in males and females 0.0%, which is not present of the disease, likewise according to age, animals under 2 years of age and in those older than 2 years also showed 0.00%; according to reproductive status, it was 0.00% for pregnant cows in dry and 0.00% for pregnant cows in production. Therefore, cattle of the Brown Swiss breed of the communities of Cotaña and Central Yanarico of the district of Vilque are free of Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR).

Keywords: Brown Swiss, sex, age, Seroprevalence and IBR.

I. INTRODUCCION.

La población nacional de vacunos alcanza a 5'156,044 animales siendo 904,069 son de la raza Brown Swiss; donde la Región Puno posee el 12% de la población total en el Perú, de los cuales un 90.8% son de la raza criolla y un 9.2% son de razas especializadas, y de estas el 95.6% Brown Swiss, el 4.4% Holstein y otros (CENAGRO, 2012). En el altiplano peruano, ubicado por encima de los 3,830 m.s.n.m., donde la actividad pecuaria es una de las principales actividades que realizan las familias rurales de la región de Puno, la crianza de vacunos es uno de los pilares de la economía regional, aprovechando la producción de leche y se encuentra en manos de pequeños, medianos y grandes productores MINAGRI (2012).

Los hatos ganaderos de nuestro país y de nuestra región sur, aún se encuentran en desarrollo; los hatos bovinos se manejan con muchas deficiencias singularmente en planes de vacunación, y cuidados sanitarios. Esta enfermedad también puede cursar de forma asintomática, del cual no tiene conocimiento los productores, al que se suma la falta de asesoramiento técnico de las instituciones públicas y privadas competentes en el campo pecuario. El herpes virus bovino tipo 1 es uno de los agentes más importantes que causan afecciones respiratorias, reproductivas y neurales, vacunos de cualquier raza y edad son susceptibles y también es el principal reservorio. Rivera *et al.* (1994).

Esta enfermedad infecciosa es de distribución Mundial y se encuentra en la lista B de las enfermedades de declaración obligatoria, según la oficina Internacional de Epizootias (OIE) (Boelaert *et al.*, 2000).

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1.1.1. Objetivo general.

Determinar la seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos de la raza Brown Swiss en comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque.

1.1.2. Objetivos específicos.

- Determinar la Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque, según sexo animal.
- Determinar la Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque, según edad del animal.
- Determinar la Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque, según estado reproductivo y productivo.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), también conocida como enfermedad de las mucosas o nariz roja, es una enfermedad infecciosa, muy contagiosa, y es causada por el Herpes Virus Bovino Tipo-1, caracterizada por producir trastornos en las vías respiratorias superiores, además de problemas reproductivos como el aborto que se presenta después de desarrollar la enfermedad respiratoria y frecuentemente ocurre en el último tercio de gestación (Banks, 1999; Pidone *et al.*, 1999).

Esta enfermedad infecciosa es de distribución Mundial y se encuentra en la lista B de las enfermedades de declaración obligatoria, según la oficina Internacional de Epizootias (OIE) (Boelaert *et al.*, 2000).

Mencionan que la glicoproteína D induce anticuerpos neutralizantes, pero también es responsable de la penetración, adsorción viral y la fusión celular. Además, mencionan que la glicoproteína C participa en la unión inicial del virus a receptores similares a la heparina la superficie de las células permisivas y que la glicoproteína B también son anticuerpos neutralizantes, con proteínas celulares ocasionando los efectos citopático (Babiuk *et al.*, 1996).

Esta enfermedad infecto-contagiosa que afecta principalmente a los bovinos, existe en Europa desde 1,841 y en la actualidad tiene una amplia distribución en el mundo (Obando *et al.* 2005).

2.2. ETIOLOGÍA.

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) es causada por el Virus Herpes Bovino-1 (VHB-1), el cual es un miembro de la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae, género Varicellovirus (Babiuk *et al.*, 1996).

El VHB - 1 tiene un diámetro de 150 a 200 nm, su material genético está conformado por una doble cadena lineal de ADN dentro de una nucleocápside icosaédrica compleja. El ADN viral codifica más de 69 diferentes proteínas, entre estructurales y no estructurales. Entre las proteínas estructurales por lo menos 9 son glicoproteínas presentes en la envoltura viral formando proyecciones y juegan un rol importante en las interacciones virus - célula, como adherencia, penetración, difusión célula - célula y salida. Las glicoproteínas además interactúan con el sistema inmune, como unión a componentes del complemento o inmunoglobulinas. Las glicoproteínas B, glicoproteína D y probablemente glicoproteína H, glicoproteína K y glicoproteína L son esenciales en el proceso de replicación viral. Las glicoproteínas C, G, y glicoproteína E no son esenciales para la replicación viral, pero juegan un rol esencial en las interacciones virus - célula. (Kaashoek *et al.*, 1993).

La glicoproteína D induce anticuerpos neutralizantes, pero también es responsable de la penetración, adsorción viral y la fusión celular. Además, mencionan que la gC participa en la unión inicial del virus a receptores similares a la heparina sobre la superficie de las células permisivas y que la gB interfiere con proteínas celulares ocasionando los efectos citopáticos. (Babiuk *et al.*, 1996) y(Engels y Ackeman, 1996).

2.2.1. Genotipos del VHB-1.

Mediante el uso de electroforesis en geles de poliacrilamida, uso de paneles de anticuerpos monoclonales y el análisis de restricción de ADN viral, se ha clasificado el VHB-1 en tres genotipos: VHB-1.1, VHB-1.2 y VHB-1.3, los cuales se asocian con la IBR, Vulvovaginitis pustular infecciosa, Balanopostitis postular infecciosa (VPI/BPI) y enfermedad neurológica (encefalitis) respectivamente. Este último genotipo (VHB 1.3), ha sido reclasificado denominándose Virus herpes bovino tipo 5 (VHB-5), en base a estudios bioquímicos y genéticos (Wentink *et al.*, 1993).

2.2.2. Replicación viral.

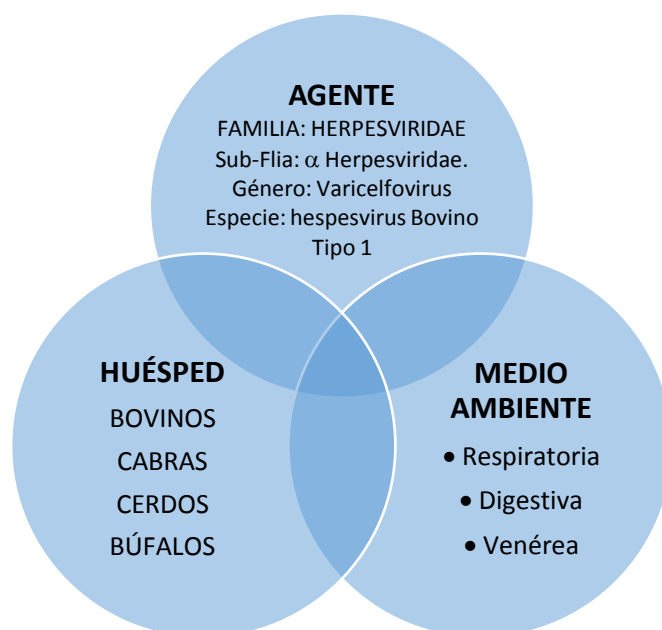
La replicación del VHB-1, como en todos los virus herpes, es muy compleja. El VHB-1 se replica en células epiteliales del tracto respiratorio y reproductivo. El VHB-1 se adhiere a los receptores celulares, por medio de las glicoproteínas, la nucleocápside penetra en el citoplasma mediante la fusión de la envoltura con la membrana celular o a través de las vacuolas fagocíticas. En ese momento se libera de la nucleocápside un complejo ADN proteína que pasa al núcleo. Aquí se realiza la transcripción en cascada de ARN mensajeros para la síntesis proteica y replicación del ADNm vírico de la progenie viral (Fenner, 1995; Engels y *ackeman.*, 1996).

2.3. EPIDEMIOLOGÍA.

El virus herpes bovino tipo-1 es un importante patógeno de los bovinos, aunque otras especies como caprinos, venados y cerdos, también han sido infectados. Los bovinos-de todas las razas son susceptibles a la infección experimental y la infección natural ocurre, por lo general, en animales mayores de seis meses de edad, posiblemente por estar más expuestos al agente viral. Después de la infección primaria el VHB-1 tiene la capacidad de permanecer en estado de latencia en el bovino infectado, lo que le

permite persistir dentro del huésped sin ocasionarle enfermedad. El virus latente puede ser reactivado durante la vida del animal, ocasionando recurrencia de la enfermedad y la subsecuente transmisión del virus a animales susceptibles. Las infecciones recurrentes son más comunes 16 y menos severas que las primarias y son la fuente de mantenimiento del virus en los rebaños. La reactivación y excreción del VHB-1 en animales con infección latente están asociadas con la disminución de las defensas, como consecuencia de cambios de las condiciones de manejo, concentraciones altas de animales, celo, parto y transporte, lo que explicaría la aparición de la enfermedad donde la fuente de infección no es evidente (Obando, 1999).

Figura 1. Triada de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina



Fuente: Jones, 1999

Estudios epidemiológicos y económicos realizados en bovinos de engorde de Estados Unidos y Canadá, indican que la enfermedad respiratoria bovina es causa de 75% de morbilidad y 65% de mortalidad, ocasionando grandes pérdidas económicas a los ganaderos (Zanabria *et al.*, 2000).

