



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



**SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL
BOVINA (vDVB) DE LA RAZA BROWN SWISS EN LA CUENCA
LECHERA DEL DISTRITO DE ASILLO**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. FREDY VARGAS MACHACA

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PUNO – PERÚ

2020



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DI
ARREA VIRAL BOVINA (vDVB) DE LA RA
ZA BROWN SWISS EN LA CUENCA LECH
ERA DEL DISTRITO DE ASILLO**

AUTOR

FREDY VARGAS MACHACA

RECuento de palabras

17014 Words

RECuento de caracteres

90362 Characters

RECuento de páginas

88 Pages

Tamaño del archivo

3.2MB

Fecha de entrega

Sep 11, 2022 8:18 PM EST

Fecha del informe

Sep 11, 2022 8:23 PM EST

● 9% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 8% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 2% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 20 palabras)



Firmado digitalmente por COILA
ANASCO Pedro Ubaldo FAU
201454961710 Inhard
Motivo: Doy V°B°
Fecha: 16.01.2024 18:23:34 -05:00

Resumen



DEDICATORIA

A Dios por ser el aliciente en nuestras vidas y fuente

de nuestra lucha diaria por seguir el camino correcto.

A la memoria de mi padre Julián Eladio Vargas y a mi querida madre Patricia Machaca Apaza, a quienes extraño por su apoyo de siempre, aunque ya no están, pero siento su presencia junto a mí, a ellos les debo la vida y mis logros.

En honor a mis hermanos -Ricardo, Rosa, Jerónimo, Maria, Ernesto, Jenry y Silvia- que han estado a mi lado pase lo que pase, les dedico esta obra con todo mi cariño.

A la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y sus profesores quienes me transmitieron los mejores y mayores conocimientos para formarme de manera eficaz como los mejores profesionales con deseo de superación y sensibilidad social.

Fredy Vargas Machaca.



AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano por contribuir con mi formación integral a lo largo de mi carrera profesional.
- Gracias a todos los que han enseñado en los salones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- A los investigadores de salud animal del Centro Experimental Chuquibambilla.
- Agradecemos sinceramente la ayuda prestada para la realización y redacción de este estudio al Dr. Sc. Natalio Luque Mamani y al Mg. Sc. Diannett Benito López.
- A los miembros del jurado más valioso MVZ. Ciriaco Teodoro Zúñiga Zúñiga. Se agradece a la M. Sc. Nubia Lilia Catacora Flores y a la Mg. Sc. Diannett Benito López por sus útiles sugerencias y ediciones al documento de estudio.
- Se agradece a los ganaderos que mantienen vacas Brown Swiss en la cuenca lechera del distrito de Asillo Azángaro por permitirnos realizar un trabajo magistral en sus animales.
- A todos mis amigos, compañeros y personas que fui conociendo a través del tiempo, que en más de una oportunidad me ayudaron a seguir adelante, mi agradecimiento a todos ustedes: Alex Inofuente, Raúl Zapana, Blas Huacasi, Julio Huaylla, Renzo Choquenaira, Nilton Quispe, etc. Por todas las increíbles experiencias que viví durante mi formación profesional.

Fredy Vargas Machaca.



INDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

INDICE DE TABLAS

INDICE DE ACRONIMOS

RESUMEN 10

ABSTRACT..... 11

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN..... 13

1.1.1. Objetivo general 13

1.1.2. Objetivos específicos..... 14

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES..... 15

2.1.1. A nivel mundial 15

2.1.2. A nivel nacional 16

2.1.3. A nivel regional 18

2.2. MARCO TEORICO 20

2.2.1. Agente Etiológico..... 21

2.2.2. Genoma del virus 21

2.2.3 Clasificación..... 24

2.3. EPIDEMIOLOGÍA 26



2.3.1. Fuente de la infección	26
2.3.2. Métodos de transmisión	26
2.4. PATOGÉNESIS	27
2.4.1. Infección subclínica.....	28
2.4.2. Infección aguda	29
2.4.3. Enfermedad de las mucosas	30
2.4.4. Síndrome Hemorrágico	30
2.4.5. Complejo respiratorio.....	31
2.4.6. Trastornos reproductivos.....	31
2.5. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS.....	31
2.6. DIAGNÓSTICO.....	32
2.6.1. Aislamiento viral en cultivo celular	32
2.6.2. Detección de antígeno virales	32
2.6.3. Detección de anticuerpos	34
2.6.4. Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR	35
2.7. PREVENCIÓN Y CONTROL	35
2.7.1. Vacunas	36
CAPITULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1. LUGAR DE ESTUDIO	39
3.1.1. Animales.....	39
3.1.2. Materiales y Equipos.....	40
3.1.3. Reactivos.....	41
3.2. MÉTODO	42
3.2.1. Tamaño Muestral.....	42



3.2.2. Obtención de las muestras	42
3.2.3. Detección de anticuerpos contra vDVB.	43
3.2.4. Análisis Serológico	43
3.3. ANÁLISIS DE DATOS	46
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. SEROPREVALENCIA GENERAL	48
4.2. SEROPREVALENCIA SEGÚN SEXO (MACHOS Y HEMBRAS < DE 2 AÑOS)	50
4.3. SEROPREVALENCIA SEGÚN EDAD	53
4.4. SEROPREVALENCIA SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO	56
4.5. SEROPREVALENCIA SEGÚN ESTADO PRODUCTIVO.....	58
V. CONCLUSIONES.....	61
VI. RECOMENDACIONES	62
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS.....	77

ÁREA: Salud Animal.

TEMA: Seroprevalencia de vDVB en Asillo.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 16 de enero del 2020.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Kit de vDVB.....	78
Figura 2. Reactivos	78
Figura 3. Idexx.....	78
Figura 4. Agua esteril	78
Figura 5. Centrifuga.....	79
Figura 6. Lector de Elisa.....	79
Figura 7. Micropipeta	79
Figura 8. Refrigeradora.....	79
Figura 9. Adición del diluyente	80
Figura 10. Solución de frenado.....	80
Figura 11. Reacción después de agregar el frenado	80
Figura 12. Adición del subtrato	80
Figura 13. Reacción con el cromógeno	81
Figura 14. Lector de Elisa.....	81



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Se están distribuyendo animales para hacer pruebas serológicas con el método ELISA para la DVB	40
Tabla 2. Contenido del kit ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab).....	41
Tabla 3. Interpretación de resultados.....	46
Tabla 4. Seroprevalencia global para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss en el distrito de Asillo	48
Tabla 5. Seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss según sexo (Machos y Hembras < de 2 años) en el distrito de Asillo.....	50
Tabla 6. Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacunos Brown Swiss para la edad (mayor de dos años y menor de dos años).....	53
Tabla 7. Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (preñadas en producción y vacías en seca).....	56
Tabla 8. Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado productivo (vacías en producción y preñada sin producción).....	58



INDICE DE ACRONIMOS

Acs:	Anticuerpos.
AV:	Aislamiento Viral.
ARN:	Ácido Ribonucleico.
CP:	Citopatogénico.
DVB:	Diarrea Viral Bovina.
ELISA:	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas.
Gp:	Glicoproteína.
IF:	Inmunofluorescencia.
IHQ:	Inmunohistoquímica.
NCP:	No Citopatogénico.
PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa.
PI:	Persistentemente Infectados.
P:	Prevalencia.
vDVB:	Virus de la Diarrea Viral Bovina.
VN:	Neutralización Viral.
VLM:	Virus Vivo Modificado.
Σ:	Sumatoria.
χ^2:	Valor de ji-cuadrado.
θ_i:	Frecuencia de valores observados.
e_i:	Frecuencia de valores esperados.



RESUMEN

Dicho presente trabajo de investigación fue realizada en el distrito de Asillo provincia de Azángaro departamento de Puno a 3,913 m. de altura; durante los meses de enero a octubre del 2018, cuyo propósito fue establecer la seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, teniendo en cuenta las siguientes variables, sexo (machos y hembras mayores de dos años), edad (mayores de dos años y menores de dos años), en estado reproductividad (preñadas en producción y vacías en seca) y estado de productividad (vacías en productividad y preñadas no productivas), las muestras de sangre se logró obtener de la vena yugular, el cual se utilizó aguja n° 20 x 1½ pulgadas en tubos vacutainer sin anticoagulante de noventa y dos vacunos de la raza Brown Swiss. Las muestras fueron examinadas en el laboratorio de salud animal con sede en el Centro Experimental Chuquibambilla de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA Puno, por medio de la prueba de ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab) indirecta cuyos datos fueron procesados por la prueba estadística de Chi-cuadrado, logando obtener los resultados siguientes; la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en el distrito de Asillo fue de cincuenta y cinco punto cuarenta y tres por ciento ; dependiendo el sexo (macho y hembra) fue de cincuenta y cincuenta y dos punto noventa y cuatro por ciento respectivamente, no encontrando diferencia estadística (p menor o igual a cero punto cinco); para la edad (mayor de dos años y menor de dos años) fue de cincuenta y uno punto setenta y dos y cincuenta y siete punto catorce por ciento; no encontrando diferencia estadística (p menor o igual a cero punto cinco); estado de reproducción (preñadas en productividad y en vacías sin productividad) el cual fue de 68.75 % y 66.67 %, no encontrando diferencia estadística (p menor o igual a cero punto cinco) y finalmente el estado de producción (vacías en productividad y preñadas sin producción) fue de 40 % y 52.94 %, no encontrando diferencia estadística (p menor o igual a cero punto cinco). Por consiguiente, en dicho trabajo de investigación se demostró la presencia de anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina en el distrito de Asillo.

Palabras clave: anticuerpos, Diarrea viral bovina (DVB), ELISA, seroprevalencia.



ABSTRACT

The present research work was carried out in the district of Asillo, province of Azángaro, department of Puno, at 3,913 meters above sea level. altitude; during the months of January to October 2018, whose purpose was to establish the seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea, taking into account the following variables, sex (males and females older than two years), age (older than two years and younger than two years), Reproductive status (pregnant in production and dry cows) and productive status (cows in production and non-productive pregnant cows). Blood samples were obtained from the jugular vein using a 20 x 1½ inch needle in vacutainer tubes without anticoagulant from ninety-two Brown Swiss cattle. The samples were examined in the animal health laboratory at the Chuquibambilla Experimental Center of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry UNA Puno, by means of the indirect ELISA test (IDEXX BVDV p80 Ab) whose data were processed by the Chi-square statistical test, obtaining the following results; the seroprevalence of bovine viral diarrhea virus in the district of Asillo was fifty-five point forty-three percent; according to sex (male and female) was fifty and fifty-two point ninety-four percent respectively, with no statistical difference (p less than or equal to zero point five); for age (older than two years and younger than two years) was fifty-one point seventy-two and fifty-seven point fourteen percent; with no statistical difference (p less than or equal to zero point five); reproductive status (pregnant in production and cows without production) was 68.75% and 66.67%, respectively; reproductive status (pregnant in production and cows without production) was 68.75% and 66.67%, respectively. 75 % and 66.67 %, with no statistical difference (p less than or equal to zero point five) and finally the productive status (cows in production and pregnant without production) was 40 % and 52.94 %, with no statistical difference (p less than or equal to zero point five). In conclusion, in the present research work, the existence of antibodies to bovine viral diarrhea virus in the district of Asillo was demonstrated.

Keywords: antibodies, Bovine viral diarrhea (DVB), seroprevalence, ELISA.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los trastornos reproductivos causan una extensa diversidad de problemas en la ganadería mundial. Estos problemas se manifiestan en el campo como abortos, infertilidad y anormalidades físicas y neurológicas en la progenie, lo que resulta en pérdidas económicas (Motta, 2013).

En la región de Asillo, conocida como distrito ganadero, la cría de ganado es la base económica de muchos hogares rurales, que lo hacen a través de la venta de leche u otros subproductos de la producción ganadera. El control de la dieta, la reproducción y la sanidad son tres de los factores muy primordiales las que perturban a la rentabilidad de la ganadería.

Esta enfermedad se asocia con síntomas digestivos, incluyendo descomposición y erosiones Enel canal alimenticio, revoluciones reproductivas (fallos, anomalías congénitas e esterilidad) y signos respiratorios. La DVB es una enfermedad donde las poseen en un buen porcentaje de la población bovina. Provoca pérdidas económicas que no son fácilmente cuantificables y se desconoce el verdadero impacto en la producción (Odeón, 2015). La diarrea viral bovina es una enfermedad el cual origina pérdidas económicas que no son fácilmente cuantificables (Hilbe et al., 2007).

El vDVB, puede manifestarse de forma citopatógena o no citopatógena. Según la secuencia de su ácido nucleico, puede dividirse en dos genotipos: tipo I y tipo II. Según Rondón (2006), los virus aislados dentro de estos grupos presentan una importante variación biológica y antigénica (Manual de Animales Terrestres de la OIE, 2004).

Una infección aguda provoca una enfermedad de las mucosas, una menor tasa de concepción, infecciones fetales que provocan abortos, defectos fetales, retraso dentro de



su desarrollo y la pérdida de los animales. También provoca la infección de los fetos, lo que da lugar a terneros con infección persistente (PI). Los animales más jóvenes son los que están más expuestos a contraer otras enfermedades, y puede producirse casualmente una mortalidad por enfermedad de las mucosas (House, 2003).

Existen variaciones en la incidencia de la DVB en diversas regiones del mundo. Esto es probablemente consecuencia de las distintas técnicas de gestión del ganado y de las estructuras de los rebaños en cada región. (Arauco 2018).

En la cuenca lechera del distrito de Asillo podemos encontrar mucha ignorancia o desconocimiento que tienen la gran mayoría de los productores de estas patologías y de su efecto negativo que causa en la producción y reproducción. En la actualidad existen muy pocos antecedentes sobre estudios del vDVB, por consiguiente, dicho estudio pretende identificar la seroprevalencia del vDVB en este distrito. El mismo que servirá como base para futuros estudios epidemiológicos de dicho agente viral que a su vez podrían disminuir el impacto negativo que pueda tener sobre la producción y reproducción animal en el distrito de Asillo, esto mediante la creación de medidas que permitan prevenir y controlar esta enfermedad y así reducir de forma significativa el impacto que este agente ejerce sobre los índices productivos y reproductivos.