2.4. VIAS DE TRANSMICION.

2.4.1. Transmisión Horizontal.

El virus se disemina horizontalmente por contacto directo, a través de las descargas oculonasales, la saliva, el semen, las secreciones uterinas, los fluidos placentarios, las heces, la orina y la leche (Fray *et al.*, 1998, Flint *et al.*, 2000, Swasdipan *et al.*, 2002).

El contacto directo de animales PI especialmente nariz-nariz, es el mecanismo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. El contacto directo con animales que sufren una infección aguda también puede transmitir el virus. El semen crudo o crío preservado de toros PI o con infección aguada es una importante vía de transmisión horizontal (Houe, *et al*1995).

Las fuentes principales de infección son el exudado nasal y aerosoles, secreciones genitales, semen, líquidos y tejidos fetales; los vacunos de todas la razas y edades son susceptibles a la enfermedad, pero principalmente son afectados animales mayores de 6 meses por hallarse más expuestos a la infección lo menciona Blood y Radostitis (1992).

La infección también puede ser transmitida al ganado susceptible, por utilización de guantes, espéculos o camas contaminadas. El virus es albergado latentemente por animales portadores sanos que periódicamente sufren exacerbaciones de la enfermedad, con excreción del virus (Pidone *et al.*, 1999).

Adicionalmente, fluidos, gametos y otras células derivadas de algún animal enfermo representa grandes fuentes de contaminación cuando estos “materiales de

origen animal” son usados en la producción y transferencia de embriones (Martínez *et al.*, 2008).

2.4.2. Transmisión Vertical.

El virus se puede diseminar a través de la placenta; si el feto es infectado antes de adquirir competencias inmunológicas (antes del día 125 de gestación aproximadamente), desarrollara una infección persistente (IP); estos terneros pueden darse como fuente de infección. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los PI en su primer año de vida, muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen (los toros PI, infectan a las hembras durante la monta directa y la inseminación artificial). Hembras PI siempre dan terneros IP. La transmisión vertical siempre ocurre luego de la transferencia embrionaria si el receptor es IP, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Houe, *et al.*, 1995; Lértora, 2003).

De una manera poco académica, se puede establecer que la presencia de vIBR en un hato predispone a los animales a la infección por otros virus y bacterias, especialmente de *Moraxella bovis*, bacteria oportunista que aprovecha la enfermedad causado por IBR para instalarse en la conjuntiva (Engels y Ackermann, 1996).

2.5. PATOGÉNESIS (VHB-1).

La patogénesis de la vIBR es sumamente importante no obstante hay muchos aspectos que no han sido estudiados a fondo. Tanto el virus herpes simple, que afecta a la especie humana, como la del vIBR, tienen predilección por los tejidos derivados del ectodermo del embrión, producen lesiones en las membranas mucosas de la boca, ojos y tracto genital (Luzuriaga, 2012).

El VHB-1 se transmite en forma directa por aerosoles producto de estornudos o por contacto con animales infectados, a partir de secreciones respiratorias, oculares y del tracto reproductivo, o en forma indirecta a través de personas o equipos. El virus también puede ser transmitido por el semen durante la monta, natural o inseminación artificial (Van Oirschot, 1995) e incluso durante la transferencia de embriones. (Wentik *et al.*, 1993); Engels y Ackermann (1996). Una vez en el organismo el virus se replica en células epiteliales en el sitio de entrada para luego diseminarse por vía sanguínea o vía nerviosa o por difusión entre célula a célula (Pidone *et al.*, 1999).

2.5.1. Entrada y Diseminación.

Las entradas potenciales para el ingreso del VHB-1 son la cavidad nasal la orofaríngea, ojos y tracto genital. Usualmente una primera replicación ocurre en las células epiteliales de la puerta de entrada y al menos tres formas de difusión del virus deben ser consideradas (Engels y Ackermann, 1996).

2.5.2. Infección restringida a áreas locales.

Pueden ocurrir infecciones del tracto respiratorio superior o del tracto genital. Los síntomas de la enfermedad pueden ser principalmente atribuidos a la destrucción de las células, epiteliales debido a la replicación viral con producción y excreción de altos títulos virales. Debido a que la respuesta inmune es eficiente, estas infecciones son usualmente auto limitante y la recuperación del animal es dentro de 1 a 2 semanas. Las lesiones locales pueden facilitar las infecciones bacterianas secundarias, las cuales luego causan daños (Engels y Ackermann, 1996).

2.5.3. Difusión sistémica por viremia.

El VHB-1. Puede infectar monocitos con moderada replicación viral y también puede infectar macrófagos y linfocitos los cuales pueden servirle de vehículo a diferentes tejidos del animal (Engels y Ackermann, 1996).

2.5.4. Difusión neuronal.

Durante la replicación inicial en las células epiteliales, el virus puede ingresar por los axones celulares de las terminaciones nerviosas. Luego, vía axonal, pueden alcanzar los cuerpos neuronales del ganglio trigémino donde el virus se establece en latencia (Engels y Ackermann, 1996).

2.6. LATENCIA.

Como otros miembros de la subfamilia del alfa herpesvirinae, el VHB- 1 establece una infección latente en neuronas de ganglios sensorios, primariamente en el ganglio trigémino, tonsilas y ganglio sacro en caso de infecciones en los genitales. El ADN viral puede persistir en estado latente de por vida en un hospedero infectado, pero puede reactivarse periódicamente y diseminarse a animales susceptibles (Winkler et al., 2000).

La reactivación del virus puede ocurrir o ser inducida por numerosos factores estresantes como: transporte (Thiry, et al 1987), tratamientos con corticoides (Kaashoek, 1995), tratamiento con ciclofosfamida (Jones, 1999), súper infección con otros virus o microorganismos irradiación ultravioleta, etc (Pidone et al., 1999).

La reactivación y la eliminación del virus pueden producirse en toros portadores durante la época de cruce, lo cual explica la incidencia de títulos más elevados en toros que en vacas en algunos rebaños de carne (Babiuk, 1996).

Los toros reproductores vacunados con virus vivo modificado, pueden eliminar el virus de la vacuna por el semen y se puede aislar el virus a partir de lavados de prepucio de 2-3 meses después de la última inmunización. Sin embargo, la Frecuencia de infección es recurrente y la cantidad de virus eliminado se reducen tras la vacunación. Los partos también pueden estimular la reactivación y eliminación de una cepa termolábil del virus incluida en una vacuna. El virus se puede localizar de forma latente en la placenta hasta 90 días, sin que se transmita al feto (Babiuk, 1996).

2.7. SINTOMATOLOGÍA.

El IBR se puede manifestar con varios signos clínicos de severidad viable con cinco formas de manifestación: respiratoria, genital, ocular, nerviosa y digestiva o forma sistémica fatal, en neonatos (Ríos y Alberto, 2000).

2.7.1. Enfermedad respiratoria – aborto.

El período de incubación de la IBR es de 5 a 10 días, seguido de fiebre (40.5°C a 42°C), descarga nasal serosa, conjuntivitis, salivación, tos, inapetencia, depresión y baja en la producción lechera de animales en producción, en pocos días la descarga nasal y ocular cambia a mucopurulenta. Las lesiones necróticas en la nariz pueden progresar a pústulas y úlceras cubiertas por una seudomembrana que obstruye las vías aéreas superiores, lo que conduce a una respiración bucal (OIE, 2000; Chase, et al, 1995).

Los animales se recuperan 5 a 10 días después del inicio de los síntomas. Sin embargo, el efecto inmunosupresor del VHB-1 sobre los mecanismos de defensa antibacteriales de los pulmones resultan en complicaciones debido a las infecciones bacterianas secundarias. La más común y severa complicación es el complejo respiratorio bovino, en la que otros agentes como la Parainfluenza 3, Virus

respiratorio sincitial, Virus de la diarrea viral bovina, *Pasteurella haemolytica* o multocida usualmente están presentes en forma concomitante (Richey, 1994; Chase, 1995). El daño epitelial por los agentes virales y el exudado tisular producto de la severa inflamación pulmonar son los que favorecen la adherencia y crecimiento de micro colonias bacteriales. Las micro colonias establecidas resisten a la fagocitosis y efectos de anticuerpos y antibióticos, permitiendo el rápido descenso al tracto respiratorio inferior (Zanabria, et al 2000).

Una frecuente complicación de la forma respiratoria es el aborto que puede ocurrir entre la 3ra y 6ta semana posterior a la infección principalmente en vacas de 5 a 8 meses pudiendo abortar hasta un 25% de las vacas preñadas (Richey, 1994; Chase. et al, 1995).

2.7.2. Enfermedad genital.

Aunque a través de análisis serológicos se ha observado que el herpes que causa la vulvovaginitis y balanopostitis pustular infecciosa es idéntico al que causa la forma genital, determinaciones más sensibles como los análisis moleculares, han demostrado diferencias antigénicas entre estos virus. Mars,et al, (2000).

La VPI/BPI ocurre 1 a 3 días después de la monta y resulta en una severa reacción inflamatoria de la mucosa genital, que incluye edema, hiperemia, pequeñas pústulas y descarga mucopurulenta. La enfermedad frecuentemente resulta en infecciones bacterianas secundarias.

La fase aguda de la enfermedad dura de 2 a 4 días y la recuperación es de 10 a 14 días posteriores al inicio de los signos (Chase. et al, 1995).

2.7.3. Enfermedad nerviosa.

La meningoencefalitis ocurre como resultado de una infección por VHB-1 en animales jóvenes y ha sido reportada mundialmente. Los signos de esta enfermedad neurológica son incoordinación, temblor muscular, recumbencia, ataxia y ceguera que invariablemente conduce a muerte. Este neurogónico VHB-1 se le ha denominado Virus herpes bovino 5 (Chase, et al 1995).

2.7.4. Enfermedad digestiva.

Afecta terneros de una a tres semanas, causando fiebre, dificultad respiratoria y diarrea, lesiones necróticas de color blanco aparecen en la mucosa del tracto digestivo, la enfermedad evoluciona en forma aguda con alta mortalidad (Mars, et al 2000).

2.8. MORBILIDAD Y MORTILIDAD

La morbilidad es muy variable, se encuentra entre el 20 y el 100%. La letalidad oscila de un 2 a 12% y puede llegar habitualmente al 20%, salvo en casos graves, que incrementa más la letalidad. La forma simple de la enfermedad respiratoria no presenta mortalidad elevada, la mayoría de las pérdidas se deben a una bronconeumonía colateral secundaria. Los índices de morbilidad y mortalidad en el ganado lechero oscilan entre el 8 y el 3%, mientras que en el ganado de engorde a corral suele ser del 20 al 30% en bovinos sin vacunar y raramente pueden alcanzar el 100%. La morbilidad y mortalidad son más elevadas en bovinos de engorde a corral debido a que frecuentemente se introducen animales susceptibles en un entorno enzoótico. En terneros recién nacidos que desarrollan la forma sistémica de la enfermedad pueden presentar una mortalidad casi del 100% (Chase et al., 1995).

2.9. FACTOR DEL AGENTE PATÓGENO.

Los virus similares al HVB-1 se designan actualmente HVB-1.1 y los virus semejantes al de la balanopostitis pústular infecciosa (BPI) se designan HVB-1.2, dividiéndose este último subtipo en dos grupos designados con las letras a y b (Babiuk, 1996). Las cepas del subtipo 1.2 a causan abortos, mientras que las cepas 1.2b no son abortivas, el subtipo 1.3 o HVB-5 es la cepa encefalítica. La inactivación del gen para la timiditacinasasa del HVB-1 reduce la actividad abortiva del virus, pero no la elimina (Babiuk, 1996).

2.10. DIAGNOSTICO.

Se puede dar un diagnóstico presuntivo de vIBR en base a los signos clínicos, patológicos y epidemiológicos, pero para realizar un diagnóstico definitivo se requiere de las Pruebas de Laboratorio (OIE 2000; Rivera., 1993). Entre las principales se tiene:

2.10.1. Aislamiento viral.

Esta prueba se realiza en cultivos celulares inoculados con, muestras de exudados nasales, oculares, genitales ó suspensiones de membranas mucosas del tracto respiratorio, tonsilas, pulmón, nódulos linfáticos bronquiales.

El aislamiento viral es muy sensible y específico, pero demora varios días o semanas. La identificación del agente es mediante pruebas inmunohistoquímicas como son inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa empleando anticuerpos monoclonales o policlonales, (Rivera *et al.*, 1993).

2.10.2. Detección de Antígeno Viral.

La técnica es rápida y puede estar disponible en muchos laboratorios. Esta técnica consiste en la detección del antígeno viral en tejidos frescos, muestras de

fluidos nasales, oculares ó genitales a través del uso de anticuerpos policlonales o monoclonales, mediante la técnica de Inmunofluorescencia (IF), ó Inmunoperoxidasa (IP), (Rivera *et al.*, 1993).

2.10.3 Detección de ácido nucleico viral.

Consiste en la demostración del ADN del VHB-1 en muestras clínicas, estos incluyen hibridación de ADN y la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR).

2.10.4. Detección de anticuerpos.

La detección de anticuerpos es otra de las formas diagnósticas más empleadas. Entre estas las más utilizadas son: Neutralización Viral y ELISA (Rivera *et al.*, 1993).

A) Neutralización Viral.

Esta es una prueba altamente específica pero menos sensible en comparación a ELISA. Se basa en la capacidad que tiene el anticuerpo para neutralizar la citopatogenicidad ó la capacidad del virus de infectar a las células in vitro (OIE, 2000). La desventaja de la prueba es que requiere de un laboratorio que posea el sistema de cultivos celulares, de personal entrenado, es muy costosa y laboriosa. Esta prueba esta prescrita con propósitos para el comercio internacional y es utilizada como técnica de referencia en los programas de erradicación para confirmar los sueros dudosos. Como título neutralizante de suero se define la recíproca dilución de suero, expresado en Log10, que protege una monocapa celular como consecuencia de la neutralización de por lo menos 100 DI50 de virus (Rivera *et al.*, 1993).

B) Prueba de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA):

La prueba de ELISA está considerada técnicamente superior a la prueba de seroneutralización para la detección rutinaria de anticuerpos virales de la IBR (Ríos y Alberto, 2000).

La prueba de ELISA empezó a desarrollarse en Francia por Aureameas y Uriel en 1960, estableciéndose el método para la cuantificación de inmunoglobulinas descubiertas por los investigadores Suecos Enguall y Perimann en EEUU en 1972 (Wellenberg et al., 1998; Mars et al., 2000). La sensibilidad es de (96-99.9%) glicoproteína B y la especificidad es de (98-99.9%) glicoproteína B (Mars *et al.*, 2000).

Las técnicas de laboratorio son:

a.1) Pruebas directas.

Se basan en el aislamiento del virus (cultivo celular), detección de antígenos virales (ELISA, Inmunofluorescencia o Inmunohistoquímica) o de material genómico del mismo (PCR). Para que estas pruebas tengan éxito es necesario recolectar, mediante hisopos estériles, preferiblemente durante los primeros tres días de iniciados los síntomas clínicos (fase aguda), muestras de secreciones nasales y/o oculares de animales que presenten enfermedad respiratoria y de secreciones vaginales, cuando se sospecha de la forma genital. Las muestras se introducen en tubos estériles cerrados herméticamente con 2 ml de solución salina buferada pH 7, adicionada de penicilina (100 unid/ml), estreptomycinina (100 g/ml) y anfotericina-B (2,5 g/ml). De no conseguir el medio, utilizar solución fisiológica estéril. Es importante que las muestras sean conservadas en una cava con hielo y remitidas al laboratorio de inmediato, anexando la información referente a la finca (nombre, ubicación, propietario, teléfono), población y número de animales enfermos,

síntomas observados, identificación de los bovinos muestreados, señalando fecha de inicio de la enfermedad y tipo de muestras. En caso de abortos, son de gran utilidad para el diagnóstico, trozos de hígado, bazo, riñón y pulmón de fetos abortados, así como de placenta. Estos tejidos se colectan en bolsitas plásticas o frascos herméticamente cerrados, lo más estéril posible y enviados al laboratorio (Rivera., 1993; OIE, 2000).

b.1) Pruebas indirectas.

Tienen como fundamento la detección de anticuerpos específicos contra el VHB-1, usualmente mediante la Seroneutralización (SN), la cual es una prueba de referencia internacional; o ELISA, ambas de alta sensibilidad y especificidad, Para determinar si el VHB-1 está circulando en un rebaño se recolecta una muestra de sangre (sin anticoagulante) de un número representativo de animales entre 7 y 12 meses, no vacunados contra este virus (Prueba puntual), para determinar la presencia de anticuerpos específicos. Su detección confirmaría una infección natural por VHB-1, ya que los anticuerpos calostrales desaparecen a los seis meses de edad (Wellenberg et al., 1998; Mars et al., 2000).

El fundamento de la prueba de ELISA indirecta es la determinación de anticuerpos contra el virus en el suero, leche u otro fluido mediante el uso de una anti-inmunoglobulina G dirigida contra la Ig G bovina marcada con una enzima como la peroxidasa que se une al complejo antígeno-anticuerpo. Recientemente, gE ELISA están siendo usados en asociación a vacunas marcadas para detectar animales infectados en poblaciones vacunadas, en países donde la vIBR está en proceso de erradicación (Wellenberg *et al.*, 1998a,b; Van Oirschot, *et al.*, 1999; Mars, *et al.*, 2000b). La sensibilidad es de (96-99.9%) gB y la especificidad es de (98-99.9%) gB.

2.11. CONTROL Y ERRADICACIÓN.

Una de las principales características del VHB-1, que debe tenerse en cuenta para su control es su capacidad de persistir en el animal de por vida, ya que el VHB-1 permanece integrado por un periodo indefinido en células preferenciales. Es necesario definir la decisión de controlar la enfermedad clínica o eliminar la infección (Pidone *et al.*, 1999).

2.11.4. Manejo sanitario.

Un buen manejo sanitario debería evitarse el ingreso del virus en el hato, entre las medidas de control se recomienda supervisar el movimiento de ganado evitando el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado sanitario, realizar cuarentena y análisis serológicos anuales para evaluar el estado de la enfermedad en el hato con eliminación de animales seropositivos (Pidone *et al.*, 1999).

2.11.5. Vacunación.

A) Vacunas convencionales vivas y muertas.

Estas vacunas usualmente previenen los signos clínicos desarrollados después de una infección con VHB-1. Aunque la mayoría de estas vacunas convencionales reduce la cantidad de virus eliminado después de la infección, su uso no ha resultado para restringir la difusión de la enfermedad en hatos o regiones. Una desventaja de estas vacunas convencionales es su interferencia con los diagnósticos serológicos de rutina y estudios seroepidemiológicos (Van Oirschot *et al.*, 1996).

B) Vacunas marcadas vivas y muertas.