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en vacunos de la raza Brown Swiss en la cuenca lechera del distrito de Asillo.



1.1.2. Objetivos específicos

- a) Determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral Bovina según sexo (machos y hembras < 2 años).
- b) Determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral Bovina para la edad (< de 2 años y > de 2 años).
- c) Determinar la seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina según estado reproductivo (preñadas en producción y vacía en seca).
- d) Determinar la seroprevalencia según estado productivo (vacías en producción y preñadas sin producción).



CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. A nivel mundial

La BVD fue reportada inicialmente en el año 1946 en los Estados Unidos. Los informes a nivel mundial alcanzan niveles del 0,5 al 25 del ganado PI y del 60 AL 80% del ganado seropositivo (Lértora, 2003; Yana, 2018). Esta enfermedad obtuvo una distribución en todo el mundo, y la infección es prevalente en un gran porcentaje de las poblaciones de vacas.

Se observó una seroprevalencia global del veinticuatro, veintitrés y dieciséis por ciento en los años dos mil siete, dos mil nueve y dos mil once respectivamente. Se tomaron muestras de un total de 31975 animales de 4857 rebaños de los Países Bajos con el objetivo de realizar una gestión periódica mediante el sacrificio a nivel de rebaño. (Van Duijn, 2019).

En un trabajo de seroprevalencia realizado en Chile, establece para la región metropolitana 59.7%, IX región 67.8%, por región 69.2% en ganado lechero y ochenta y seis por ciento en ganado de carne; para 4 fincas de la zona de Temuco de ciento cuarenta sueros analizados se establece veinte cinco punto diecisiete por ciento de prevalencia. (Barrientos, 2002).

En el estado de Cojedes (Venezuela) se realizó una investigación tales resultados fueron qué; los bovinos adultos de Finlandia y Noruega presentaban una tasa de infección subclínica que oscilaba entre el cincuenta y noventa por ciento. (Corrales y García, 2003).



El método ELISA se utilizó para examinar quinientas muestras de sangre tomadas de vacas Holstein-Fresian en el estado mexicano de Hidalgo. La cohabitación serológica de *N. caninum* con los virus de la IBR y la DVB dio lugar a un treinta punto seis por ciento y un treintitres punto seis por ciento de animales infectados, respectivamente (Sánchez, 2012).

En un estudio realizado en la zona del Cesar, Colombia, se pudo examinar 905 muestras de sangre de bovinos con la finalidad de descubrir anticuerpos contra el vDVB y el canal fue la prueba de ELISA. Los investigadores descubrieron que el 55% de la población bovina tenía ceroprevalencia contra el DVB. (Garcia, 2016).

2.1.2. A nivel nacional

En la década de 1960, Perú fue catalogado como la primera nación del mundo infectada por el vDVB como resultado de la importación de vaquillas de un país en el que la enfermedad es prevalente. Tras una investigación epidemiológica posterior, se estableció que el vDVB se encuentra presente en la población bovina de la nación. (Rivera, 1993).

En una investigación que se realizó en dos hatos lecheros del departamento de Arequipa, se determinó una prevalencia de VDVB en animales PI de veintisiete punto ocho por ciento para el hato A y de cero punto dieciséis por ciento para el hato B. La Universidad de Arequipa fue quien realizó la investigación (Morales et al., 2001).

En el departamento de Ayacucho, las provincias de Huamanga y Cangallo proporcionaron un total de trecientas ochenta y cinco muestras de sangre de bovinos que no tenían antecedentes de vacunación. Estas muestras se sometieron a una prueba de diagnóstico ELISA indirecta, que reveló que el 65.3% de los animales presentaban anticuerpos contra el vDVB. Además, al desglosar los resultados por sexos, 75.3% de las



hembras serorreactivas y el setenta y cinco por ciento de los machos eran seropositivos (Bautista, 2011).

En una investigación realizada en la cuenca lechera del departamento de Moquegua en el año dos mil catorce se obtuvo una seroprevalencia global del 29.63%. Esta cifra se desglosó de la siguiente manera: en cuanto a bovinos (< de 2 años y > de 2 años), fue de 9.68% y; cuarenta y dos por ciento en cuanto al sexo, fue de veinticinco por ciento para los machos y 29.87% para las hembras; en cuanto al estado reproductivo, fue 33.33% para las vacas preñadas y 45.45% para las vacas vacías (Suní, 2014).

En el transcurso de una investigación que se realizó en el Valle del Mantaro de Junín, se recogieron un total de cuatrocientas veinte cinco muestras de sangre con cuyo propósito de fijar la seroprevalencia del vDVB. Tanto la prevalencia de la muestra como la prevalencia fueron del sesenta y cuatro punto ocho por ciento. La prevalencia de la muestra fue de 66.3% (Arauco, 2018).

Para establecer la seroprevalencia del vDVB en el ganado criollo de San Pablo de Cajamarca, los investigadores tomaron trecientas ochenta y cinco muestras de sangre de los animales. Se demostró que el veintisiete punto uno por ciento de estas muestras de sangre tenía una seroprevalencia global; sin embargo, 61.2% (cuarenta y siete/sesenta y seis) de los animales que tenían más de un año tenían anticuerpos (Herrera, 2011).

Utilizando la prueba ELISA, se estableció la seroprevalencia de animales PI en el cien por ciento de los bovinos de ambos sexos, entre las edades de cuatro y veinte cuatro meses (n=mil ciento veintinueve). Esto dio como resultado una seroprevalencia global de animales con IP de uno punto sesenta y ocho por ciento (diecinueve/mil ciento veintinueve). El departamento de Tacna fue el único en el que se realizó este estudio. Según la edad, se descubrieron más casos positivos en el rango de edad de dieciséis a



veinticuatro meses con un dos punto dos por ciento (siete/trecientos quince), y según el sexo, detectados en hombres 1.99% (siete/trecientos cincuenta y uno) y en hembras uno punto cincuenta y cuatro por ciento (doce/setecientos setenta y ocho). (Mamani 2010).

En Yauri, Espinar Cusco, de un total de ciento diecinueve muestras de sangre, se reportó una prevalencia global de vDVB de 58.8%; según estado reproductivo, 58.8% para vacas infértiles y setenta y uno punto dos por ciento para vacas lactantes; según sexo, cincuenta por ciento para machos y sesenta punto dos por ciento para hembras; según estado reproductivo (Huacasi, 2018).

2.1.3. A nivel regional

Un total de 71 bovinos, tanto de la raza Pardo Suizo como Criollo, fueron ubicados en la estación experimental Illpa INIA Puno con el propósito de realizar un estudio de investigación para evaluar la seroprevalencia del vDVB. Del uso de la prueba diagnóstica ELISA indirecta surgieron los hallazgos siguientes: la seroprevalencia total resultó ser de veinticinco punto treinticinco por ciento (setenta y uno/dieciocho); según el sexo, fue de catorce punto veintinueve por ciento (veinte y uno/tres) en los machos y de treinta por ciento (veinte/quince) en las hembras; según la edad, fue de 18.42% (treinta y ocho/siete) en las vaquillas y de 33.33% en los maduros (Quiñones 2006).

Los bovinos criollos de Melgar Puno proporcionaron a los investigadores 347 muestras de sangre; de ellas, el 48.7% de los animales resultaron positivos a los anticuerpos contra el vDVB. (Quispe, 2012).

En el estudio que se realizó con cuyo propósito de establecer la seroprevalencia del vDVB en bovinos Brown Swiss, se realizó en el distrito de Vilque en el departamento de Puno, de un total de noventa animales muestreados y realizados por la prueba de ELISA; quienes obtuvieron un 65.66% de seroprevalencia. (Huaylla, 2018).



Se tomaron un total de noventa muestras de suero sanguíneo de hembras bovinas de las razas Brown Swiss, Charoláis y Aberdeen Angus para evaluar la seroprevalencia del VDVB en el CIP Chuquibambilla UNA Puno. Los investigadores descubrieron que la seroprevalencia del VDVB era del 43.40% en todos los casos. (Soto 2018).

En el estudio que se realizó con la intención de evaluar la seroprevalencia del vDVB en el ganado Brown Swiss de la región de Paucarcolla, se descubrió que la seroprevalencia total del vDVB fue del sesenta punto cuarenta y cuatro por ciento. (Choquenaira, 2018).

Se realizó un estudio de la seroprevalencia del vDVB en 3 localidades del distrito de Taraco, donde se demostró una seroprevalencia total del 68.67% según la edad, se pudo observar un 83.60% en animales maduros frente a un 37.93% en animales jóvenes; en relación al sexo, se observó una mayor seroprevalencia del setenta por ciento en los machos frente a un veintiuno punto cero cinco por ciento en las vacas hembras; según el estatus productivo, para las vacas secas (Quispe, 2018).

Se encontró que los ganados que presentaron anticuerpos contra el vDVB en sus distritos de la provincia de Melgar, oscilan entre catorce más, menos cero puntos diecinueve a ochenta y nueve más menos cero puntos veinte dos. Se obtuvieron un total de trecientas treinta y siete muestras de suero en la provincia de Melgar, las cuales fueron muestreadas al azar. Los resultados mostraron que el 47+0,05 por ciento (ciento setenta y seis/trecientos treinta y siete) de las muestras fueron positivas. (Quispe, R. 2008)

2.1.4 A nivel distrital

Utilizando la prueba ELISA indirecta para poder detectar los anticuerpos, se realizó una investigación con cuyo propósito de establecer la seroprevalencia del vDVB.



La investigación se realizó en vacas lecheras Brown Swiss de la cuenca lechera de la localidad de Progreso en el distrito de Asillo. La investigación determinó que había un 58.49% de seroprevalencia del DVB en estas vacas. (Laura, 2010).

2.2. MARCO TEORICO

La DVB es una enfermedad infecciosa y contagiosa el cual afecta especialmente al ganado vacuno. Es la enfermedad más común de su tipo en el mundo, y es responsable de un importante número de pérdidas económicas debido a la gran variedad de síntomas clínicos que puede causar. La DVB es objeto de diferentes acciones de control y destrezas de eliminación en países de todo el mundo (Lanyon, 2014).

Los bovinos de todas las edades pueden contraer la DVB, que está causada por un pestivirus el cual provoca importantes pérdidas económicas en el campo de la ganadería debido a su amplia gama de manifestaciones clínicas, que incluyen, entre otras, abortos, fetos sin vida y resecos, crías que en el momento de nacer se encuentran débiles y malformados, así como también con dificultades neurológicas, y anomalías congénitas en las crías. (Corro, 2017).

Las manifestaciones clínicas son hinchazones erosivas agudas, gastroenteritis y disentería. La depresión de la función inmunitaria hace que el organismo sea más vulnerable a las infecciones secundarias. Las pérdidas, las reabsorciones fetales, la esterilidad, de la misma manera nacen terneros con hipoplasia cerebelosa se han relacionado con estas enfermedades. (Baez, 2000).



2.2.1. Agente Etiológico

2.2.1.1. Taxonomía

Los pestivirus ahora están divididos en cuatro especies: el virus de la peste porcina clásica (vPPC), de la enfermedad de las fronteras (vEF) y dos genotipos del Vdvh (genotipo 1 y genotipo 2;). El vDVB es un miembro del género Pestivirus, que forma parte de la familia Flaviviridae. (Gonzales, 2015).

2.2.1.1.1. Características generales del virus de la diarrea viral bovina (vDVB)

En cuanto a su morfología, tiene la forma de una partícula esférica con un diámetro de entre cuarenta y sesenta nanómetros (nm), y está compuesta por una cápside icosaédrica cuyo tamaño oscila entre veinticinco y treinta y siete nm y está rodeada por una membrana lipoproteica. (Vargas, 2012).

2.2.2. Genoma del virus

Es un ARN monocatenario positivo de unos doce punto tres kilobytes de longitud y tiene un marco de lectura (ORF) que está delimitado por 2 secciones no traducidas en los extremos 5' y 3' respectivamente (Wang, 2020). La traducción del código genético a una poliproteína es el primer paso en la biosíntesis de un virus. Esta poliproteína se escinde durante y después del proceso de traducción, lo que da lugar a la formación de una variedad de proteínas estructurales y no estructurales para el virus. (Ridpath, 2005).

2.2.2.1. Proteínas del virus.

El genoma del vDVB consta de entre 12,0 y 12,5 kilobases y contiene la información genética en una molécula de ARN monocatenario de polaridad positiva. (Paton y Potgieter 1995).



- Npro/p20: es una proteína no estructural que se traduce a partir del ORF. Actúa como una autoproteasa y se crea a partir del extremo N-terminal de la proteína C/p14. La replicación del ARN viral no requiere la presencia de esta proteína (Ridpath, 2005).
- La C/p14: es la proteína que se encuentra en mayor cantidad; es tanto un componente de la cápside viral como un antígeno del grupo viral. Es responsable de empaquetar el ARN genómico y facilitar las interacciones esenciales en el lugar donde se fija la envoltura del virión en la célula. El ganado no desarrolla una respuesta de anticuerpos a esta proteína cuando la consume. (Chase *et al.*, 2004).
- Erns/E0/gp48: Glicoproteína que está unida a la envoltura viral el cual es la responsable en un gran porcentaje de la generación de anticuerpos, mientras que tiene una capacidad de neutralización muy limitada. Durante el proceso de replicación viral, es una ARNasa que se libera al espacio extracelular por exocitosis (Chase *et al.*, 2004).
- E1/gp25 esta también es otra glicoproteína de la envoltura que puede detectarse en los viriones. Está unida por un puente disulfuro a la E2/gp53 y forma un enlace covalente con ella. Esta proteína no produce una reacción humoral discernible cuando se administra (Chase *et al.*, 2004).
- E2/gp53: Esta glicoproteína es la más crítica para el virión, así como el antígeno del serotipo. Esta glicoproteína incluye los epítomos que, tras la infección o la vacunación con vacunas activas o inactivas, hacen que el organismo produzca anticuerpos capaces de neutralizar la infección. Además, se ha relacionado con otros procesos biológicos, como el ensamblaje de los virus y la unión de los receptores celulares. (Chase *et al.*, 2004).