Estas vacunas recientemente desarrolladas permiten no solo prevenir los signos

clínicos después de una infección, además previenen la replicación y posterior excreción del virus y pueden ser usadas en presencia de brotes de IBR, disminuyendo la incidencia y transmisión del VHB-1. También permiten diferenciar animales vacunados de infectados. Consecuentemente el uso de vacunas marcadas ofrece buenas perspectivas para implementar programas de erradicación (Van Oirschot *et al.*, 1996; Mars *et al.*, 2000).

2.11.6. Control.

Una de las principales características del VHB-1, que debe tenerse en cuenta para su control es su capacidad de persistir en el animal de por vida, ya que el VHB-1 permanece integrado por un período indefinido en células preferenciales. Es necesario definir la decisión de controlar la enfermedad clínica o eliminar la infección (Pidone, *et al.* 1999).

2.12. ANTECEDENTES.

2.12.4. Antecedentes internacionales.

En un estudio realizado en los departamentos de Córdova y Sucre, entre los años de 1980 y 1984, se encontró una prevalencia del 29.6% en muestras de suero provenientes de 2295 bovinos. El estudio demostró que no existieron diferencias significativas entre el ganado lechero y el de carne y que los índices de prevalencia aumentaron progresivamente conforme aumentó la edad de los animales (Otte *et al.*, 1985).

En Dinamarca con muestreo al azar, de un total de 1332 muestras colectadas en dos camales, se obtuvo 78% de animales positivos a anticuerpos. Así mismo, en un total de 2759 muestras en 19 hatos lecheros, se obtuvieron 37 (1.4%) de animales

viremicos, 28(1.1%) animales PI y 64% fueron anticuerpos positivos (Houe, et al 1995).

En Colombia se ha reportado para hembras bovinas una seroprevalencia del 51.7% para la región Caribe, un 21.5% para la región Andina y un 20.6% para la región para el pie de Monte Llanero Griffiths et al., (1982)). En toros de la sabana de Bogotá se encontró un 15.3% de reactores positivos; sin embargo, son pocos los aislamientos virales. Gongora (1995).

2.12.5. Antecedentes nacionales.

En el Perú, la enfermedad clínica fue observada en 1965 en un grupo de vaquillonas importadas durante el periodo de la cuarentena sanitaria (E. De la Vega, comunicación personal). Posteriores estudios serológicos realizados en bovinos y otros rumiantes han demostrado su amplia difusión (Rosadio et al., 1993; Manchego et al., 1998; Zacarías et al., 2002). Abortos ocasionados por el VHB-1 pueden observarse en forma esporádica (Rivera, 2001); sin embargo, el virus es un componente importante del complejo respiratorio en establos de bovinos productores de leche y ganado para engorde, ocasionando pérdidas económicas para el ganadero (Rivera et al., 1994; (Zanabria et al., 2000).

Según un estudio realizado para determinar la seroprevalencia del Virus Herpes Bovino tipo-1 (VHB-1) agente causal de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en 12 hatos lecheros del Valle de Lima. El 36% de las muestras estudiadas tuvieron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1. La prevalencia viral dentro de los 12 hatos estuvo entre 2% a 90%. Determinando la prevalencia por zonas se detectó anticuerpos contra el VHB-1 en las tres zonas de muestreo (Norte 46%, Centro 13%, Sur 50%) con una prevalencia que varió entre 13% a 50%. Finalmente, la prevalencia

viral fue mayor en los establos con mayor tamaño poblacional siendo esta de 43%, así como en animales de más de dos años se halló la prevalencia de 40% a diferencia de los animales menores de 2 años que fue de 12% (Sánchez, 2003).

La prevalencia del Virus Herpes Bovino tipo 1. (VHB-1) se determinó en bovinos de crianza extensiva, sin historia de vacunación, y mayormente cruzados, en tres distritos de la provincia de San Pablo Cajamarca. Se Colectaron 48 muestras de sangre de bovino y, se determinó que 0.6% de los animales presentaron anticuerpos contra VHB-1. Las vacas seroreactoras fueron Holstein, mayores de 6 años de edad y pertenecieron a aun solo hato y presentaron títulos de anticuerpos de 1:64 y 1:32, los resultados indicaron que la enfermedad se encuentra poco difundida entre los animales de la zona de estudio. (Villacaqui, et al., 2006).

EL Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (VHB-1) está presente en bovinos criollos, de los distritos de Coracora, Chumpi Puyusca y Pullo de la provincia de Parinacochas presentaron una prevalencia promedio de los 4 distritos muestreados de 67.6% superior a lo reportado en bovinos de crianza intensiva en el país. (Zacarías, 2002).

Estudio realizado en el distrito de Pisac provincia de Calca-Cusco, donde, la prevalencia en los anticuerpos virales de la diarrea viral bovina en vacunos de la raza holstein para las hembras fue del 22.11% y para los machos fue del 8.33%.Segun categoría animal se obtuvo prevalencias de 12.82% para los dientes de leche , dos dientes 16.66%, cuatro dientes 37.50% y boca llena 21.70%, la prevalencia para la clase animal fue de 15.62%para las terneras para vaquillas se obtuvo el 15.38% para vaquillonas se obtuvo 39.13% y vacas se obtuvo el 21.73%, en toretes se obtuvo una prevalencia del 25% (Guzman, 2014).

2.12.6. Antecedentes regionales.

En un estudio realizado en la provincia de Melgar, se demuestra que la infección por Virus Herpes Bovino tipo-1 (VHB-1) está presente en los nueve distritos, donde se halló una seroprevalencia promedio de 29.0% mediante la técnica de Virus Neutralización (Parientes, 2006).

La prevalencia del vIBR en bovinos mayores de dos años (16.88%) y menores de dos años (3.12%) del distrito de Azángaro, el valor de ji- cuadrado de la prueba fue de 13.78 que resulta significativo ($P \leq 0.01$), de acuerdo con la edad, se puede observar que la prevalencia se comporta de una forma homogénea, es decir cómo se incrementa la edad también aumenta la prevalencia (Vilca, 2014).

La seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa Bovina en vacunos, de la zona Urinsaya Q'ocha, fue 23.66% y en Anansaya Q'ocha 20.90%, ($P \geq 0.05$) en el distrito de Nuñoa, provincia de Melgar (Tevez 2015)

III. MATERIAL Y METODOS.

3.10. LUGAR DE ESTUDIO.

El presente estudio de investigación se realizó con muestras de suero sanguíneo de vacunos, procedentes de las comunidades Cotaña y Central Yanarico del Distrito de Vilque ubicado aproximadamente a 30 Km de la ciudad de Puno, a una altura de 3.860 m.s.n.m. y en las coordenadas 15°45'58" latitud sur 70°15'40" latitud oeste (SENAMHI 2017).

El análisis de muestras se realizó en el laboratorio de salud animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en el centro experimental y producción de Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicado en la Provincia de Melgar, situado a una altitud de 3970 m.s.n.m

a) De los animales.

Los animales para el presente estudio fueron considerados de las comunidades de Cotaña y central Yanarico del distrito de Vilque.

b) Del tamaño de muestra.

Para determinar el tamaño de muestra se utilizó el método no probabilístico por conveniencia (Cuesta, 2009).

Los animales para el estudio fueron 90 vacunos de la raza Brown Swiss y la toma de muestras fue en forma aleatoria simple, los cuales fueron agrupados por sexo, (machos y hembras menores a 2 años), edad (< a 2 años y > a 2 años), estado reproductivo – productivo (preñadas en producción, preñadas sin producción, vacias en producción y vacias sin producción. Distribuidos de la siguiente manera:

Tabla 1 Distribución de animales para el muestreo.

FACTORES		SUBTOT AL/ UNIDAD	TOTAL/ UNIDAD
SEXO	MACHOS	11	90
	HEMRAS	79	
EDAD	MENORES DE 2 AÑOS	28	90
	MAYORES DE 2 AÑOS	62	
ESTADO REPRO-PRODUCTIVO	PREÑADAS EN PRODUCCION	38	62
	PREÑADAS SIN PRODUCCION	14	
	VACIAS CON PRODUCCION	15	
	VACIAS SIN PRODUCCION	15	

Fuente: *elaboración propia***c) Materiales y reactivos**

- ✓ Aguja hipodérmica 21G.
- ✓ Holder.
- ✓ Pipetas de Pasteur descartable.
- ✓ Tubos vacuteiner sin anticoagulante de 7 ml.
- ✓ Porta tubos.
- ✓ Alcohol yodado.
- ✓ Algodón.
- ✓ Gradillas.
- ✓ Marcador indeleble.
- ✓ Guantes descartables latex.
- ✓ Mocheta.
- ✓ Soga.
- ✓ Viales.
- ✓ Hielo.

- ✓ Caja conservadora.
- ✓ Congeladora de -20°C.

Reactivos para análisis por ELISA.**Reactivos.**

- 1.- Placa tapizado con antígeno de Rinotraqueiitis infecciosa bovina.
- 2.- Control negativo (Negative control ELISA (bovine) x 1ML).
- 3.- Control positivo (positive control LISA (bovine) x 1ML).
- 4.- Conjugado.
- 5.- Diluyente de la muestra.

A Substrato TMB N.º 12.

B Solución de frenado N.º 3.

C Solución de lavado concentrada (10X).

Equipos.

- ✓ Estufa incubadora a 37°C.
- ✓ Balanza analítica.
- ✓ Refrigeradora convencional.
- ✓ Congeladora a -20°C.
- ✓ Potenciómetro.
- ✓ Cronómetro de tiempo.
- ✓ Lector de ELISA.
- ✓ Vortex.
- ✓ Micro pipeta canal simple 20 a 200 µl.
- ✓ Micro pipeta canal simple 100 a 1000 µl.

- ✓ Micro pipetas multicanal 50 a 300 ul.

3.11. METODOLOGÍA.

3.11.4. Toma de muestra.

- ✓ Se realizó la sensibilización a los comuneros del distrito de Vilque para realizar el diagnóstico de la enfermedad de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).
- ✓ Se elaboró un formato, donde constó el total de vacas muestreadas, las cuales fueron distribuidos según los grupos señalados en el cuadro 2.
- ✓ El sitio de punción fué la vena yugular, usando una aguja vacutainer de 1.5 x 21G, la muestra fue colectada en un tubo vacutainer, sin anticoagulante (tubo de tapa roja).
- ✓ Se realizó la rotulación de cada muestra que se tomó.
- ✓ Los tubos con muestra se colocaron en una posición inclinada a un Angulo aproximadamente de 30 grados hasta la formación del coágulo y luego se dejó en reposo en un tiempo de 20 minutos.
- ✓ Posteriormente se realizó la colección del suero sanguíneo de los tubos de vacuteiner con una jeringa de tuberculina (1 por cada muestra). Las muestras de suero se trasladaron a un vial estéril (frasco para muestra) a viales estéril de 2 ml previamente identificado para su preservación.
- ✓ Los viales fueron llevados a un termo de conservación (rodeado con geles de hielo en el interior del termo) estos fueron trasladados al Laboratorio de Salud Animal de la FMVZ con sede en el CIP Chuquibambilla, para su posterior análisis.
- ✓ Estas muestras de suero sanguíneo fueron sometidos al método de diagnóstico de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA).

3.11.5. Prueba de ELISA.

Se realizó la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, donde se empleó el Kit comercial (IDEXX IBRg B X 3), que proporciona un método rápido, simple, sensible y específico para la detección de anticuerpos contra el antígeno de superficie VHB-1 del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en muestras individuales de suero o plasma. Se siguieron los procedimientos sugeridos por el laboratorio fabricante del kit. Las lecturas espectrofotométricas fueron realizadas en un lector de ELISA (El ChroMate 4300 que es un instrumento de laboratorio que está previsto para ser usado para el diagnóstico clínico in-vitro) a 450 nm (IDEXX, 2010).

3.11.6. Fundamento de la prueba de ELISA.

Se utilizó la placa de micro titulación que vino suministrada y tapizada con antígeno inactivado. Las diluciones de las muestras que fueron procesados se incubaron en los pocillos. Cualquier anticuerpo específico frente a Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, se une al antígeno que tapiza los pocillos y forma un complejo antígeno-anticuerpo en la superficie del pocillo. Donde el material que no ha quedado unido se elimina de los pocillos mediante lavado. Luego, se añade un conjugado formado por una IgG anti-rumiante marcada con la Enzima Peroxidasa, que es susceptible de unirse a los anticuerpos del vacuno que formaron el complejo con el antígeno de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. El conjugado no unido se elimina mediante lavado, y se añade un substrato TMB a los pocillos. El grado de color desarrollado a una (densidad óptica medida a 450nm) es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo específico frente a Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, presente en la muestra. El resultado se obtiene comparando la densidad óptica de las muestras con la densidad óptica del control positivo (IDEXX, 2010).

3.11.7. Desarrollo del ensayo.

Dejamos que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente y nos aseguramos que estén bien mezclados realizando una inversión suave del frasco.

Se preparó una hoja de datos para identificar los pocillos individuales para cada muestra y control. Los Controles positivo y negativo se analizaron por duplicado.

- ✓ Se despegó la cubierta adhesiva de plástico y se procedió a añadir: Suero: Del cual se dispensa 100 μ L tanto de los controles Positivo, Negativo y los Sueros de las muestras diluidas 1/10 en Solución diluyente de Sueros (vial N° 1) a los pocillos apropiados de la placa.
- ✓ cubrimos la placa con una cubierta adhesiva y se dejó incubar:
- ✓ Protocolo corto: 120 minutos a + 36 °C - + 38 °C.
- ✓ Se retiró el adhesivo y se realizó 5 lavados a cada pocillo con 300 μ L de Solución de lavado diluida. Al final, invertimos la placa y golpea firmemente sobre papel absorbente.
- ✓ Añadimos 100 μ L de solución de conjugado (vial N° 2) a cada pocillo.
- ✓ Cubrimos la placa con una cubierta adhesiva y dejamos incubar por 60 minutos a +18°C - +26 °C.
- ✓ retiramos el adhesivo y realizamos 4 a 5 lavados a cada pocillo con 300 μ L de solución de lavado diluida. Al final invertimos la placa y golpea firmemente sobre papel absorbente.
- ✓ Colocamos en cada pocillo 100 μ L de Solución de Sustrato (vial N° 3). Luego agitamos suavemente la placa durante 2 segundos.
- ✓ Sellamos a placa con una tapa adhesiva y dejamos incubar a temperatura ambiente (+20 °C - +25°C) en la oscuridad durante 10 minutos.

- ✓ Quitamos la tapa adhesiva y vertimos en cada pocillo 100μL de Solución de Paro (vial N° 4). Agitamos golpeando ligeramente el flanco de la microplaca.
- ✓ Limpiamos la superficie inferior de la placa con papel absorbente.
- ✓ Realizamos la lectura de la placa utilizando el lector de ELISA equipado con un filtro de 450nm.
- ✓ Finalmente registramos los resultados.

Validación del ensayo.

- ✓ El test es válido si la Densidad Óptica 450 (DO) 450 media del Control Negativo es >0,65 y el control Positivo presenta un %IN >60%. 954.

Interpretación del ensayo.

Para la interpretación de los resultados es preciso transformar las DO 450 en Porcentajes de Inhibición (%IN) utilizando la siguiente formula (en ella se utiliza la media de DO 450 obtenida en las 2 réplicas del control negativo):

$$\% \text{ IN} = \frac{C\bar{N}\bar{x} - CN\bar{x} - \text{muestra A (450)}}{CN\bar{x} - CP\bar{x}} \times 100$$

Interpretación de resultados de suero para vIBR.

Para la interpretación de los resultados es preciso obtener el valor de **IN** (Índice Relativo x100) de cada muestra. Las muestras de prueba son positivas o negativas de acuerdo al resultado el valor de IN. (IDEXX)

VALOR %IN	ESTADO INMUNE FRENTE A vIBR
Mayor o igual a 55	POSITIVO
Mayor o igual a 45; Menor a 55	DUDOSO
Menor a 45	NEGATIVA

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) EN LAS COMUNIDADES DE COTAÑA Y CENTRAL YANARICO DEL DISTRITO DE VILQUE DE LA PROVINCIA DE PUNO.

La tabla 2, Muestra la seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacas del distrito de Vilque -Puno

Tabla 2: Seroprevalencia general de IBR en vacunos de la raza brown Swiss las comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque – Puno.

Variable de estudio	N° ANIMALES AVALUADOS	N° DE CASOS POSITIVOS	SEROPREVALENCIA %
Vacuno	90	00	00

Fuente: *elaboración propia.*

De las 90 muestra examinadas, no se detectaron animales positivos de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en las comunidades del distrito de Vilque, estos resultados demuestran que los animales no fueron expuestos al virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), debido a que el VHB-1 se transmite en forma directa por aerosoles producto de estornudos o por contacto con animales infectados, así mismo de secreciones respiratorias oculares y del tracto reproductivo o en forma indirecta a través de materiales y equipos. El virus también puede ser transmitido por el semen durante la monta natural o inseminación artificial (Van Oirschot,et al 1995).

Los resultados obtenidos en el trabajo de investigación son inferiores al reportado por Sanchez, (2003) donde determino el VHB-1 en 12 hatos lecheros del Valle de Lima; donde reporta prevalencia de IBR de 36%, detallándose y anticuerpos contra el

VHB-1 en las tres zonas de muestreo Norte 46%, Centro 13%, Sur 50% respectivamente, la prevalencia viral fue superior en los establos con mayor tamaño poblacional siendo de 43%, así como en animales mayores de dos años la prevalencia es de 40% a diferencia de los animales menores de 2 años que es 12 %. Así mismo; Rosadio et al. (1993), en establos de engorde de vacunos de la ciudad de Lima encuentra 36.5% de prevalencia a IBR, lo cual es superior al encontrado en las comunidades de Cotaña y Central Yanarico. Esta diferencia se debería a que los bovinos de Lima tienen una crianza intensiva, de mayor confinamiento. Mientras la crianza en el distrito de Vilque es semi intensiva; además Lima y sus valles se encuentra a bajas altitudes con climas cálidos en verano y húmedos en invierno entretanto la comunidad de Vilque está a 3860 m.s.n.m con un clima seco y frío que caracteriza al altiplano Puneño. Pidone et al., (1999) indica que este virus se puede reactivar ante situaciones de estrés, con o sin presencia de enfermedad aguda o subclínica; como sucede en Lima que a su ambiente el vIBR tiene más probabilidades de diseminarse, ocasionando reactivación del virus y siendo el animal infectado diseminador del virus de Rinotraqueitis Infecciosa por sus secreciones, que podrían infectar a otros bovinos susceptibles diseminándose de esta manera la enfermedad en los establos e incrementándose la prevalencia; mientras en los inviernos con temperaturas bajas y veranillos que se producen estacionalmente en el distrito de Vilque estarían atenuando a los virus y no haya la diseminación del virus IBR, podemos indicar que los vacunos de las comunidades del distrito de Vilque presenta un factor leve por el manejo adecuado de sus propietarios; además se indica que en estos establos de Lima, la utilización de inseminación artificial se practica más de 3 décadas, lo que facilita la difusión del virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, tampoco se conoce que las pajillas que se utilizan para la inseminación artificial (toros infectados con el virus) estén libres de IBR; en

cambio las comunidades del distrito de Vilque la inseminación artificial se utiliza con machos reproductores libres de IBR, según reporte de la oficina de asuntos agropecuarios de la municipalidad.