- p7: Es una proteína no estructural, que al parecer esta desempeña un trabajo decisivo en la generación y el ensamblaje de los virus infecciosos. La replicación del ARN viral no requiere la presencia de esta proteína (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS2-3/p125: Esta proteína es necesaria para la multiplicación viral, es la mejor conservada entre todos los pestivirus, el cual posee propiedades de helicasa y proteasa, y es esencial para la replicación viral; posee dos dominios que ejercen de forma independiente, NS2/p54 y NS3/p80, y cada dominio posee un conjunto único de propiedades químicas. Los animales que se infectan con el virus modificado o que se vacunan con él generan una robusta respuesta humoral contra la proteína la cual es la responsable de las reacciones cruzadas con el VCP y VEF. (Potgieter, 1995).
- NS2/p54: Es el resultado de que NS2-3/p125 pase por el proceso proteolítico. Esta proteína tiene la capacidad de unirse al ARN. Tiene un dominio que es similar a los dedos de zincfinger (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS3/p80: Esta proteína, que determina el fenotipo del vDVB y se origina en la NS2-3/p125, presenta actividad NTPasa en el extremo amino terminal y actividad helicasa en el extremo carbono terminal. Es el resultado de los cambios o recombinaciones que tienen lugar entre el ARN del vDVB y el ARN celular o el ARN viral después de que el ARN viral se haya duplicado. Cuando se trata de reacciones de anticuerpos en terneros vacunados, la proteína NS3 es el antígeno inmune dominante (Chase et al., 2004; Goyal y Ridpath, 2005).
- La NS4A/p10 es una proteína hidrofóbica no estructural que actúa como cofactor necesario tanto para la serina proteasa NS3/p80 como para el complejo NS2-3/p125. (Goyal y Ridpath, 2005).



- NS4B/p32: Es una proteína hidrofóbica y no estructural. Está relacionada con la síntesis de NS3/p80 del fenotipo CP y es un regulador primordial de la citopatogenicidad de la cepa NADL del vDVB. Esta proteína es un componente de la enzima replicasa (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS5A/p58: es una fosfoproteína de serina la cual está estrechamente relacionada con una o más quinasas. Es un componente del complejo proteico NS5A. Además, desempeña un papel en la producción de la replicasa. (Goyal y Ridpath, 2005).

2.2.3. Clasificación

Debido a la diversidad genética y antigénica del vDVB, así como a su estrecha asociación con otros miembros del género de los pestivirus, la categorización de este virus puede resultar difícil (Lertora, 2003).

La suposición de que puedan existir dos categorías de poblaciones bovinas, los bovinos PI y los bovinos normales o limpios de infección, está implícita en el hecho de que los pestivirus se clasifican como biotipos del vDVB: los biotipos citopáticos (CP) y no citopático (NCP). (Soto, 2018).

2.2.3.1. Genotipos

El vDVB se ha clasificado en dos genotipos, I y II, según los resultados de las investigaciones de secuenciación genética (Ridpath et al., 2005). Hay tres zonas hipervariables en los genomas de ambos genotipos que incluyen variaciones entre sí; dos de estas zonas las podemos encontrar en la región gp53/E2 (Kobrak y Weber, 1997). Investigaciones recientes que utilizan la RT-PCR para examinar la región 5 del genoma han llevado a la diferenciación de tres subgenotipos separados dentro del genotipo I. Estos subgenotipos se denotan con las letras Ia, Ib e Ic (Sanjuan et al, 1999).



Las siguientes cepas del virus de la gripe se incluyen en la categoría del genotipo viral I: NADL, SINGER, NY-I, virus C, TGAN y Osloss. El genotipo viral II está compuesto por las cepas que se asocian a un síndrome hemorrágico agudo mortal en Estados Unidos y Canadá. Este genotipo también incluye cepas que fueron separadas de animales PI nacidos de vacas que habían sido vacunadas contra el vDVB, así como cepas que fueron separadas de sueros fetales. (Rivera, 2008; Huaylla 2018).

2.2.3.2. Biotipos del virus

Se han identificado como cepas del BVDV tanto los biotipos citopáticos CP, que son responsables de los efectos citopáticos evidentes, como las cepas no citopáticas NCP, que prosperan en los cultivos celulares sin generar alteraciones visibles y las células infectadas parecen normales (Yavru, 2013). A pesar de ello, los biotipos NCP siguen siendo perjudiciales, siendo este biotipo en particular el más común en la naturaleza, mientras que está ausente en un gran porcentaje de las formas clínicas y es el único que posee la capacidad de inducir una infección crónica. El biotipo CP se derivó del biotipo NCP por mutación, es decir, la pérdida de segmentos del genoma viral, la duplicación o reordenación del ARN viral o la inserción de segmentos de ARN viral en el biotipo CP. (Soto, 2018).

Tanto la similitud antigénica entre el VDV B CP y el NCP como la aparición espontánea de la enfermedad en la mucosa en presencia de ambos biotipos en un mismo animal pueden explicarse por su origen común. (Paton, 1995).

2.3. EPIDEMIOLOGÍA

2.3.1. Fuente de la infección

Los animales PI son los principales vectores de la infección y reservorios del virus en la naturaleza, ya que exudan el virus perennemente en forma de mucosidades nasales, saliva, orina, deposiciones, esperma, leche, lágrimas, etc. Los animales con infecciones agudas sólo excretan una cantidad mínima de virus durante unos días (Yavru, 2013).

Aunque los animales infectados de forma aguda pueden propagar el virus por medio de sus secreciones y excreciones de forma muy similar a los animales infectados de forma persistente (animales PI), la cantidad de virus propagada por estos animales es sustancialmente menor y la duración de la transmisión es mucho más corta (Houe, 1995; Kirkland y Macintosh, 1994).

Se ha aislado el virus en ovejas, cabras e incluso en algunos animales salvajes y cautivos, por lo que podrían ser un vector de la enfermedad. (Houe, 1995).

2.3.2. Métodos de transmisión

La transmisión vertical transplacentaria es posible, así como la transmisión horizontal por contacto directo o indirecto. Los animales infectados con IP pueden transmitirla a otras especies por contacto directo, a menudo a través de la inyección de esperma infectado en un huésped vulnerable. Las picaduras de chinches hemófagos y la esterilización inadecuada de los instrumentos quirúrgicos son dos ejemplos de vectores que propagan la enfermedad indirectamente en entornos ganaderos. (Nava, 2013).

2.3.2.1. Transmisión Vertical

Es posible que el virus se transmita desde el esperma de un toro infectado o PI al feto a través de la placenta en una hembra vulnerable durante el embarazo. Aunque la



transmisión horizontal ocurre primero, las hembras seronegativas pueden infectarse por inseminación con esperma infectado, y si se generan hijos PI, entonces hay una transmisión vertical. Aunque los terneros PI tienen una alta tasa de mortalidad (Obando y Rodríguez, 2005), algunos pueden vivir hasta la madurez y tener descendencia que también es PI. Esto puede repetirse durante varias generaciones, creando familias de animales PI. (Houe, 1995).

2.3.2.2. Transmisión Horizontal

Son también una línea recta o curva. Aunque el contacto directo con animales con enfermedad aguda es poco frecuente, puede ocurrir (Quiñones, 2006; Huacasi, 2018) cuando los animales infectados muerden o arañan a un animal vulnerable, o cuando los animales infectados se lamen las heridas.

Momentos después de entrar en contacto con animales PI, la transmisión puede producirse de forma indirecta a través de las picaduras de insectos y animales hematófagos, la manipulación inadecuada debido al uso de artículos contaminados y los procedimientos de bioseguridad deficientes. Es un virus que se destruye rápidamente por factores como las altas temperaturas, la sequedad, la radiación UV, el detergente, el disolvente orgánico y los valores de pH fuera del rango de 5,7 a 9,3. (Nava, 2013; Quispe, 2018).

2.4. PATOGÉNESIS

Las lesiones y los síntomas clínicos causados por el vDVB pueden variar en gran medida en relación a una serie de situaciones, entre ellas incluyen: la cepa o el biotipo viral; la edad y el estado inmunológico del huésped; la respuesta inmunitaria provocada; el estrés; otras infecciones concurrentes, etc. (Lertora, 2003; Yana, 2018).



Las infecciones afectan principalmente a los sistemas urinario, cardíaco, digestivo, renal y reproductivo, provocando infertilidad, abortos y desperfectos congénitos en no nacidos y terneros recién nacidos debido a la viremia transitoria previa a la seroconversión, lo que a su vez provoca disfunción reproductiva y depresión del estado inmunitario, beneficiando la aparición y propagación de enfermedades secundarias. (Arauco, 2018)

Algunos investigadores creen que el biotipo CP se propaga bien entre los animales vulnerables porque se replica más eficientemente en la mucosa nasal que el biotipo NCP. (Baule et al 2001).

La proteína de la envoltura E2 facilita las primeras etapas de la replicación, que incluyen la adhesión a la membrana plasmática y la entrada en la célula (Morales, 2001). Los virus entran en el citoplasma por endocitosis mediada por receptores y liberan su genoma en el citosol tras sufrir una fusión de la envoltura con la membrana endosomal dependiente del pH (Johnson et al, 2001).

El virus libre en el suero o en los leucocitos infectados propaga la infección. Los leucocitos, especialmente los linfocitos, los monocitos, los linfoblastos circulantes y las células precursoras de los macrófagos, son especialmente importantes en este proceso (Johnson et al, 2001). (Baule et al, 2001).

2.4.1. Infección subclínica

La alta morbilidad y la baja mortalidad son típicas de las infecciones producidas por este virus; en un gran porcentaje de los casos no presentan ningún síntoma o simplemente son leves, caracterizados por fiebre, secreción oculonasal y leucopenia transitoria. La respuesta inmunológica contra la reinfección por cepas homólogas del



virus comienza alrededor del día 14 después de la infección, alcanzando un máximo alrededor del día 28. (Lertora, 2003; Quispe, 2018).

El vDVB rara vez causa enfermedad en animales inmunocompetentes, pero puede tener un papel en la aparición de infecciones secundarias, especialmente las de tipo respiratorio como el complejo respiratorio bovino, debido a su función inmunosupresora (Obando et al., 2006).

Las mujeres embarazadas con PI suelen dar a luz a bebés que presentan anomalías, nacen prematuramente, tienen un desarrollo retrasado y tienen problemas para ser amamantados. (Bock *et al.*, 2000).

Chase (2004), señala que algunos terneros no superan los seis primeros meses de vida porque su sistema inmunitario no puede soportar la enfermedad. Por otro lado, algunos parecen desarrollarse con normalidad. Una prueba de la interacción sinérgica entre el vDVB y otras infecciones es la inmunotolerancia a los antígenos del vDVB en los ganados PI.

El virus se replica en la vesícula seminal y en la próstata de los toros infectados agudamente (PI) (Kirkland y Macintosh, 1994), y el semen infectado resultante se transmite a las vacas vulnerables. Los espermatozoides que han sido infectados por el VDVb tienden a tener una forma irregular, lo que disminuye la calidad general del semen. (Baker, 1995).

2.4.2. Infección aguda

A animales de entre 6 meses y 2 años de edad que sean seronegativos e inmunocompetentes. Al cabo de 5-7 días, se aprecian síntomas como pérdida de apetito, secreción oculonasal, lesiones orales (erosiones/ulceraciones) y diarrea. Hay mucha



enfermedad, pero no muchas muertes. El virus puede ser aislado de las secreciones y fluidos corporales, y bajas cantidades de virus son eliminadas por el animal afectado (Arauco, 2018).

Los animales jóvenes (menores de 6 meses) suelen ser inmunes a la infección por el BVDV. Los terneros recién nacidos infectados suelen desarrollar una forma de enteritis potencialmente mortal. (Baker, 1995).

2.4.3. Enfermedad de las mucosas

La sobreinfección del animal PI con el biotipo NCP y CP del vDVB está relacionada con la EM, que causa una morbilidad mínima y una alta mortalidad. Normalmente, los animales de entre 3 meses y dos años se ven afectados por este tipo ocasional del virus. Los síntomas incluyen diarrea severa, lesiones gastrointestinales como erosiones y úlceras, lesiones en los espacios interdigitales y epiteliales, y la baja general de peso corporal (Reichel, 2018).

Una cepa de CP de origen externo o una generada a partir de cambios genéticos o recombinación de ARN de las cepas originales de NCP, que puede ocurrir como resultado de reordenamientos genómicos o la inserción de secuencias celulares, causa la enfermedad en el ganado cuando los animales PI infectados con una cepa de NCP se sobreinfectan. (Rondon, 2006; Berrios, 2015).

2.4.4. Síndrome Hemorrágico

La diarrea sanguinolenta, la trombocitopenia, la leucopenia, la epistaxis, la congestión de la conjuntiva y las mucosas, las pérdidas petequiales y equimóticas en las mucosas, la fiebre, la leucopenia, la linfopenia, la neutropenia, la anemia y la mortalidad



en los animales son síntomas del síndrome hemorrágico. Como resultado de una cepa no citopática, la enfermedad suele ser mortal. (Berrios, 2015).

2.4.5. Complejo respiratorio

El VDVB promueve la inmunosupresión sistémica y pulmonar, lo que a su vez potencia la patogenicidad de los agentes del complejo respiratorio bovino CRB (Baker 1990).

La enfermedad respiratoria severa conocida como CRB también es una de las dificultades las cuales ocasionan fuertes pérdidas económicas en el mundo entero, y el vDVB amplifica otras infecciones virales y bacterianas como Coronavirus, rotavirus, enfermedad de la nariz roja, Neumona crónica, Salmonella spp., infección parasitaria, etc. (Fulton *et al*, 2000).

2.4.6. Trastornos reproductivos

Cuando la maduración del folículo está retrasada, la dinámica de folículo aberrante, la disminución de los niveles circulantes de estradiol y la falta de picos preovulatorios de la hormona luteinizante son algunos de las consecuencias de una infección aguda por el vDVB. (Quispe, 2018).