Así mismo, Condori (2014) obtuvo una seroprevalencia general del vIBR de 11.88% (19/160) en la Microcuenca Llallimayo - Melgar de los Distritos LLalli, Umachiri y Cupi de la Provincia de Melgar de la Región Puno; SENASA (servicio nacional de sanidad animal) en el año 2013 obtuvo una prevalencia general de 11.6% (54/464) del virus de rinotraqueitis infecciosa bovino en el departamento de Puno. Así mismo Estofanero (2015), encontró una prevalencia de 7,69% (6/78) del virus Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en la comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco, Yana (2018) reporto de 79 bovinos muestreados, 28 resultaron seropositivos a IBR que representa el 35.4% de prevalencia en centro experimental de Chuquibambilla, UNA - Puno. Estos reportes muestran que la seroprevalencia de vIBR en los distritos de la zona norte de región de Puno son superiores a los encontrados en las comunidades Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque. Esta diferencia se debe a que las provincia de Melgar, Azángaro y Huancané la crianza de vacunos es mayor cantidad al distrito de Vilque y no hay un buen manejo sanitario como indica Pidone et al., (1999); Un buen manejo sanitario debería evitar el ingreso del virus al hato, entre las medidas de control se recomienda supervisar el movimiento de ganado evitando el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado sanitario, realizar cuarentena y análisis serológicos anuales para evaluar el estado de la enfermedad en el hato con eliminación de animales seropositivos; de la misma forma el mejoramiento genético se hace a través del uso de inseminación artificial, la cual es un medio para la fertilización de los vacunos pero se desconoce que las pajillas que se utilizan de los machos estén libres del virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), por lo cual, el

virus puede ser transmitido por el semen durante la monta natural o inseminación artificial tal como lo indica Van Oirschot, et al (1996) e incluso durante la transferencia de embriones, Wentik et al., (1993); Así podemos indicar que existen productores de esas cuencas lecheras, que producen pajillas de toros de los mismos hatos para realizar la inseminación artificial, sin la autorización de Servicio de Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) que estos sementales estén libre de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina), la utilización de pajillas es un medio de difusión del vIBR, mientras que en el distrito de Vilque se utiliza pajillas certificadas libres de IBR.

Así mismo Estofanero (2015), encontró una prevalencia de 7,69% (6/78) del virus Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en la comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco, Yana (2018) reportó de 79 bovinos muestreados, 28 resultaron seropositivos a IBR que representa el 35.4% de prevalencia en centro experimental de Chuquibambilla, UNA - Puno. Estos reportes muestran que la seroprevalencia de vIBR en los distritos de la zona norte de región de Puno son superiores a los encontrados en las comunidades Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque. Esta diferencia se debe a que las provincia de Melgar, Azángaro y Huancané la crianza de vacunos es mayor cantidad al distrito de Vilque y no hay un buen manejo sanitario como indica Pidone et al., (1999); Un buen manejo sanitario debería evitarse el ingreso del virus en el hato, entre las medidas de control se recomienda supervisar el movimiento de ganado evitando el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado sanitario, realizar cuarentena y análisis serológicos anuales para evaluar el estado de la enfermedad en el hato con eliminación de animales seropositivos; de la misma forma el mejoramiento genético se hace a través del uso de inseminación artificial, la cual es un medio para la fertilización de los vacunos pero se desconoce que las pajillas que se utilizan de los machos estén libres del virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), por lo cual, el

virus puede ser transmitido por el semen durante la monta natural o inseminación artificial tal como lo indica Van Oirschot, et al (1996) e incluso durante la transferencia de embriones, Wentik et al., (1993); Así podemos indicar que existen productores de esas cuencas lecheras, que producen pajillas de toros de los mismos hatos para realizar la inseminación artificial, sin la autorización de Servicio de Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) que estos sementales estén libre de Rinotraqueitis Infeccios Bovina), la utilización de pajillas es un medio de difusión del (vIBR), mientras que en el distrito de Vilque se utiliza pajillas certificadas libres de IBR.

De esta forma también los resultados de 0.0 % podemos afirmar a la ausencia de migración de sus animales como en caso de plazas de ganado semanales, ferias ganaderas es uno de los factores para la diseminación de enfermedad. La migración es uno de los factores que tiene influencia en la prevalencia de cualquier enfermedad (Wayne et al, 1997); así se demuestra que las zonas reportadas positivas al vIBR en la región de Puno existe este tipo de migración de animales plazas de ganado, ferias ganado como en las provincias de Melgar y Azángaro. Así se demuestra que el contacto es directo de animales PI (persistentemente infectados) especialmente nariz-nariz con un vacuno susceptible, es el mecanismo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. El contacto directo con animales que sufren una infección aguda también puede transmitir el virus. El semen crudo o crio preservado de toros PI (persistentemente infectados) o con infección aguda también es una importante vía de transmisión horizontal (Houe, et al 1995). Las fuentes principales de infección son el exudado nasal y aerosoles, secreciones genitales, semen, líquidos y tejidos fetales; los vacunos de todas las razas y edades son susceptibles a la enfermedad, pero principalmente son afectados animales mayores de 6 meses por hallarse más expuestos a la infección. (Blood y Radostitis1992).

La infección también puede ser transmitida al ganado susceptible, por utilización de guantes, espéculos o camas contaminadas. El virus es albergado latentemente por animales portadores sanos que periódicamente sufren exacerbaciones de la enfermedad, con excreción del virus (Pidone et al., 1999).

4.2. SEROPREVALENCIA AL RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) EN VACUNOS BROWN SWISS DEL DISTRITO DE VILQUE – PUNO, SEGÚN SEXO.

De las muestras examinadas en el presente trabajo, según sexo (machos y hembras), 11 machos analizados reportan 0.0 % de prevalencia al virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina, de igual forma las 79 hembras analizadas arrojaron 0.0 % de casos positivos en el distrito de Vilque.

Houe, et al (1995) indica que el IBR es una enfermedad que se transmite a través del semen, por lo que los sementales juegan un papel importante en la diseminación del virus. Lo que sugiere implementar mejoras en las medidas de bioseguridad al momento de introducir reemplazos o sementales provenientes de otras regiones. Por lo tanto, los toros infectados podrían ser una importante fuente de trasmisión de IBR. Eskra et al (1997) manifiesta que los toros pueden tener en forma latente el IBR y esto puede jugar un papel importante en la difusión del virus.

4.3. SEROPREVALENCIA AL VIRUS DE LA IBR EN VACUNOS BROWN SWISS DEL DISTRITO DE VILQUE – PUNO, SEGÚN EDAD

Los resultados del presente trabajo, donde las muestras fueron sometidos a la prueba de ELISA para determinar de Seroprevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss, en el distrito de Vilque fue de 0.0%, tanto para vacas preñadas, animales menores a 2 años y mayores a 2 años.

Los resultados del trabajo, donde las muestras fueron sometidos a la prueba de ELISA para determinar la Seroprevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss, en el distrito de Vilque fue de 0.0%, tanto vaquillas, animales menores a 2 años y mayores a 2 años.

Sánchez, (2003), en el valle de Lima determinó una prevalencia de 43% y 12% en animales de más de dos años y menores de dos años de edad, respectivamente. Así mismo, Condori, (2014) reporta para la microcuenca Llallimayo, Provincia de Melgar, en vacunos menores de 2 años y mayores de 2 años se detectaron 11.29% y 12.24% de seroprevalencia respectivamente.

La diferencia en la prevalencia de IBR entre los diferentes distritos puede ser por la migración de sus animales ya que el animal de las zonas de estudio con mayor porcentaje de prevalencia de la región de Puno existe intercambio entre productores por la compra y venta de animales “plazas de ganado”, ferias ganaderas, etc. donde existe el traslado de sus animales. Wayne et al, (1997) indica que la migración es uno de los factores que tiene influencia en la prevalencia de cualquier enfermedad; de esta manera los animales se contagian de manera directa en estos eventos, porque existe estrés de los animales y el contacto directo entre un animal sano con otro animal infectado. Este tipo de migración en plazas de ganado y ferias ganaderas en el distrito de Vilque son muy reducidas comparando en los distritos que reportan positivos al virus de rinotraqueitis infecciosa bovina. Según Blood y Radostitis (1992), las fuentes principales de infección son el exudado nasal, aerosoles, secreciones genitales, semen, líquidos y tejidos fetales; los vacunos de todas la razas y edades son susceptibles a la enfermedad, pero principalmente son afectados animales mayores de 6 meses por hallarse más expuestos a la infección.

V. CONCLUSIONES

La Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos de la raza de Brown Swiss, en las comunidades de Cotaña y Central Yanarico del distrito de Vilque, provincia de Puno, región Puno, al análisis de ELISA se determinó la ausencia de anticuerpos de IBR, por lo tanto, estas comunidades están libres de la enfermedad.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Sensibilizar y capacitar a los productores de las comunidades del distrito de Vilque para declare como libre de Rinotaqueitis Infecciosa Bovina, además que puedan tomar las principales medidas de prevención y control, con la finalidad de evitar la diseminación y transmisión de (IBR) en la zona.
- ✓ Indicar a SENASA que implemente programas periódicos para detección de IBR
- ✓ se recomienda supervisar el movimiento de ganado evitando el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado sanitario, realizar cuarentena y análisis serológicos anuales para evaluar el estado de la enfermedad en el hato con eliminación de animales seropositivos.

VII. REFERENCIAS

- Babiuk, L., S. Van Drunen Lrttel-Van Den Hurk, y S. Tikoo, (1996). Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Vet Microbiol.* 53: 31-42.
- Banks, M. (1999) Lining With IBR. *Holstein Journal* 3:84-87.
- Boelaert, F., P. Borona.; B. Soumare., M. Dispas., E. Vanopdenbosch., J. Vermeersch., A Raskin (2000). prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Preventive Veterinary medicine.* 45: 285-295.
- Chase, C., L. Braun, J. Jessen y D. Hurley, (1995). Studying virus cell interactions: finding new ways to prevent infectious bovine rhinotracheitis in Cattle. *Departments Of Veterinary Science And Biology/yicrobiology.*
- Cenagro, 2012. IV Censo Nacional Agropecuario (**CENAGRO**)
- Condori, D. (2014). Seroprevalencia de RIB en la Microcuenca Llallimayo, Provincia de Melgar. Tesis Fac. Med. Vet. Y Zoot. UNA-Puno.
- Cuesta, M. (2009). Introducción al muestreo. Universidad de Ovideo.
- Engels, M. y M.Ackermann, (1996). Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet Microbiol.* 53: 3-15.
- Estofanero, J. (2015). Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la Comunidad de Huancollusco del Distrito de Taraco Huancane. Tesis UNA-PUNO.
- Fenner, B., (1995). Herpesvirus. En: *Virología Veterinaria.* Ed Acribia. Zaragoza.
- Guzman, P. (2014). Prevalencia de la Diarrea Viral Bovina en vacunos de la raza Holstein en el Distrito de Pisac provincia de Calca - Cusco. Tesis, UNA-PUNO.
- Houe, H., J. Baker y R. Maesr. (1995). Prevalence of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus in 20 dairy herds in 2 counties in central michigan and comparison of-prevalence oif antibody - positivo cattle among herds with different infection and vaccination status. *J Vet Diagn Invest*7: 321- 326.
- Huacasi B., (2018). Seroprevalencia de Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y diarrea viral bovina (BVD) en vacunos Brown Swiss de la comunidad de Huisacollana del distrito de Yauri – Espinar – Cusco. Tesis de la Facultad de Med. Vet. Y

Zootecnia. 1056 UNA-PUNO.

- OIE, (2000). Office Internacional Of Epizooties. Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis. En: Manual Of Standards Diagnostic Tests And Vaccines.
- Blood D. y O. Radostits. (1992). Enfermedades de animales domésticos. Medicina veterinaria. Séptima edición Mcgraw Gill.
- Flint S., R. Krug, V. Racaniello, A. Skalka (2000) Principles of virology. Molecular Biology, pathogenesis and control, 1st ed. ASM Press, Washington D. C.
- Jones, C. (1999). Alpha herpesvirus latency: its role in disease and survival of the virus in nature. *Adv Virus Res.* 51: 81-133.
- Kaashoek, M., F. Rijsewijk, R. Ruuls, G. Keil, E. Thiry, P. Pastoret y J. Van Oirschot. (1998). Virulence, Immunogenicity and reactivation of bovine herpesvirus mutants with a deletion in the Gc, Gg, Gi Or Gc gene, *Vaccine.* 16:802-809.
- Lértora W. (2003). Diarrea Viral Bovina: Actualización. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE Argentina. 1: 42-51.
- Martin S., A. Mekk, P. Willeberg y J. Tarazona 1997. *Epidemiología Veterinaria: Principios y métodos.* Zaragoza (España). Acribia.
- Luzuriaga, L. G. (2012). Prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa (IBR) en el Ganado bovino del Canton Quilanga. Universidad Nacional de Loja. Area Agropecuaria y de Recursos Loja Ecuador.
- Manchego, N. Rivera, H., A. Sandoval, A. Vargas, A. Araujo, A. Gonzáles, y R. Rosadio, (1998). Aborto infeccioso en bovinos de leche del Valle De Lima. *Rev Inv Pee Ivita (Perú).* 6: 31-37.
- Mars, M., M. De Jong, y J. Van Oirschot, (2000). A ge-negative bovine herpesvirus 1 vaccine strain is not re-excreted nor transmitted in an experimental cattle population after corticosteroid treatments. *Vaccine* 18:1975 – 81
- Martínez P. y I. Rivera, (2008). Antecedentes, generalidades y actualización en aspectos de patogénesis, diagnóstico y control de la Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). *Microbióloga Agrícola y Veterinaria.* Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria. Tesis. Bogotá D.C

métodos. Edit. ACRIBIA, S.A.

- Obando, R. y M. Rodríguez, (2005), manual de ganadería doble propósito. Cap. A. P. 52 – 64
- Parientes, A. (2006). Anticuerpos contra el virus causante de la rinotraqueitis infecciosa en vacunos de la Provincia de Melgar. Puno: Tesis Bach Fac Med Vet y Zoot Univ Nac del Altiplano. Perú.
- Pidone, C., M. Galosi, y M. Etcheverrigaray. (1999). Herpesvirus Bovinos 1 y Analecta Veterinaria (Argentina). 19: 40-50.
- Richey, E. (1994) IBR In beef cattle (Infections bovine rhinotracheitis/red nose).
- Rios Z. y E. Alberto. (2009). Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la Provincia de Parinacochas-Perú.
- Rivera, H. (1993). El virus de la diarrea viral bovina (BVD). Rev Inv Pec Ivita (Perú). 6: 1-7.
- Rivera, H., A. Manchego, N. Sandoval, C. Morales, y E. Flores. (1994). Complejo respiratorio bovino en terneros del valle de Lima. Rev Inv Pec IVITA (Perú). 7: 35-38.
- Rosadio, R., Rivera, H. Y Manchego, A. (2015). Prevalence of neutralising antibodies to bovine herpesvirus -1 in Peruvian Livestock. Vet Rec. 132: 611-612.
- Rosadio, R., Rivera, H., Manchego, A., Sandoval, N., Vargas, A., Araujo, A., y Gonzáles, A. (1993). Aborto infeccioso en bovinos de leche del valle de Lima. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú).
- Sánchez, T. (2003). Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado lechero del Valle De Lima. Tesis Bach Fac Med Vet Univ Nac Mayor De San Marcos. Perú.
- Sánchez, G., Benito, A., y Rivera, H. (2003). Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis. Rev Inv Vet Perú, 54-60.
- SENAMHI, (2018). Servicio de metereologia e hidrologia
- Suni, L. A. (2014). Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina en la cuanca lechera del Distrito de Moquegua. Tesis. UNA-PUNO.

- Tevez, F. (2015). Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos del Distrito de Nuñoa - Melgar. Ayaviri.
- Thrusfield, M.I. (1990). Epidemiología veterinaria. 1ra. Edición, Editorial Acribia, España.
- Van Oirschot, J., F. Rijsewijk, P. Straver, R. Ruuls, A. Quak, A. Davidse, F. Westenbrink, A. Gielkens, J. Van Dijk and A. Moerman (1993). Virulence and Genotype of Bovine Herpesvirus Type 1 Isolate from Semen of a Subclinically Infected Bull. In: Veterinary Record. Vol. 137. p. 235-239.
- Valdez, E. (2015). Prevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina y Diarrea Viral Bovina en Vacunos de la Pampa de Anta Región Cusco. Tesis EPG Maestría en Ciencia Animal. Univ. Nac. del Altiplano, Peru.
- Van Oirschot, J., F. Rijsewijk y M. Kaashoek, (1996). Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. Vet Microbiol. 53:43-54.
- Vilca, J. (2014). Seroprevalencia de Anticuerpos contra el Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el Distrito de Azángaro - Puno. Tesis UNA-PUNO.
- Villacaqui, E.; Manchego, A.; Bazán, V; Rivera, H. (2006). Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en bovinos de crianza extensiva en la zona de Cajamarca. Rev. investig. vet. Perú v.17 n.2, P.144-147.
- Wayne, S., Meek, A., Willeberg, P. (1997). Epidemiología veterinaria – Principios y métodos. Edit acribia. S.A
- Wellenberg, G., E. Verstraten, M. Mars and van Oirschot. (1998). ELISA detection of antibodies to glycoprotein E of bovine herpesvirus 1 in bulk milk samples. Vet Rec. 142: 219-220.
- Wentink, G., J. Van Oirschot, y J. Verhoeff. (1993). Risk of infection with bovine herpes virus 1 (bvh-1): a review. Veterinary Quartely. 15: 30-33
- Winkler, M., A. Coster, y C. Jones. (2000) A. Persistente and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently intectes calves. J Virol. 74: 5337-46.
- Yana, M. (2018) seroprevalencia de diarrea viral bovina y rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos del centro de investigación y producción de chuquibambilla UNA PUNO 2018-
- Zacarias, R. (2002). Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Bovinos criollos de crianza extensiva de la Provincia de Parinacochas Ayacucho. Tesis

UNMSM Perú.

Zanabria, V., H. Rivera, y R. Rosadio. (2000). Etiología del Síndrome Neurológico Agudo en Vacunos de Engorde en Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú* 11: 67-85.

ANEXOS



Figura 2. Recolección de muestra



Figura 3. Rotulado de las muestras obtenidas y su conservación.