2.5. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

Estos virus tienen una gran similitud por el tejido linforreticular, produciendo necrosis y atrofia de estas estructuras; el vDVB induce leucopenia el cual afecta a las actividades de los leucocitos; y potencia la patogenicidad de las bacterias infecciosas y oportunistas. El virus se concentra en las células del estroma, como los macrófagos y las células de soporte, en el tejido linfoide. La necrosis linfoide se produce como resultado de una anomalía funcional en las células intersticiales, que son responsables de



producir citoquinas esenciales para la formación, maduración y capacitación de los linfocitos. (Lertora, 2003; Huacasi, 2018).

2.6. DIAGNÓSTICO

Este se realiza con el propósito de poder identificar y erradicar el ganado PI, principal reservorio y transmisor del virus. Cuando realizamos dicho diagnóstico, se tiene que separar el virus y eliminarlo del rebaño bovino (Dubovi, 2013).

Hay tres pasos críticos que deben darse para intentar el control: localizar y erradicar los animales PI, reforzar la respuesta inmunitaria tras la vacunación e instituir precauciones de bioseguridad. (Berrios, 2015).

2.6.1. Aislamiento viral en cultivo celular

Dependiendo del tipo de células utilizadas, el aislamiento viral es el estándar de oro, ya que es muy sensible y garantiza un resultado 100% específico. Aunque tiene el potencial de ayudar en el control y la eliminación de un problema, tiene una serie de inconvenientes (Rivera, 2008; Lanyon, 2014).

Las líneas celulares fetales bovinas de riñón, pulmón o cornete nasal deben estar libres de vDVB (Bolin, 1990), y del mismo modo, el suero fetal bovino, el cual es utilizado tiene que estar limpio de vDVB y de anticuerpos neutralizantes. (Edwards, 1990).

2.6.2. Detección de antígeno virales

Según Lértora (2003), los animales con PI pueden ser reconocidos mediante el uso de una combinación de pruebas serológicas y ensayos de identificación viral



realizados en muestras de sangre. La técnica de detección de antígenos virales es uno de los procedimientos de diagnóstico de laboratorio más utilizados.

2.6.2.1. Inmunoperoxidasa (IP)

Se trata de un ensayo inmunohistoquímico rápido desarrollado por el IHQ que puede identificar antígenos virales del VDVB en muestras de tejido que han sido recién extraídas o fijadas con formalina. Para dicha prueba se tiene que utilizar un anticuerpo monoclonal o policlonal que ha sido marcado con una enzima peroxidasa. De igual manera, dicha prueba admite conocer la arquitectura del tejido y, por extensión, las lesiones histológicas, las cuales podrían estar presentes en la zona. Tanto la sensibilidad como la especificidad de esta prueba son del noventa y siete por ciento. (Lértora, 2003).

2.6.2.2. Inmunofluorescencia

Un ensayo inmunohistoquímico rápido que utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales marcados con fluorocromos específicos del vDVB para identificar el antígeno viral en muestras de tejido fresco. (Lértora, 2003).

2.6.2.3. ELISA de captura de antígenos

La prueba ELISA es capaz de "capturar" antígenos del VDVB en muestras de suero sanguíneo porque emplea anticuerpos monoclonales o policlonales. Este método se utiliza para la detección generalizada de animales de IP porque, en comparación con el aislamiento del virus, es eficiente en cuanto a tiempo y costes (Lanyon, 2014).

Los métodos ELISA basados en anticuerpos policlonales pueden detectar una amplia gama de vDVB porque pueden utilizarse para identificar proteínas y glicoproteínas de cepas antigénicamente distintas. El enfoque pudo demostrar que se encuentra una buena sensibilidad y especificidad (99.97% correspondientemente) en



comparación con el aislamiento viral y está a la par con los sistemas ELISA que utilizan un conjunto de anticuerpos monoclonales. (Saliki y Dubovi. 2004).

2.6.3. Detección de anticuerpos

El ELISA, que significa ensayo inmunoenzimático, y la neutralización viral son los dos tipos de pruebas que se utilizan con más frecuencia en el proceso de detección de anticuerpos contra el vDVB. (Kramps et al., 1999).

2.6.3.1. Neutralización Viral

Esta prueba tiene la capacidad de procesar in vivo o in vitro para cuantificar el efecto inhibitor de anticuerpos determinados sobre la capacidad de infectar, la replicación y el efecto citopatógeno del virus en cultivos celulares. Esta prueba es hondamente concreta y se usa en la detección del vDVB, y está aprobada en todo el mundo como referencia para los anticuerpos contra el vDVB. (Lanyon, 2014).

2.6.3.2. Inmunoabsorcancia Ligada a Enzimas (ELISA)

Dichas pruebas se utilizan a menudo porque los resultados no necesitan cultivos celulares, pueden utilizarse con muestras de leche, plasma y suero, los resultados pueden obtenerse en cuestión de horas y pueden automatizarse (Sandvik, 1999).

Son fáciles de implementar en pruebas a gran escala, no necesitan cultivos celulares, proporcionan resultados rápidamente y se consideran confiables, todo lo cual contribuye al uso generalizado de la prueba en serología. El ELISA indirecto mide la presencia de anticuerpos observando cuánto color se forma en respuesta a la interacción enzima-sustrato, mientras que el ELISA de bloqueo mide la presencia de anticuerpos midiendo cuánto desarrollo de color se inhibe en respuesta a la presencia de anticuerpos. (Soto, 2018).



2.6.4. Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR

Dicha técnica es empleada para el acrecentamiento selectiva in vitro de una sección específica del genoma viral, y es particularmente sensible al vDVB. Estos compuestos artificiales pueden funcionar como un bloque de construcción de ADN. Este método se basa en el hecho de que las moléculas de ARN marcadas (llamadas sondas) se unen exactamente a sus homólogos en la molécula objetivo (en este caso, el cADN del vDVB). La especificidad de esta unión se debe a que la sonda y el ácido nucleico del virus coinciden perfectamente. El método de PCR en tiempo real se utiliza para analizar la filogenia y el genotipo del vDVB y de otros pestivirus debido a su rapidez, precisión y a que no es necesario el análisis por electroforesis. (Rivera, 2008; Centeno 2018).

2.7. PREVENCIÓN Y CONTROL

Las medidas de bioseguridad, la identificación y eliminación de los animales PI y la vacunación contra el vDVB son los tres pilares fundamentales que constituyen la base de los programas de prevención y control. Estos programas pueden utilizar una amplia variedad de herramientas de diagnóstico, y estas herramientas cambiarán dependiendo de las circunstancias iniciales de la granja. (Rivera, 2008; Huaylla, 2018).

a) Bioseguridad

La aplicación de estas medidas tiene por objeto impedir la introducción del vDVB, de la misma manera la propagación dentro del rebaño. Esto se logra mediante un informe de control riguroso de todos los animales los cuales se unen, las que tienen que ser negativos al virus en todo el proceso de la cuarentena obligatoria, también es obligatorio evitar el contacto directo o indirecto con los demás rebaños, y la evitación del servicio con semen que no tenga certificación de estar limpio de la enfermedad. (Rivera, 2008).



b) Identificación y eliminación de animales (PI).

Siendo estos animales la principal fuente de transmisión del virus, es por eso que se convierten en animales de erradicación inmediata, con una aplicación exitosa en varios países desarrollados como Holanda, Suecia, Noruega, Suiza, Italia, Finlandia y Francia a través de esquemas de tamizaje y eliminación de estos animales. (Lanyon, 2014).

c) Vacunación.

La inmunización con vacunas que contienen virus muertos o modificados se realiza con cuya finalidad de advertir tanto las infecciones prenatales como las enfermedades postnatales. (Rivera, 2008).

2.7.1. Vacunas

La aparición de la diversidad antigénica es un factor que va en contra del progreso de las vacunas destinadas a proteger contra el vDVB.

Se realizó un programa de vacunación en Alemania, que constaba de 2 etapas. Inicialmente, se administró una vacuna vírica inactivada de tipo 1 y, cuatro semanas más tarde, una vacuna de virus vivo atenuado. Desde el quinto mes después de la inmunización, este método de vacunación ha proporcionado una respuesta inmunológica persistente, así como la protección del feto contra el desafío del vDVB 1 y 2. Junto con la vigilancia y la exterminación de los animales PI de los rebaños, esta técnica tiene el potencial de ser la más exitosa. (Moennig, et al., 2005).



2.7.1.1. Vacuna a virus vivo modificado

La inducción de enfermedades de la mucosa (DM), la infección del feto, la inmunosupresión y quizás un aumento de la incidencia de enfermedades respiratorias son sólo algunos de los posibles efectos secundarios de esta vacunación (Potgieter, 1995).

En la actualidad, se ha aprobado el uso de más de ciento cuarenta vacunas en EEUU. Todas estas vacunas han superado rigurosas pruebas de pureza, potencia y seguridad, por lo que se puede confiar en que produzcan una respuesta inmunitaria libre de sustancias contaminantes. Normalmente, sólo se incluye un biotipo citopatogénico del vBVB en la vacunación con virus vivos modificados (MLV). vDVB, NADL y vDVB-Singer, vDVB-C24V son los biotipos citopatogénicos más empleados. Posteriores a la vacunación son alrededor de tres semanas que, la protección se establece rápidamente, los anticuerpos son detectables en el suero y el vDVB es neutralizado cuando se administra una vacuna MLV. Los niveles de anticuerpos en suero tras la vacunación contra el MLV se mantienen en niveles altos durante más de un año y continúan durante muchos años, imitando la vida de los anticuerpos tras la infección natural. Por consiguiente, en ciertos animales, los anticuerpos neutralizantes del vDVB desaparecen tras un año de inmunización (Balin, 1990).

Las desventajas del MLV incluyen la posibilidad de que la inmunización falle debido a un almacenamiento o manejo inadecuado, lo que resulta en la aparición de la enfermedad postnatal como resultado de la reactivación de la virulencia del virus, y la posibilidad de que el BVDV citopatógeno contamine las líneas celulares y el suero fetal bovino utilizado en la producción de vacunas. Tanto la afección de las mucosas como el fracaso reproductivo están relacionados con el virus, que es responsable de ambos



contratiempos. La afección de la mucosa puede manifestarse entre uno y cuatro semanas después de la inmunización. (Bolin, 1995).

2.7.1.2. Vacuna Inactivada

Tiene el inconveniente de necesitar una 2da dosis para producir anticuerpos a niveles protectores; no obstante, es segura, no deprime el sistema inmunitario y puede utilizarse en vacas preñadas. Esta vacuna se sugiere para su uso en la producción ganadera intensiva, ya que es muy sencilla de administrar. En la actualidad, hay una gran cantidad de marcas disponibles en el mercado, y la práctica predominante es hacer uso de vacunas polivalentes de virus muertos que incluyen dos o más cepas diferentes del virus de la DVB. (Baker, 1987).



CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

Dicho estudio presente fue realizado en el distrito de Asillo, provincia de Azángaro, región Puno ubicado a 3,913 m. de altura con las coordenadas geográficas de 15°44'46''S y 70°03'31''O, con una superficie total de 392,38 km², que se halla situado al este de la Provincia de Azángaro, en la zona norte del departamento de Puno y en la parte sur del territorio peruano. (INEI, 2012).

Las muestras de sangre fueron tomadas en las asociaciones ganaderas del distrito de Asillo durante los meses de enero a octubre del 2018, el análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el Centro Experimental Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.1.1. Animales

Los animales que se utilizaron para dicho estudio fueron 92 bovinos de raza Brown Swiss, y las muestras se seleccionaron mediante un método de muestreo aleatorio simple. A continuación, las muestras se clasificaron según el sexo (machos y hembras menores de dos años), (dos años y menores a dos años), el estado de reproductividad (fertilizada y no fertilizada) y en estado de productividad (seca y en productividad), y se distribuyeron de tal manera.



Tabla 1. Se están distribuyendo animales para hacer pruebas serológicas con el método ELISA para la DVB

Sexo	Hembra	Macho	hembra > a 2 años			
Edad	(<) a dos años	(<) a dos años	(>) a dos Años	(>) a dos Años	(>) a dos años	(>) a dos años
Estado productivo y reproductivo	Vacías	Reproductor	preñadas en producción	Vacía sin producción	vacía en producción	Preñada sin producción
Nº de animales	17	12	16	15	16	16
Sub total		29			62	
Total				92		

3.1.2. Materiales y Equipos

3.1.2.1. Materiales

Se utilizaron durante todo el proceso de recogida de muestras siguientes:

- Soga.
- Mocheta.
- Guantes desechables.
- Jeringas descartables.
- Agujas hipodérmicas.
- Alcohol yodado.
- Tubos vacutainer.
- Cesta de refrigeración.
- Viales.
- Lapicero y formatos para identificación de los animales.
- Los siguientes elementos fueron necesarios para el trabajo de laboratorio que se realizó:



- Micropipetas de precisión de 0-100 y 100-1000 μ L.
- Pipetas Pasteur.
- Agua desionizada.
- Papel de aluminio o adhesivos para cubrir las microplacas.
- Papel toalla.
- Cronometro.
- Termómetro.

3.1.2.2. Equipos

- Nevera.
- Centrifuga.
- Incubadora.
- Lector de ELISA.

3.1.3. Reactivos

Tabla 2. Contenido del kit ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab).

Ítem	Reactivos	Volumen
1	BVDV/MD/BDV p80 protein Coated plate	5 Unid.
2	Positive control	1X 2.0 mL
3	Negative control	1X 2.0 mL.
4 ^a	Conjugate concéntrate (100X)	1X 0.750mL
4b	Dilution Buffer N1	1X 120 mL
5	Dilution Buffer N1	1X 120 mL
A	TMB substrate N 9	1X 60 mL
B	Stop solution N 3	1X 60 mL
C	Wash concéntrate (20X)	1X100 mL



El kit IDEXX vDVB p80 Ab es una prueba inmunoenzimática (ELISA) que puede detectar anticuerpos contra el vDVB en muestras individuales de suero bovino. Estas muestras pueden tomarse de diferentes animales.

3.2. MÉTODO

3.2.1. Tamaño Muestral

Con el uso del enfoque de muestreo aleatorio directo se pudo determinar, que tenía un nivel de confianza del 95% y un error de precisión del 10%. La fórmula de Thrusfield que se utilizó fue la siguiente. (Miranda, 1987).

$$n = z^2 (p) (q) / d^2$$

Dónde:

n = Número de muestras.

Z² = Valor de Z al 95 % de confiabilidad.

p = Proporción de la población objeto de estudio, reporte de Quiñones, (2006).

q = Complemento = 1 - p.

d² = Grado de precisión del muestreo al 90%.

Calculando:

$$n = (1.96)^2 (0.39) (0.61) / (0.1)^2 = 91.39 \text{ -----} 92 \text{ vacas.}$$

3.2.2. Obtención de las muestras

Los animales se registraron y clasificaron en categorías basadas en el sexo y el tipo antes de tomar cualquier muestra. Después de la antisepsia con alcohol yodado, se



tomaron muestras de sangre (cinco a siete ml) en tubos vacutainer sin anticoagulante y se centrifugaron a tres mil quinientos rpm durante cinco minutos para separar el suero sanguíneo. A continuación, el suero se aisló en viales de dos ml y se transportó a una temperatura de cinco-ocho °C al laboratorio de Sanidad Animal del Centro Experimental Chuquibambilla, donde se almacenó a menos veinte °C hasta su procesamiento.

3.2.3. Detección de anticuerpos contra vDVB.

En el laboratorio de Sanidad Animal, los anticuerpos contra el vDVB se detectaron por medio de ELISA indirecto en placas desechables de noventa y ocho agujeros, tal y como informó la FAO (2006).

3.2.4. Análisis Serológico

3.2.4.1 Prueba de Elisa para el virus de la diarrea viral bovina

A) Preparación de reactivos

Tras poner los reactivos a temperatura ambiente, colocar una tapa adhesiva en los pocillos que no se utilizaban, determinar la cantidad de solución de lavado concentrada que se necesitaba y diluirla 1:20 con agua desionizada antes de utilizarla, manteniendo las condiciones de esterilidad, se procedió de la manera siguiente:

a) Solución de lavado concentrada (20x).

Se siguieron las instrucciones que venían con el kit ELISA para calcular la cantidad de solución de lavado que había que utilizarse para la limpieza de los pocillos como se describe a continuación:

92 muestras x 300ul x 3veces x 2 repeticiones = 165,600 µl Solución lavado.



170.000 redondeo

$$1:20=170.000/20= 8.500 \mu\text{l Búfer lavado}$$

$$170,000-8500= 161,500 \mu\text{l. De H}_2\text{O.}$$

b) Dilución del Conjugado

A continuación, se explica cómo se diluyó el conjugado anti-rumiante-IgG 1:100 utilizando la solución de lavado diluida que se había preparado previamente:

$$92 \text{ muestras} \times 100 \mu\text{l} = 9200 \text{ 1:200}$$

9200 μl solución conjugado

$$9200 / 100 = 92 \mu\text{l concentración conjugado}$$

$$9200 - 92 = 9108 \mu\text{l dilutor conjugado.}$$

B) Procedimiento del Kit de ELISA (Inmunoabsorción ligada a enzima)

En la realización del procedimiento se siguió el protocolo de forma rigurosa y exhaustiva, de acuerdo con el manual de instrucciones, que incluye lo siguiente:

- 1) A las 92 muestras absolver 50 μl solución tampón a cada vasija.
- 2) Absolver 50 μl de control negativo en las vasijas.
- 3) Absolver 50 μl de control positivo en las vasijas.
- 4) Absolver 50 μl de cada muestra problema = 92
- 5) Cubrir placa con cinta embalaje y homogenizar



- 6) A 18-26°C incubar 1hora ± 5 minutos
- 7) Lavado y secar con papel toalla – 300 µl, lavado por 3 veces con solución.
- 8) Absolver 100 µl de conjugado (homogenizar)
- 9) Incubar por 30 minutos ± 3 minutos de 18-26°C
- 10) secar y lavar por tres veces.
- 11) Absolver 100 µl de sustrato (homogenizar).
- 12) Incubar por 20 minutos ± 3 minutos a 18-26°C
- 13) Absolver 100 µl de frenado.
- 14) Graduar.
- 15) Lector de resultados.

3.2.4.2. Fundamento.

El antígeno del VDVB se inmoviliza en una fase sólida mediante anticuerpos que inducen directa o indirectamente una reacción. El resultado de la reacción es un colorante que se cuantifica mediante un espectrofotómetro.

3.2.4.3. Interpretación de resultados

- a) **Cálculos de control.**

$$CNx = \frac{CN1 A(450) + CN2(450)}{2}$$



b) **Criterio de validación.**

$$CN_x = \geq 0.800$$

$$CP: CN_x = \leq 0.20$$

c) **Cálculo para las muestras.**

$$\frac{M}{N} \% = 100x \frac{\text{Muestra A (450)}}{CN_x}$$

3.2.4.4. Interpretación en muestra de suero sanguíneo.

Tabla 3.

Interpretación de resultados.

Negativo	Dudoso	Positivo
$M/N \geq 50\%$	$40\% < M/N < 50\%$	$M/N \leq 50\%$

3.3. ANÁLISIS DE DATOS

a. Estimación de la seroprevalencia

Utilizando la siguiente ecuación, pudimos calcular la seroprevalencia del VDVB. (Thursfield, 1990).

$$P = \frac{\text{Número de positivos}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

b. Método estadístico

Los datos de las variables investigadas en relación a la seroprevalencia de anticuerpos contra el VDVB han sido analizados utilizando dicha prueba de significación chi-cuadrado, utilizando también el software IBM SPSS Statistics, teniendo en cuenta factores como sexo, edad, estado de reproductividad, de esta manera se pudo utilizar dicha fórmula.



$$\chi^2 = \sum \frac{(f_o - f_t)^2}{f_t}$$

Dónde:

χ^2 = ji cuadrado.

Σ = sumatoria.

O_i = valor observado.

e_i = valor esperado.



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SEROPREVALENCIA GENERAL

Tabla 4. Seroprevalencia global para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss en el distrito de Asillo

VARIABLE DE ESTUDIO	Nº ANIMALES EVALUADOS	Nº ANIMALES SEROPOSITIVOS	PREVALENCIA %
Seroprevalencia	92	51	55.43

La seroprevalencia del vDVB en bovinos de la raza Brown swiss del distrito de Asillo Azángaro se muestra en el cuadro cuatro de la presente investigación. De los noventa y dos animales analizados, el 55.43% fueron positivos al virus, lo que representa cincuenta y uno animales seropositivos.

Hallazgos comparables fueron reportados por Lura, (2010), quien identificó una seroprevalencia de 58.49% en ganado lechero de la cuenca del Progreso, y por Huacasi, (2018), quien fue el que pudo encontrar una seroprevalencia de 58.85% sobre un total de ciento diecinueve muestras en Espinar Cusco. Los puntos en común de los estudios pueden explicarse por el hecho de que todos fueron realizados en la misma región general utilizando métodos de investigación comparables.

Por el contrario, los datos obtenidos por Choquenaira, (2018), quien identificó una seroprevalencia global del sesenta punto cuarenta y cuatro por ciento del VDVB en



bovinos de raza Brown Swiss de la zona de Paucarcolla, Haylla, (2018) quien obtuvo el 65.56% de seroprevalencia de un total de noventa animales muestreados en el Distrito de Vilque departamento de Puno, realizado por medio de la prueba de ELISA, y por Quispe, N. (2018) quien demostró una seroprevalencia global de 68.89%. del vDVB en la raza Brown Swiss en 3 comunidades del distrito de Taraco, estos resultados nos indica que en el distrito de Asillo ya existe un cierto nivel de concientización frente a esta enfermedad de parte de los productores en comparación con el distrito de Pucarcolla y Vilque que se encuentran en pleno mejoramiento genético de vacunos pero sin aplicar los métodos de control y prevención de enfermedades y en el centro poblado de taraco que tiene el mayor porcentaje de 68.89%, este resultado también concuerda con el estudio realizado por Laura, (2010) quien reportó una seroprevalencia de 65,94%, los mismos que se deberían a que en esta zona se está introduciendo pajillas de semen que son adquiridas de distribuidoras que no cuentan con certificación y no existe los sistemas de prevención de este tipo de enfermedades.

También son inferiores a los resultados obtenidos por Bautista, (2011) quien reportó un 65.3% de muestras que presentaron anticuerpo contra el vDVB en Ayacucho; de la misma forma que Arauco, (2018) el cual fue quien trabajó con cuatro cintos veinticinco vacas en producción en el valle de Mantaro, en donde encontró una seroprevalencia global de 66.33%; de la misma forma Manrique, (2002) en Arequipa informo sesenta y cinco por ciento de las vacas positivas al vDVB, el cual significa que en estos lugares se están empleando programas de mejoramiento genético sin control de esta enfermedad y también a que dichos estudios pudieron realizarse en distintas regiones geográficas.

Pero es superior al estudio que realizó el (SENASA, 2011) en el departamento de Puno, quien reportó una seroprevalencia general de la DVB de 2.51%; las causas que explican esta variación pueden ser, el año, tipo de muestreo, cantidad de muestras por la zona y la población de estudio, de tal manera el estudio que fue realizado es de un área geográfica determinada, en cambio el estudio que realizó SENASA fue en varias zonas del departamento de Puno.

Estos casos de seroprevalencia en el distrito de Asillo pueden ser atribuidos a la introducción de ganado sin el adecuado control sanitario o al uso incontrolado de pajuelas de toros nacionales e importados en programas de inseminación artificial. Ninguna de estas prácticas fue realizada con conocimiento de los registros sanitarios de los toros involucrados según Lindberg y Alenius, (1999).

4.2. SEROPREVALENCIA SEGÚN SEXO (MACHOS Y HEMBRAS < DE 2 AÑOS)

Tabla 5. Seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss según sexo (Machos y Hembras < de 2 años) en el distrito de Asillo.

VARIABLE ESTUDIO	DE	N° ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA VDVB	
			N° ANIMALES SEROPOSITIVOS	PREVALENCIA %
Macho		12	6	50.00
Hembras		17	9	52.94
Total		29	15	



La tabla 5 podemos observar la seroprevalencia de anticuerpos contra el vDVB en las vacas Brown Swiss, según el sexo (mayores de dos años). Los resultados muestran una seroprevalencia del cincuenta por ciento para los machos y del 52.49% para las hembras, siendo las hembras más seropositivas que los machos. Sin embargo, los resultados del análisis estadístico muestran que esta diferencia no es significativa (p menor o igual a cero punto cero cinco). Esto indica que cada animal tiene las mismas posibilidades de infectarse con la enfermedad y desarrollar los síntomas de la misma.

Cuyos resultados obtenidos, se asimilan con los datos alcanzados por Huaylla (2018) quien obtuvo una seroprevalencia del vDVB en vacunos Brown Swiss del distrito de Vilque, según sexo, en machos de 45.45% y en hembras 52.94% lo que puede deberse a la cantidad de animales muestreados y bajo los mismos sistemas de producción que se manejan en estas zonas, en cambio estos resultados son ligeramente superiores con relación a los resultados que encontró Choquenaira, (2018) una seroprevalencia dependiendo el sexo (menores de dos años) de 33.33% para los machos y de 41.18% para hembras en el distrito de Paucarcolla, lo cual se debe a la cantidad de animales que cuenta, siendo menor a comparación de Asillo y a los diferentes sistemas de manejo.

En cambio, son muy inferiores a los datos que fue reportado por Quispe, N. (2018) quien obtuvo en machos un setenta por ciento y de veintiuno punto cero cinco por ciento en hembras de la prevalencia del vDVB en 3 comunidades del distrito de Taraco lo cual sería a causa de utilizar pajillas sin control sanitario en la IA. El cuál es el factor primordial de diseminación y la alta seroprevalencia de la DVB en este distrito y también a Huacasi (2018) quien determinó una seroprevalencia de cincuenta y sesenta punto dos por ciento para machos y hembras en Espinar Cusco; estas diferencias se atribuyen a la diferencia de condiciones climáticas, técnicas de manejo ganadero, existencia de plaza de



ganados donde se contribuye la diseminación de los animales portadores y existe introducción de vacas PI a la zona.

Sin embargo, estas cifras son más altas que las encontradas en Melgar Puno por Quispe, R. (2008), el cual fue el que mostró una seroprevalencia de veintinueve punto cinco por ciento en machos y 48.9% en hembras; y Quiñones, (2006), el cual fue quien informo seroprevalencias de veinticinco por ciento en machos y veintinueve punto ochenta y siete por ciento en hembras; la discrepancia puede ser atribuible a un mayor nivel de bioseguridad (aislamiento de animales enfermos, aplicación de calendario sanitario, vacunaciones contra

Suni (2014) reportó una seroprevalencia de veinticinco punto cero y veintinueve punto ochenta y siete por ciento para machos y hembras, respectivamente, en el valle de Moquegua, pero nuestros hallazgos varían de esas cifras. Atribuimos esta discrepancia a las diferencias en las zonas de muestreo, el manejo sanitario, el tamaño de la muestra y las razas.

Dado que las hembras están en contacto más estrecho con el agente viral y producen más pérdidas económicas, son más susceptibles a la infección, como afirma Quispe, R. (2008).

Estos hallazgos indican que los machos son segregados naturalmente debido a su menor número en los rebaños, a excepción de las localidades de Taraco, que cuentan con mayores programas de inseminación artificial; de la misma manera, los productores de esta región desconocen la procedencia de sus pajas.

4.3. SEROPREVALENCIA SEGÚN EDAD

Tabla 6. Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacunos Brown Swiss para la edad (mayor de dos años y menor de dos años).