Figura 4. Reactivos del KIT DE ELISA



Figura 5. Adición de muestra al KIT de ELISA

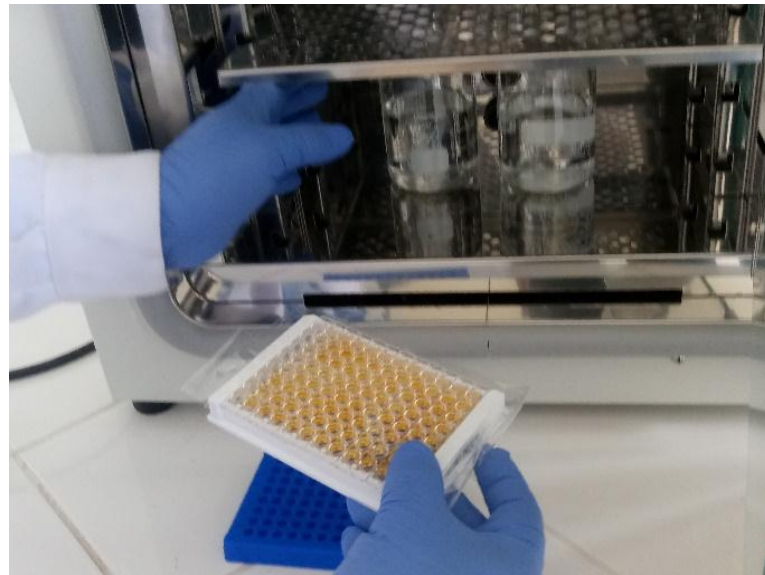


Figura 6. Incubación de las muestras por 15 minutos



Figura 7. Lectura del KIT de ELISA

Tabla 1. Ficha de muestreo nombre del productor y fundo.

Famil./lugar asignado	Nombre del productor	Fundo
1	Damián vilca flores	Comunidad Cotaña
2	Evaristo flores Ramírez	Comunidad Cotaña
3	Leonarda Quispe vilca	Comunidad Cotaña
4	celestino flores Ramírez	Comunidad Cotaña
5	Irene flores Ramírez	Comunidad Cotaña
6	Candy Quispe Quispe	Comunidad Cotaña
7	Jorge flores Quispe	Comunidad Cotaña
8	Alex pilco pino	Comunidad Central Yanarico
9	Teodora Ramírez Meneses	Comunidad Central Yanarico
10	Felipe flores flores	Comunidad Central Yanarico
11	Silverio Quispe chuquicallat	Comunidad Central Yanarico
12	Jesuzacero apaza	Comunidad Central Yanarico
13	Evaristo otazu vilca	Comunidad Central Yanarico

Fuente: elaboración propia

Tabla 2. Resultados emitidos por la prueba de ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C=-1.420	5=1.390	13=1.093	21=1.368	29=1.271	37=1.430	45=1.624	53=1.303	61=1.413	69=1.454	77=1.306	85=1.361
B	C=-1.552	6=1.335	14=1.323	22=1.352	30=1.399	38=1.336	46=1.403	54=1.070	62=1.425	70=1.183	78=1.385	86=1.296
C	C+0.276	7=1.361	15=1.409	23=1.219	31=1.139	39=1.439	47=1.392	55=1.426	63=1.433	71=1.387	79=1.252	87=1.365
D	C+0.267	8=1.388	16=1.360	24=1.276	32=1.357	40=1.427	48=1.470	56=1.311	64=1.302	72=1.433	80=1.222	88=1.198
E	1=1.378	9=1.334	17=1.228	25=1.296	33=1.288	41=1.423	49=1.443	57=1.438	65=1.369	73=1.484	81=1.459	89=1.288
F	2=1.560	10=1.469	18=1.317	26=1.034	34=1.282	42=1.333	50=1.366	58=1.241	66=1.109	74=1.509	82=1.383	90=1.409
G	3=1.438	11=1.450	19=1.344	27=1.306	35=1.312	43=1.491	51=1.384	59=1.404	67=1.475	75=1.486	83=1.243	
H	4=1.453	12=1.466	20=1.448	28=1.171	36=1.439	44=1.431	52=1.428	60=1.403	68=1.512	76=1.528	84=1.453	

Tabla 3. Interpretación de la tabla emitido por la prueba de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	20.51	22.19	38.82	23.43	28.86	19.96	9.10	27.06	20.91	18.61	26.90	23.82
B	13.13	25.27	25.94	24.32	21.69	25.22	21.47	40.11	20.24	33.78	22.47	27.46
C	84.55	23.82	21.13	31.77	36.24	19.45	22.08	20.18	19.79	22.36	29.92	23.59
D	85.05	22.31	23.87	28.58	24.04	20.12	17.72	26.62	27.12	19.79	31.60	32.94
E	22.87	25.33	31.26	27.46	27.90	20.35	19.23	19.51	23.37	16.93	18.33	27.90
F	12.68	17.77	26.28	42.12	28.24	25.38	23.54	30.53	37.92	15.53	22.59	21.13
G	19.51	18.84	24.77	26.90	26.56	16.54	22.53	21.41	17.44	16.82	30.42	
H	18.67	17.94	18.95	34.45	19.45	19.90	20.07	21.47	15.37	14.47	18.67	

Tabla 3. Resultados de la seroprevalencia de virus de IBR

N°	Familia/lugar	Nombre del animal	Estado	+/-
1	1	Carla	PP	NEGATIVO
2	1	gunderver	MACHO	NEGATIVO
3	1	Mery	HEMBRA	NEGATIVO
4	1	Alicia	PS	NEGATIVO
5	1	estrella	HEMBRA	NEGATIVO
6	1	Tomasa	PP	NEGATIVO
7	1	Juana	PP	NEGATIVO
8	1	luz	HEMBRA	NEGATIVO
9	1	daya	VP	NEGATIVO
10	1	pilar	VP	NEGATIVO
11	1	velen	HEMBRA	NEGATIVO
12	1	juan	MACHO	NEGATIVO
13	1	Greis	VP	NEGATIVO
14	2	blanca	PP	NEGATIVO
15	2	lucho	MACHO	NEGATIVO
16	2	flor	HEMBRA	NEGATIVO
17	2	María	PP	NEGATIVO
18	2	Norma	PP	NEGATIVO
19	2	melisa	PP	NEGATIVO
20	2	trini	HEMBRA	NEGATIVO
21	2	lucha	PS	NEGATIVO
22	2	Blanca	VP	NEGATIVO
23	3	crystal	VS	NEGATIVO
24	3	Sandra	HEMBRA	NEGATIVO
25	3	Amarrilla	PP	NEGATIVO
26	3	nena	VS	NEGATIVO
27	3	lola	VS	NEGATIVO
28	4	Lucy	VP	NEGATIVO
29	4	María	VP	NEGATIVO
30	4	Martha	HEMBRA	NEGATIVO
31	5	letí	HEMBRA	NEGATIVO
32	5	Paola	VS	NEGATIVO
33	5	criss	VP	NEGATIVO
34	5	clara	PP	NEGATIVO
35	6	Rosy	HEMBRA	NEGATIVO
36	6	Rafael	MACHO	NEGATIVO
37	6	mocha	VP	NEGATIVO
38	6	Martha	PP	NEGATIVO
39	6	melisa	VP	NEGATIVO
40	6	Paola	PP	NEGATIVO
41	7	Juanito	MACHO	NEGATIVO
42	7	Blanca	PP	NEGATIVO
43	7	rosa	HEMBRA	NEGATIVO
44	7	mocha	VS	NEGATIVO
45	8	nely	HEMBRA	NEGATIVO
46	8	maria	VP	NEGATIVO
47	9	jacarero	MACHO	NEGATIVO
48	9	wunder	MACHO	NEGATIVO

49	9	clara	VS	NEGATIVO
50	9	Carla	VP	NEGATIVO
51	9	yola	PS	NEGATIVO
52	9	flor	HEMBRA	NEGATIVO
53	9	blanca	VS	NEGATIVO
54	10	Bertha	VP	NEGATIVO
55	10	yudy	VS	NEGATIVO
56	10	blanca	VP	NEGATIVO
57	10	lica	VP	NEGATIVO
58	10	lola	VP	NEGATIVO
59	10	rosa	VS	NEGATIVO
60	10	Liz	HEMBRA	NEGATIVO
61	10	liset	HEMBRA	NEGATIVO
62	11	leydy	PP	NEGATIVO
63	11	mily	PS	NEGATIVO
64	11	keca	PS	NEGATIVO
65	11	cachuda	PP	NEGATIVO
66	11	santa	PS	NEGATIVO
67	11	yaqui	VS	NEGATIVO
68	11	Carol	HEMBRA	NEGATIVO
69	11	Beto	MACHO	NEGATIVO
70	11	dulce	PP	NEGATIVO
71	11	luna	PP	NEGATIVO
72	11	lisa	VS	NEGATIVO
73	11	Colonia	VS	NEGATIVO
74	11	Cielo	HEMBRA	NEGATIVO
75	12	mocha	VS	NEGATIVO
76	12	rosa	VP	NEGATIVO
77	12	pedro	MACHO	NEGATIVO
78	12	María	PS	NEGATIVO
79	12	Carina	PP	NEGATIVO
80	12	Antonia	PS	NEGATIVO
81	12	pepe	MACHO	NEGATIVO
82	12	Rosy	PP	NEGATIVO
83	13	isulina	PS	NEGATIVO
84	13	Pancha	PS	NEGATIVO
85	13	Ruth	PS	NEGATIVO
86	13	yola	PS	NEGATIVO
87	13	norma	PS	NEGATIVO
88	13	Carla	VS	NEGATIVO
89	13	Raúl	MACHO	NEGATIVO
90	13	blanca	PS	NEGATIVO

Fuente: elaboración propia.