EDAD	ANTICUERPOS CONTRA VDVB		
	Nº ANIMALES EVALUADOS	Nº ANIMALES SEROPOSITIVOS	PREVALENCIA %
< de 2 años	29	15	51.72
> de 2 años	63	36	57.14
Total	92	51	

En la tabla 6 podemos observar la seroprevalencia del vDVB en bovinos por edad, mostrando que los animales de mayores de dos años fueron del 51.2% y para los menores de dos años fue del 57.14%; datos que al análisis estadístico no son significativos (p menor o igual a cero punto cero cinco) para la edad, así mismo, el virus tiene la capacidad de infectar más a los animales de menores de dos años, por esta razón el animal se infecta con el virus y genera una respuesta inmune, puede coexistir con la DVB y otras enfermedades infecciosas.

Estas cifras son similares a las encontradas por Huaylla (2018), quien examinó la seroprevalencia del vDVB en bovinos de raza Pardo Suiza en el Distrito de Vilque en función de la edad. En dicho estudio, los animales menores de dos años se reflejaron con un cincuenta por ciento y en los mayores de dos años con un 62.58%; con diferencias significativas entre los 2 grupos de edad. De esta manera no indica que existe una



reveladora diferencia con relación a los mayores de dos años, el cual se encuentran con mucho mas tiempo de su vida expuesta a dicha infección viral.

Choquenaira (2018) encontró que la seroprevalencia de la DVB en la zona de Paucarcolla varió desde el 37.33% en bovinos menores de dos años hasta el 60.67% en animales mayores de 2 años. El método de manejo fue un factor diferenciador clave.

De la misma forma en su trabajo de investigación realizado por Quispe, N. (2018), quien reportó una seroprevalencia de 83.60% en animales adultos y de 37.93% en los animales jóvenes frente a los anticuerpos del vDVB en tres comunidades del distrito de Taraco. ($p=0.05$), existiendo diferencia significativa por factores de predisposición al agente viral.

Por otro lado, Quiñones (2006) revela una seroprevalencia de 33.33% entre el ganado adulto (toros y vacas) en la estación experimental de Illpa INIA Puno, con una prevalencia de dieciocho punto cuarenta y tres por ciento entre los animales jóvenes (toros, vaquillas y terneros). Esto es menos de lo que descubrimos, y se debe a que los programas de bioseguridad y el manejo sanitario de los animales en la instalación experimental son superiores (según Lindberg y Alenius, 1999) que en la zona de Asillo donde no existe nada de esto, lo que significa que allí hay más infección.

Estos hallazgos superan los de Ramos (2016), quien encontró una seroprevalencia de doce punto cinco y 27.94% en animales juveniles y adultos, respectivamente, en la zona de Huacullani. Si bien Soto (2016) encontró una seroprevalencia de doce punto veintidós por ciento en animales juveniles y veintidós punto veintidós por ciento en animales adultos en el Centro Experimental Chuquibambilla UNA PUNO, esta diferencia se debe a que los animales muestreados en ambos casos provenían del mismo rebaño,



aunque en localidades con distinto grado de asistencia técnica y aplicación de programas de producción ganadera.

Los bovinos son más susceptibles porque están infectados con el virus, ya sea directamente (por contacto con animales PI) o indirectamente (a través de la inseminación artificial) durante un período más largo de sus vidas, lo que resulta en una alta seroprevalencia en animales de más de dos años. Esto se debe a que los bovinos son más propensos a ser hacinados y criados en un sistema de cría semi-intensivo, donde no reciben los cuidados adecuados y están en un estado permanente de estrés (causando infecciones subclínicas. Brock et al. (2000).

En un gran porcentaje de las infecciones agudas son causadas por biotipos de NPC, y suelen ocurrir en animales de entre 6 meses y 2 años (se produce una viremia corta durante siete-diez días y la excreción viral puede identificarse en las secreciones nasales y oculares, lo que explica la baja seroprevalencia en animales de dos años, nos dice Baker (1995). Los terneros se convierten en animales PI porque el virus no es letal en dosis bajas y estos biotipos son inmunosupresores, ya que pueden coexistir con otras enfermedades; no obstante, un pequeño porcentaje de terneros sucumbe a la enfermedad durante los primeros seis meses de vida. Algunos, sin embargo, parecen estar perfectamente sanos, se desarrollan normalmente e incluso se reproducen, dando lugar a lo que se conoce como líneas familiares de animales (IP) que pueden persistir durante generaciones.

4.4. SEROPREVALENCIA SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO

Tabla 7. Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (preñadas en producción y vacías en seca).

VARIABLE DE ESTUDIO	N° ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA VDVB	
		N° ANIMALES SEROPOSITIVOS	PREVALENCIA %
Vs	16	11	68.75
Pp	15	10	66.67
Total	31	21	

Según la Tabla 7, podemos observar la seroprevalencia de anticuerpos contra el vDVB en bovinos por estado reproductivo, las vacas secas tienen una seroprevalencia más alta, del 68.65%, en comparación con las vacas preñadas en producción, que tienen una seroprevalencia del 66.67%; sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa. (menor o igual a cero punto cero cinco).

Estos resultados coinciden con la investigación de Quispe (2018), quien encontró una seroprevalencia del 93.33% en vacas preñadas secas y del 86.67% en vacas preñadas en producción, siendo la primera cifra ligeramente superior a la segunda. Esta disparidad puede ser atribuible a la introducción de ganado mejorado sin control sanitario y a las pajas de semen contaminadas, así como a las insuficientes formas de higiene utilizadas, que son las principales causas de la propagación del virus.

Sin embargo, estos hallazgos contrastan con los de Huaylla (2018), quien descubrió una seroprevalencia de 64.29% en vacas en lactancia seca y ochenta y 3.33% en vacas en lactancia en el Distrito de Vilque Puno, y Choquenaira (2018), quien reportó



una seroprevalencia contra la diarrea viral bovina de setenta y cinco por ciento en el Distrito de Paucarcolla, desglosada por estado reproductivo en setenta y cinco por ciento para vacas preñadas en producción y 63.33% para Kirkland y Macintosh (1994) indican que el esperma es una fuente significativo de transmisión horizontal para las vacas y para los no nacidos dependiendo del estado reproductivo de las mismas, y esto explica que exista una tendencia creciente a utilizar la inseminación artificial para la reproductividad del ganado lechero en las zonas de estudio McGowan *et al.* (1993).

Según Baker (1995), el virus atraviesa la placenta en una proporción cercana al cien por ciento durante la gestación, por lo que el resultado de la infección del feto dependerá en gran medida de la fase de la gestación en la que se produzca la infección y del biotipo de la cepa infectante. En general, los resultados de la infección del feto incluirán la mortandad embrionaria, el aborto o la momificación, la malformación congénita, el nacimiento de terneros débiles, el nacimiento de terneros PI,

Suni (2014) reporta una prevalencia 33.33% para vacas preñadas y cuarenta y cinco punto cuarenta y cinco por ciento para vacas vacías en vacas Holstein en el valle de Moquegua, lo cual es superior a los datos encontrados por Ramos (2016), quien reportó una seroprevalencia de veintiuno setenta y cuatro y veinticuatro punto sesenta y cuatro por ciento para vacas preñadas y vacías en el distrito de Huacullani provincia de Chucuito, respectivamente. Según Kirkland y Macintosh (1994), y esta tendencia al uso de la inseminación artificial para la reproductividad del ganado lechero en la zona de estudio puede atribuirse a los continuos proyectos ganaderos implementados por la municipalidad distrital de Asillo según McGowan *et al.*, (1993).

Sin embargo, hay más casos positivos entre las vacas secas que entre las vacas preñadas en producción, de tal manera que, si el DVB se encuentra dentro del útero de

una hembra en el momento de la inseminación artificial, esto impide la concepción. Los investigadores Fray et al. (2000) descubrieron que la infección aguda va acompañada de un descenso considerable de los niveles de estradiol en plasma y de la presencia de antígenos indicativos de la fase de maduración del folículo. Según Grooms (1998), el vDVB es la causa de una ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de las células de la granulosa y de los ovocitos, lo que provoca un fallo ovárico en las hembras y explica que las vacas secas no puedan concebir.

4.5. SEROPREVALENCIA SEGÚN ESTADO PRODUCTIVO

Tabla 8. Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado productivo (vacías en producción y preñada sin producción).

VARIABLE DE ESTUDIO	N° ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA VDVB	
		N° ANIMALES SEROPOSITIVOS	PREVALENCIA %
Vs	15	6	40
Vp	17	9	52.94
Total	32	15	

La seroprevalencia de los anticuerpos contra el VDVB se muestra en la Tabla 8 por estado reproductivo, siendo las vacas preñadas en producción las que presentan una mayor seroprevalencia (54.94%) que las vacas preñadas no en producción (cuarenta por ciento), aunque la diferencia no es estadísticamente significativa (p menor o igual a cero cinco).



En comparación con los hallazgos del estudio que fue realizado por Huaylla (2018), el cual obtuvo una seroprevalencia del vDVB en bovinos de raza Brown Swiss en el Distrito de Vilque Puno, según el estatus productivo, que fue de 81.225% para las vacas que estaban produciendo leche y 57.14% para las vacas secas, estos resultados son significativamente menores, según Choquenaira (2018), el cual fue el que informo una seroprevalencia de diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla, para el estado de productividad para vacas en producción fue de setenta y cinco y sesenta por ciento para vacas preñadas sin producción, y según Quispe, N. (2018), el cual fue el que informo una seroprevalencia a anticuerpos virales al virus de la DVB, para vacas infértiles que fue de ochenta y siete punto cincuenta por ciento y para vacas secas de 66.67% en el distrito de Taraco, y según Huacasi, (2018) el cual fue quien informo una seroprevalencia según estado de productividad del 58.8% para vacas infértiles y del setenta y uno punto dos por ciento para vacas en lactación en su estudio realizado en Espinar; estas diferencias se deben a que en la comarca de Asillo ya existe un nivel de concienciación de los productores frente a esta enfermedad; sin embargo, estos informes son elevados, y es por ello que el mayor impacto económico de la infección por el vDVB se produce en el ámbito reproductivo (muerte embrionaria, abortos, congénialidad) según Moennig y Liess, (1995).

En esta última, hay más casos positivos entre las vacas productoras que entre las preñadas que no están produciendo. Según Ames y Baker, esto se debe a que no existen programas para prevenir, controlar o erradicar esta enfermedad en la región de investigación. Esto incluye el no encontrar las medidas correctas de bioseguridad, la no identificación de los animales PI y la no inmunización de los rebaños contra el vDVB en su manifestación de Ames y Baker (1990).



Según Zuniga et al. (2006), son pocos los ganaderos que aplican programas de vacunación y, sin embargo, en la región de Asillo, los anticuerpos contra el vDVB siguen siendo omnipresentes. Además, según Vanroose et al. (1988) la infertilidad debida a las infecciones agudas puede ser transitoria en las vacas (creando un gran porcentaje en riesgo de mortalidad fetal y embrionaria, por lo que se reducen las cifras de concepción y gestación, así como la disminución del rendimiento reproductivo), pero permanente en otras especies. Los animales infectados de forma persistente no están consideradas como una fuente de pérdidas, pero contribuyen al coste global de la infección por el vDVB, ya que eliminan el virus constantemente a través de las heces y la orina, lo que significa que es probable que se subestimen los costes económicos de la enfermedad.



V. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia general del virus de la Diarrea Viral en Bovinos (vDVB) para los vacunos de la raza Brown Swiss en el distrito de Asillo fue de 55.43%. Medianamente alta.
- La seroprevalencia a los anticuerpos del virus de la Diarrea Viral Bovina en el distrito de Asillo, según sexo (menores de dos años) fue ligeramente menor en un 50.00% para los machos y de 52.94% para las hembras.
- La seroprevalencia a los anticuerpos de la DVB en el distrito de Asillo, según edad fue mayor para animales mayores de dos años con un 57.14% que en animales menores de dos años con un 51.72%.
- La seroprevalencia a los anticuerpos del virus de la Diarrea Viral Bovina en el distrito de Asillo, según el estado reproductivo para las vacas preñadas en producción fue de 66.67 % y 68.75 % para las vacas vacía infértiles.
- La seroprevalencia a los anticuerpos del virus de la Diarrea Viral Bovino en el distrito de Asillo, según el estado reproductivo fue mayor para vacas vacías en producción en un 52.94% y 40 % para las vacas preñadas.



VI. RECOMENDACIONES

- Sensibilizar y concientizar a los productores de las comunidades mediante capacitaciones sobre la importancia de la enfermedad y las pérdidas económicas que causa esta enfermedad y de esa forma para que puedan facilitar a sus animales para estudios serológicos de las principales enfermedades infecciosas.
- Para detener la propagación del virus de la diarrea viral bovina, es necesario aplicar estrategias de control, seguimiento y prevención de la enfermedad.
- Se recomienda que el Servicio Nacional de Sanidad Animal y el Ministerio de Agricultura lleven a cabo medidas de vigilancia epidemiológica y técnicas de diagnóstico para identificar el agente de la DVB y mitigar el impacto de esta enfermedad en el distrito de Asillo, provincia de Azángaro, utilizando los resultados de este estudio y otros que existen en la zona.
- Al incorporar nuevos toros reproductores o pajillas de semen a sus rebaños, ya sea por compra o por préstamo, deben conocer el historial del animal o realizar una prueba serológica, y también deben aplicar la cuarentena en los nuevos animales para evitar la entrada de animales con un cuadro clínico agudo o PI, que podrían propagar la enfermedad.
- Utilizar el ensayo ELISA para conocer la seroprevalencia de diversas enfermedades asociadas a las pérdidas monetarias experimentadas por los productores.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, R., A. Benito, Y H. Rivera, (2006). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de lima. Rev. Inv. Vet. Peru. 17(2): 148-153.
- Ames, T. Y A. Baker, (1990). Management practices and vaccination program that help control BVD virus infection. In: Symposium on BVD. Vet Med Get: 15-24.
- Arauco, F. (2018). Seroprevalencia de diarrea viral bovina en hatos lecheros del Valle del Mantaro, Región Junín. Revista de Investigaciones Veterinarias Peru, 1515 - 1526.
- Baez, A. (2000) Control y Prevención de Enfermedades en Ganado Bovino de Doble Propósito En Tabasco. INIFAP Produce 2000.
- Baker, J. (1995). The Clinical Manifestation of Bovine Viral Diarrhea infection. In BVD virus. Vet Clin North Am Food Anim Practice 11(3): 425-445.
- Baker JC. (1987) Bovine viral diarrhea virus: a review. J AVMA Vet Med Assoc 1987.190: 1449-58.
- Barrientos, C. (2002). Presencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus de diarrea viral bovina (VDVB) en sueros bovinos de 4 predios de la IX Región. Tesis, Universidad de Temuco- Chile.
- Baule C. and Kulesar G. (2001), Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type microbiology 2001; 39:146-153.



- Bautista, F. (2011). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina en las cuencas ganaderas de cinco distritos de Ayacucho. (Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga, Huamanga - Ayacucho.
- Berrios, P. (2015). Diarrea Viral Bovina: Enfermedad de las mil caras. Journal Article, 231 - 237.
- Bielefeldt Ohman H. (1995) the pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection. Food anim. Pract. 11: 447-476.
- Blood D., Henderson J. (1992) Medicina veterinaria. España. Editorial interamericana de España Mc. Gratwiltill 1992; 2: 909-922.
- Bolin, S. (1995). The pathogenesis of mucosal disease. In: Bovine viral diarrhoea virus. Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice 11 (3): 489-500.
- Bolin S. (1990). Control of bovine virus diarrhoea virus. Rev Sci Tech 9 (1): 163-71.
- Brock, K., and C.C. Chase (2000). Development of a fetal challenge method for the evaluation of bovine viral diarrhoea virus vaccines. Veterinary Microbiol 77(1-2): 209-14.
- Brock, K. V. (1995). Diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. Vet Clin. North. Am Food Anim Practice 11:549-561.
- Brodersen, B. y C. Kelling. (1998). Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infections on respiratory tract and enteric diseases in calves. Am. J. Vet. Res. 59: 1423-1430.



- Brownlie, J. (1991). The pathways for bovine virus diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch. Virol* 3:79-96.
- Brownlie J, Thompson I, Curwen A. (2000). Bovine virus diarrhoea virus—strategic decisions for diagnosis and control. *In Practice*22: 176–187.
- Centeno, M. (2018). Identificación del genotipo del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacas de la pampa de Anta - Cusco. (Tesis para optar el grado de Ing. Zootecnista). Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco.
- Contreras, O., K. Stahl, C. Arana, H. Rivera, (2000). Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del valle de Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo) *Rev. inv. Perú* 12(2): 167 -122.
- Chase, C., G. Elmowalid, A. Yousif, (2004). The immune response to bovine viral diarrhoea virus: A constantly changing picture. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract.* 20: 95–114.
- Choquenaira, A. (2018). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en la raza Brown Swiss en el distrito Paucarcolla - Puno, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Perú.
- Corrales J. Y S. García (2003). Epidemiología e Importancia económica de la DVB. *Info. Vet. Ciencias V. FEBOL*, p.p. 1-30.
- Corro, A. (2017). Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina en vacas y novillas no vacunadas en el Municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 27 - 32.



- Donis, R. (1995). Molecular Biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. In: Bovine viral diarrhoea virus. Veterinary Clinics of North America; Food Animal Practice 11(3): 393-423.
- Deregt D, loewen KG. (1995) bovine diarrhoea virus: biotypes and disease. Can. Vet. J. 36:371-377.
- Dubovi EJ. (1996). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. Vet. Med. 91: pág. 867–872
- Dubovi E. J. (2013). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. Biologicals 41: pág. 8 – 13.
- Edwards S. (1990). The diagnosis of bovine viral diarrhoea-mucosal disease in cattle Rev Sci Tech Offint Epiz 9: 115-130.
- Fredriksen, B., T. Sandvik, T. Loken y S.A. Odegaard (1999). Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. Vet Record 144:111-114.
- Fray MD; DJ. Paton; S. Alenius (2000). The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. Anim. Reprod. Sci. 60-61: pág. 62-615.
- Fulton, R.W., C. W. Purdy, A.W. Confer, J.T. Sliki, R.W. Loan, R.E. Briggs y L.J. Burge. (2000). Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with pasteurilla spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. Can J Vet Res 64:151-1-59



- Garcia, T. (2016). Prevalencia de anticuerpos contra diarrea viral bovina, virus sincitial bovino, rinotraqueitis infecciosa bovina, leucosis bovina, Neospora caninum, parainfluenza bovina (PI3) y paratuberculosis, en ganadería bovina de fincas ubicadas en Aguachica y Rio d. Revista Facultad de Ciencias de la Salud, 31 - 36.
- Gonzales, A. (2015). El rol de las biotecnicas de reproduccion asistida en la transmision del virus de la Diarrea viral bovina. Investigacion Veterinaria, 35 -45.
- Goyal, S.M. Y J.F. Ridpath (2005). Bovine Viral Diarrhea Virus. Diagnosis, Management, and Control. Blackwell Publishing – USA, 260.
- Grooms, L. (1998). Role of bovine viral diarrhea virus in the bovine respiratory disease complex. Bov. Pract. 32: 7-12
- Herrera, R. (2011). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral en bovinos de crianza extensiva de la provincia de San Pablo, Cajamarca. Revista de Investigaciones Veterinarias Peru, 171 - 175.
- Hilbe M., E. Stalder, M. Peterhans, Haessig M. Nussbaumer, C. Egli, Schelp, K Zlinszky and F. Ehrensperger (2007). Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral diarrhea virus infection in calves. J Vet Diagn. Invest. 19:28-34.
- Houe, H., (1999). Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV). Vet Microbiol, 64 (2-3): 89-107
- Houe, H. (1995). Epidemiology of bovine viral diarrhea Virus. Vet Clin North Am Food Animal Practice 11(3):521-547.



- Houe, H. (2003). Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 31:137-143.
- Howard, C. (1990). Immunological responses to bovine viral diarrhoea virus Infections. *Rev. Sci. Tech Off Int. Epiz.* 9:95-103.
- Huacasi, B. (2018). Seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y diarrea viral bovina (DVB) en vacunos Brown Swiss de la comunidad de Huisacollana del distrito de Yauri- Espinar - Cusco, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Peru.
- Huaylla, J. (2018). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en vacunos de la raza Brown Swiss en la cuenca lechera del distrito de Vique - Puno, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Perú.
- INEI (2012). Instituto Nacional de Estadística e Informática. Censo Peruano, (2007).
- INIA (2012). Instituto Nacional de Investigación Agraria, Población de vacunos en la sierra peruana y el departamento de Puno.
- James, M. y E. Dubovi. (2011). *Fenner's veterinary virology*. 4ta Ed. Academic Press is an imprint of Elsevier. USA.
- Johnson C., Perez D., FR., (2001) The NS5A protein of bovine viral diarrhoea virus interact with the a subunit of translation elongation factor 2001; 82: 2935-2943.
- Jubb K. Kennedy P. 1993, *pathology of domestic animals*. Fourth edition. London academic 1993; 2:149-158.



- Kirkland, P.D., S. Macintosh and Moyle, (1994), the outcome of widespread use of seaman from a bull persistently infected with pestivirus. *Vet. Rec.* 135:527-529.
- Kobrak, A. y E.L. Weber. (1997). Bovine diarrhea virus: and update. *Rev Argent Microbiol* 29(1):47-61
- Kramps J.A., C.Maanen, G.Van de Wetering y G. Stendas. (1999). A simple, rapid and reliable enzyme linked immunosorbent assay for detection of bovine virus diarrhea virus (BVDV) specific antibodies in cattle serum, plasma and bulk milk. *Vet Microbiol* 64:135-144.
- Kummerer, B., y G. Meyers. (2000). Correlation between point mutations in NS2 and viability and citopathogenicity of bovine viral diarrhea virus strain Oregon analyzed with an infectious Cdna CLONE. *J. Virol* 74:390400.
- Lanyon, S. (2014). Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *Veterinary Journal*, 201 - 209.
- Larsson, B. And. C. Fossum. (1992). Bovine virus diarrhea virus induces in viro o proliferative response of peripheral blood mononuclear cells from cattle immunized by infection. *Vet Microbiol* 31:317-325.
- Laura, E. (2010) Seroprevalencia y factores de riesgo asociados al virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) y *Neospora Canimun* en tres cuencas lecheras de la región Puno, tesis para optar el grado académico de Magister Scientiae en reproducción animal UNA Puno Perú.



- Lértora, W. (2003). Inmunohistoquímica en biopsias de piel bulbos pilosos, para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina. Tesis maestría Universidad Austral de Chile. 61-90.
- Lértora, W. (2003). Diarrea Viral Bovina: Actualización. Rev. Vet. 14:1, 42-51 456 p.p
- Lindberg, A. Y A. Alenius. (1999). Principles for eradication of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) infection in cattle populations. Vet Microbiol 64: 197-222.
- Nava, Z. (2013). Seroprevalencia de la Diarrea viral bovina en rebaños lecheros de dos municipios del estado Barinas, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 162 - 168.
- Niskaenen, R., S. Alenius; B. Larson; S. Jacombsson. (1991). Determination of level of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk as a tool on the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections in dairy herds. Arch Virol Suppl 3: 245-251.
- Njaa. B.; E. Clarck; E. Jansen; J. Ellis; D. Haines. (2000). Diagnosis of Persistent Bovine Viral Diarrhoea Virus infection of Immunohistochemical Staining of Formalin – Fixed Skin Biopsy Specimens. J. Vet Diagn Invest 12:393-399.
- Manrique G., (2002)^a. Aborto viral. Medicina A de la Producción. LABVETSUR Año 1 No 1, Julio 2002.
- Manrique G. (2007)^b. Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis bovina por zonas zoológicas de la Región Arequipa. Revista Medicina A de la Producción, LABVETSUR.



- McGowan, M.R., P.D. Kirkland, B.J. Rodwell, D.R. Kerr, Y C.L. Carroll (1993). A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenology* 39: 443–449.
- McGowan MR., 2003. Studies of the pathogenesis of ovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 59: 1051.1066.
- Moennig, V., B. Liess. (2005). Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (bvd). *Prev vet med* 72: 109-114.
- Moennig, V. y V. Liess, (1995). Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 11: 477-488.
- Morales, S., A. Benito, H. Rivera. (2001). Terneros persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. *Rev. Acad. Peru. Cienc. Vet.* 3: 8-13.
- Motta, J. (2013). Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina, Herpesvirus bovino 1 y Herpesvirus bovino 4 en bovinos y búfalos en el Departamento de Caquetá, Colombia. *Revista de Salud Animal*, 174- 181.
- Obando C., D. Ocanto, M. Hidalgo, J. Rodriguez, Y R. Durán, (2006). Efecto de la infección con los virus de Rinotraqueitis infecciosa bovina y Diarrea viral sobre la reproducción en bovinos no vacunados. *Vet. CENIAP-INIA*.
- Odeon, A. (2015). Odeón, A. C. (2015). Valorización económica de la implementación de una estrategia sanitaria de control del virus de la Diarrea Viral Bovina en un establecimiento de. *Revista Argentina de Produccion Animal*, 1 - 11.



- OIE. 2004, Manual de la OIE sobre animales terrestres; Diarrea viral bovina, cap. 2.10.6, 2004. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/D6509.PDF>.
- Olafson, P., A.D. Mac Callum y A. Fox. (1946). An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet.*, 36: 205-213
- Paton, D.J. (1995). Pestivirus diversity. *J comp. Path.* 112:215-236.
- Pellerin C., J. Vandenhurk; J. Lecomte and P. Tijssen. (1994). Identification of outbreaks and high mortalities. *J. Virol* 203:260-268
- Potgieter, L. (1995). Immunology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Animal Practice.* 11(3):501-520.
- Quiñones, j. (2006). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (DVB), en la estación experimental ILLPA INIA Puno, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Peru.
- Quispe, N. (2018). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en vacunos de la raza Brown Swiss en tres comunidades del distrito de Taraco - Puno, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Perú.
- Quispe, R. (2008). Prevalencia de diarrea viral bovina en la provincia de Melgar-Puno. Tesis Med. Vet. -UNA, Puno.
- Ramos, D. (2016). Seroprevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina en el distrito de Huacullani – Puno. Tesis Med. Vet. - UNA, Puno.



- Ramsey, F.K., and W.H. Chivers, (1953). Mucosal disease of cattle. *North Am Vet* 34: 629-634
- Reichel, M. (2018). Review of diagnostic procedures and approaches to infectious causes of reproductive failures of cattle in Australia and New Zealand. *Frontiers in Veterinary Science*, 1 - 15.
- Rhodes, S., J.M. Cocksedge; A. Collins y W.I. Morrison. (1999). Differential cytokine responses of CD4+ANDCD8+Tcells in response to bovine viral diarrhea virus in cattle. *J. Gen. Virol* 80:1673-1679.
- Ridpath, J.F., J.D. Nelly, M. Frey y J.G. Landgraf (2001). Phylogenetic, antigenic and clinical characterization of type 2 bvdv from North America. *Vet Microbiol.* 77:145-155.
- Ridpath, J. (2005). BVDV genotypes and biotibes: practical implications for diagnosis and control. *Biologicals* 31:127-131.
- Rivera, H. (1993). el virus de la diarrea viral bovina (DVB). *Investigaciones pecuarias*, enero-julio, vol. 06 N°1. Lima. Perú.
- Rivera, H. (2008). Evaluacion del conocimiento sobre la enfermedad de la diarrea VIRAL bovina y su agente etiológico. *Rev. Inv. Vet. Peru* 19(1): 93-112.
- Rondón, I. (2006). Diarrea viral bovina: patogénesis e Inmunología. *Rev. MVZ Cordoba.* 11(1): 694-704
- Sanchez, Y. (2012). Simultaneidad serológica de *Neospora caninum* con *Brucella abortus* y los virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en bovinos pertenecientes al Estado de Hidalgo, México. *Revista de Salud Animal*, 95 - 100.



- Sandvik, T. (1999). Laboratoy diagnostic investigations for bovine viral diarrheavirus infections in cattle. *Vet Microbiol.* 64:123-134.
- Sandvick, T. (2005). Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. *Prev vet med* 72: 3-16.
- Sanjuan M.I., C. García y J. Corrales. (1999). Etiopatogenia de la diarrea viral bovina: aspectos de interés. En: E. Yus y M.L. Sanjuán. Eds. *Diarrea virica bovina: Consejo General de Medicos Veterinarios de España.* 24:9-24.
- Saliki j, and Dubovi E. (2004) Laboratory diagnosis of bovine diarrheavirus infections. *Vet Clin food Anim.* 2004;20: 69-83.
- SENASA. 2013. Caracterización de la DVB, neosporosis bovina e RIB en el Perú. Informe Final del Programa de Desarrollo de la Sanidad Agraria e Inocuidad Agroalimentaria (PRODESA). PUNO.
- SENASA. (2011). Caracterizacion de la Diarrea viral bovina, Neosporosi bovina y Rinotraqueitis infecciosa bovina en el Peru. Lima: Publicaciones Programa de Desarrollo de la Sanidad Agraria.
- Soto, A. (2018). Seroprevalencia de la Diarrea viral bovina en el Centro de Investigacion y Produccion de Chuquibambilla- Puno. (Tesis para obtener el grado academico de Doctoris Scientiae). Universidad Nacional del Altiplano - Puno, Puno.
- Suni, L. (2014). Seroprevalencia de la diarrea viral bovina en la Cuenca lechera del distrito de Moquehua. Tesis Med. Vet. - UNA, Puno.



- Travén, M., S. Alenius, C. Fossum, Y B. Larsson. (1991). Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. *J. Vet. Med.* 38:435-462.
- Thrusfield, M. (1990). *Epidemiología veterinaria. Presentación de los datos numéricos. Demostración de asociación. Encuestas. Estudios observacionales. Epidemiología serológica.* ISBN: 8420006742. Idioma: SPA. P. Imprenta: Zaragoza - España: Acribia, xi, 339 p.: 24 cm.
- Williams D.J., Y H.C. Davison, (1999). Evaluation of a commercial ELISA for detecting seruni, antibody to Neospore caninum in cattle. *Vet. Rec;* 154:571 – 575
- Van Duijn, L. (2019). Efficacy of a voluntary BVDV control programme: Experiences from the Netherlands. *Veterinary Journal*, 55 - 60.
- Van Oirschot, J.T., C.J. Bruschke y P.A. Van Rijn (1999). Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. *Vet Microbiol* 64:169-183.
- Vanroose, G., H. Nauwinck; A. Soom; E. Vanopdenbosch; A. de Kruif (1998). Replication of Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viral Diarrhoea Virus in zone – Free and Zone – Intact in Vitro – Produced Bovine Embryos and the Effect on Embryo Quality, *Biology of reproduction.* 58:857 – 866
- Vargas, D. (2012). Enfermedades virales emergentes en ganado de leche en América Latina. *Journal of Livestock*, 88 - 93.
- Wang, L. (2020). Origin and transmission of bovine viral diarrhoea virus type 1 in China revealed by phylodynamic analysis. *Research in Veterinary Science*, 162 - 169.



- Yana, M. (2018). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina y la Rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos del Centro de Investigación y Produccion Chuquibambilla, UNA PUNO. (Tesis para optar el grado de Médico Veterinario Zootecnista). Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Yavru, S. (2013). Serological and Virological Investigation of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) infection in Candidate Bulls before taken in Artificial Insemination Centers by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Mehmet Akif Ersoy University Saglik Bilimleri Enstitusu Dergisi, 56 - 63.



ANEXOS

FIGURA A1. Imágenes del kit de vDVB, conjugados, reactivos y agua estéril para inyección.



Figura 1. Kit de vDVB



Figura 2. Reactivos



Figura 3. Idexx

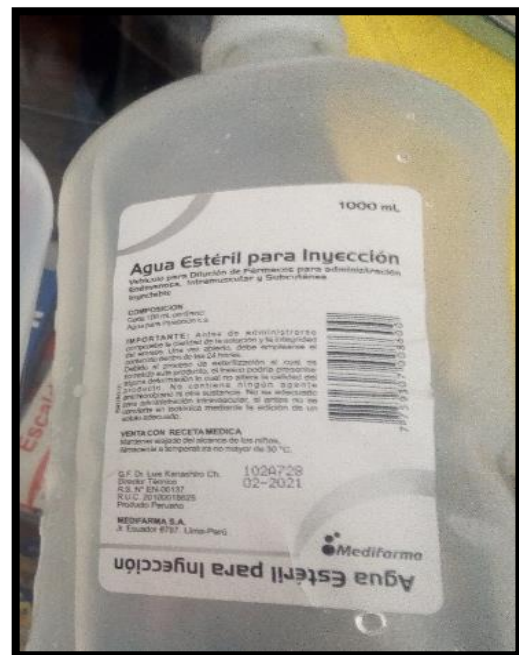


Figura 4. Agua esteril

FIGURA A2. Equipos; centrífuga, lector de ELISA y su laptop, refrigeradora y micropipeta.



Figura 5. Centrífuga

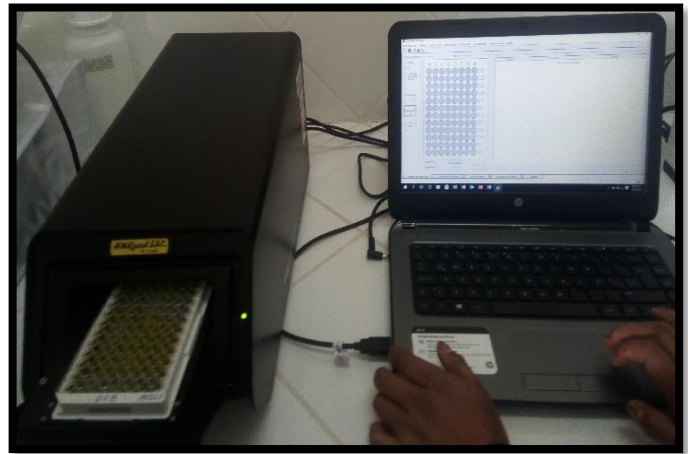


Figura 6. Lector de Elisa



Figura 7. Micropipeta



Figura 8. Refrigeradora

FIGURA A3. Imágenes del análisis de las muestras.



Figura 9. Adición del diluyente



Figura 10. Solución de frenado

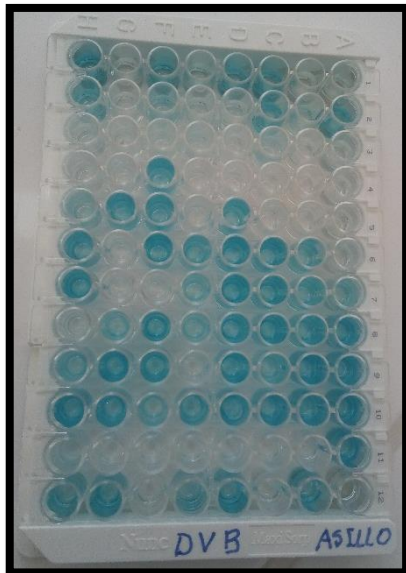


Figura 11. Reacción después de agregar el frenado



Figura 12. Adición del sustrato



Figura 13. Reacción con el cromógeno

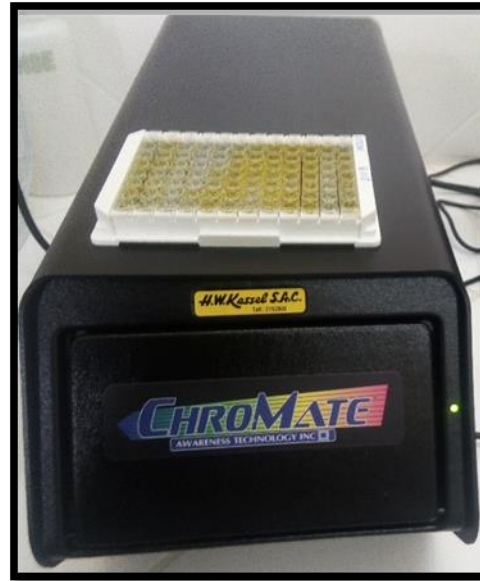


Figura 14. Lector de Elisa

ANEXO B

Cuadro B1. Prueba de Ji-cuadrada para Seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss del Distrito de Asillo provincia de

Estadísticos descriptivos					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Sexo	29	1	2	1.59	.501
Edad	92	1	2	1.32	.467
Estado reproductivo	31	1	2	1.48	.508
Estado productivo	32	1	2	1.53	.507
Seroprevalencia	92	1	3	2.11	1.000
N válido (por lista)	0				

Azángaro departamento de puno mediante el software IBM SPSS Statistics 22.

Tabla B2. Seroprevalencia del vDVB en bovinos de raza Brown Swiss en la cuenca lechera del Distrito de Asillo, Provincia de Azángaro, Departamento de Puno, analizada por medio de la prueba de chi-cuadrado en IBM SPSS Statistics 22.

Sexo*Seroprevalencia tabulación cruzada					
			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Sexo	Macho	Recuento	6	6	12
		% dentro de Sexo	50.0%	50.0%	100.0%
	Hembra	Recuento	8	9	17
		% dentro de Sexo	47.1%	52.9%	100.0%
Total		Recuento	14	15	29
		% dentro de Sexo	48.3%	51.7%	100.0%
Pruebas de chi-cuadrado					



	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significaci3n exacta (2 caras)	Significaci3n exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	.024 ^a	1	.876		
Correcci3n de continuidad ^b	0.000	1	1.000		
Raz3n de verosimilitud	.024	1	.876		
Prueba exacta de Fisher				1.000	.587
Asociaci3n lineal por lineal	.024	1	.878		
N de casos v3lidos	29				
a. 0 casillas (cero por ciento) han previsto un c3lculo menor que cinco. La estimaci3n m3nima prevista es cinco punto setenta y nueve por ciento.					
b. 3nicamente se ha tomado el calculado para una tabla dos por dos					

Este resultado me indica que no hay significancia ($p \geq 0.05$ o sea 0.876 +es mayor que 0.05)

En la tabla B3 podemos observar los resultados de la prueba de Chi-cuadrado realizada con el programa IBM SPSS Statistics 22 para determinar la seroprevalencia del vDVB en los bovinos de raza Brown Swiss del Distrito de Asillo, Provincia de Az3ngaro, Departamento de Puno.



Edad*Seroprevalencia tabulación cruzada					
			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Edad	Adulto	Recuento	27	36	63
		% dentro de Edad	42.9%	57.1%	100.0%
	Joven	Recuento	14	15	29
		% dentro de Edad	48.3%	51.7%	100.0%
Total		Recuento	41	51	92
		% dentro de Edad	44.6%	55.4%	100.0%
Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	.236 ^a	1	.627		
Corrección de continuidad ^b	.068	1	.795		
Razón de verosimilitud	.236	1	.627		
Prueba exacta de Fisher				.657	.396
Asociación lineal por lineal	.233	1	.629		



N de casos válidos	92				
a. 0 casillas (cero por ciento) han previsto un cálculo menor que cinco. La estimación mínima prevista es doce punto noventa y dos.					
b. únicamente se ha tomado el calculado para una tabla dos por dos					

Este resultado me indica que no hay significancia ($p \geq 0.05$ o sea 0.627 +es mayor que 0.05)

En la tabla B4 podemos observar los resultados de la prueba de Chi-cuadrado realizada con el programa IBM SPSS Statistics 22 para determinar la seroprevalencia del vDVB en los bovinos de raza Brown Swiss del Distrito de Asillo, Provincia de Azángaro, Departamento de Puno.

Estado reproductivo*Seroprevalencia tabulación cruzada					
			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Estado reproductivo	Vacías	Recuento	5	11	16
		% dentro de Estado reproductivo	31.3%	68.8%	100.0%
	Preñadas	Recuento	5	10	15
		% dentro de Estado reproductivo	33.3%	66.7%	100.0%
Total		Recuento	10	21	31
		% dentro de Estado reproductivo	32.3%	67.7%	100.0%



Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	,015 ^a	1	.901		
Corrección de continuidad ^b	0.000	1	1.000		
Razón de verosimilitud	.015	1	.901		
Prueba exacta de Fisher				1.000	.602
Asociación lineal por lineal	.015	1	.903		
N de casos válidos	31				
a. 1 casillas (veinticinco por ciento) han previsto un cálculo menor que cinco. La estimación mínima prevista es cuatro punto ochenta y cuatro.					
b. únicamente se ha tomado el calculado para una tabla dos por dos					

Este resultado me indica que no hay significancia ($p \geq 0.05$ o sea 0.901 + es mayor que 0.05).

En la tabla B5 podemos observar los resultados de la prueba de Chi-cuadrado realizada con el programa IBM SPSS Statistics 22 para determinar la seroprevalencia del vDVB en los bovinos de raza Brown Swiss del Distrito de Asillo, Provincia de Azángaro, Departamento de Puno.



Estado productivo*Seroprevalencia tabulación cruzada					
			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Estado productivo	Seca	Recuento	9	6	15
		% dentro de Estado productivo	60.0%	40.0%	100.0%
	Producción	Recuento	8	9	17
		% dentro de Estado productivo	47.1%	52.9%	100.0%
Total		Recuento	17	15	32
		% dentro de Estado productivo	53.1%	46.9%	100.0%
Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	,536 ^a	1	.464		



Corrección de continuidad ^b	.142	1	.706		
Razón de verosimilitud	.538	1	.463		
Prueba exacta de Fisher				.502	.354
Asociación lineal por lineal	.519	1	.471		
N de casos válidos	32				
a. 0 casillas (cero por ciento) han previsto un cálculo menor que cinco. La estimación mínima prevista es siete punto tres.					
b. únicamente se ha tomado el calculado para una tabla dos por dos					

Este resultado me indica que no hay significancia ($p \geq 0.05$ o sea 0.464 +es mayor que 0.05)