

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRÍA EN GANADERÍA ANDINA

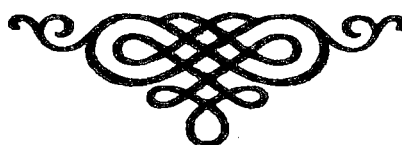


**PREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA
(VDVB) EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y PRODUCCIÓN
CAROLINA UNA - PUNO**

TESIS:

**PRESENTADA POR:
ALBERTO SOTO QUISPE**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAGÍSTER SCIENTIAE EN SALUD ANIMAL**



PUNO - PERÚ

2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - Puno

BIBLIOTECA CENTRAL

Fecha ingreso: 02 OCT. 2012

N° 00202

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRIA EN GANADERIA ANDINA

TESIS

**PREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA
(VDVB) EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y PRODUCCIÓN CAROLINA
DE LA UNA - PUNO**

**PRESENTADA POR ALBERTO SOTO QUISPE A LA ESCUELA DE POST
GRADO MAESTRIA EN GANADERIA ANDINA PARA OPTAR EL GRADO
ACADEMICO DE MAGISTER SCIENTIAE EN SALUD ANIMAL**

REVISADO Y APROBADO POR EL SIGUIENTE JURADO

Presidente


M.Sc. Rolando Daniel Rojas Espinoza.

Miembro


Mg. Alberto Ccama Sulca.

Miembro


Mg. Oscar Henry Espezua Flores.

Director


Dr. José Luis Bautista Pampa.

Asesor


Dr. Ciro Traverso Arguedas

DEDICATORIA

A mis queridos padres Daniel Soto Avalos y Benigna Quispe Pineda a quienes extraño por su apoyo de siempre aunque ya no están pero siento su presencia al lado de mi familia.

Con mucho amor a mi esposa Ensueño y mis amados hijos Yuliana Karina y Daniel Alexander por ser la razón de la vida y la superación.

Con mucho cariño a mis queridos hermanos y a todos mis sobrinos.

A la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y Sus profesores; A mi Puno querido y al club Unión Carolina de Ayer, hoy y siempre.

ALBERTO SOTO QUISPE.

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a la Maestría en Ganadería Andina y sus profesores, mi sincero reconocimiento.

Al Director del presente trabajo de investigación el Dr. José Luis Bautista Pampa.

Al Dr. Ciro Traverso Arguedas, por su asesoramiento y oportuna intervención, en la conducción y culminación del presente trabajo de investigación.

A mi gran amigo, MVZ. José Luis Málaga Pumarica por sus consejos y apoyo en la parte patológica.

Al M.Sc. Rolando Daniel Rojas Espinoza; Mg. Alberto Ccama Sulca; Mg. Oscar Henry Espezúa Flores. Jurados del presente trabajo de investigación y sus valiosos consejos y aportes.

Al Dr. Jorge Manrique Meza y la Blgo. Roxana Bustinza Escalante, por su colaboración en el LAVETSUR Arequipa.

Mi gratitud al MVZ. Bilo Wenceslao Calsin Calsin, por las sugerencias y contribución en el desarrollo de la investigación.

Al MVZ. Oscar Oros Butrón, mi reconocimiento por su generosa ayuda en la culminación del presente trabajo.

Al Mg. Faustino Jahuira Huarcaya y el MVZ. Pedro Coila Añasco, por la colaboración y las facilidades prestadas en el CIP. Carolina.

A la Secretaria de la Maestría en Ganadería Andina. Sra. Judy Yanet Castañeda Benavides, por su trabajo y valioso apoyo.

Al personal de los laboratorios de Bioquímica, Microbiología y Patología, por su colaboración y contribución en el presente estudio.

A mis colegas de la Facultad de MVZ, que constantemente me apoyaron en la culminación de la Maestría en Ganadería Andina, en especial al Dr. Martín Urviola Sánchez, mi eterna gratitud.

ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	01
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	03
1.1. OBJETIVOS	05
CAPITULO II MARCO TEÓRICO	06
2.1. Diarrea viral bovina (DVB)	06
Agente etiológico	07
Manifestaciones clínicas	10
Epidemiología	22
Diagnóstico	26
2.2. Prevalencia	28
2.3. Diagnóstico serológico	32
Respuesta inmune y el diagnóstico serológico	32
Diagnóstico indirecto	33
2.4. Factores de riesgo asociado a las enfermedades	38
Factores dependientes del animal	40
CAPITULO III METODOLOGÍA	45
3.1. Lugar de estudio	45
3.2. Metodología	47
3.3. Análisis serológico	48
CAPITULO IV	52
Resultados y discusión	52
Conclusiones	
Recomendaciones	
Bibliografía	
Anexos	

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), se tomaron 90 muestras de sangre procedente de vacunos, ovinos y alpacas considerando clase animal del rebaño mixto del Centro de Investigación y Producción Carolina de la Universidad Nacional del Altiplano. Ubicado a 9 Km. de la ciudad de Puno, a una altitud de 3995 m., sobre la carretera Puno – Moquegua; El suero sanguíneo obtenido fue depositado en viales para su conservación a -20°C y analizados mediante la prueba de ELISA. Para la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en el laboratorio veterinario del sur (Lavetsur) de Arequipa.

Los resultados indican que ninguna muestra de suero sanguíneo de las especies vacuno, ovino, y alpaca fue seropositiva al VDVB por lo que se concluye que en el rebaño mixto del CIP Carolina la seroprevalencia fue del 0.00%; la especie animal y clase no son factores de riesgo en la presentación de infecciones por virus DVB en el CIP Carolina.

Palabras claves: seroprevalencia, rebaño mixto y Diarrea Viral Bobina.

ABSTRACT

With the aim to determine the serum prevalence of the bovine viral diarrhea virus (BVDV), we took 90 samples of pertinent blood of bobines, ovines and alpacas considering animal kind of the mixed herd of the Research and Production Center at National University of Altiplano, situated at 9 Km from the city of Puno, to an altitude of 3,995 masl on the highway – Puno - Moquegua. The serum sanguineous obtained was deposited in vials for his conservation at -20° C., and analysed by means of the proof of ELISA, for the detection of antibodies against the bovine viral diarrhea virus in the Veterinary Laboratory South of Arequipa (LAVETSUR).

The results indicate that any sample of serum sanguineous of the species bovine, ovine and alpaca was 0 positive to the BVDV by what conclude that in the mixed herd of the CIP Carolina the serum prevalence was of 0.00%; the animal specie and kind are not factors of risk in the presentation of infections by virus BVD in the CIP Carolina.

Key word: Serum Prevalence, Mixed herd and bovine viral diarrhea

INTRODUCCIÓN

La Diarrea Vírica Bovina y la enfermedad de las mucosas son síndromes diferentes y originalmente fueron descritos como enfermedades separados, incluso después de demostrarse que poseen una etiología vírica común en 1959, se han utilizado dos nombres distintos para designarlas, en la actualidad se está de acuerdo en que la enfermedad debería llamarse Diarrea Vírica Bovina (virus familia Flaviviridae, y género pestivirus), la enfermedad, origina una importante morbilidad y mortalidad en todo el mundo en el ganado bovino productor de leche y carne; los recientes avances en el diagnóstico y en el conocimiento de la epidemiología del síndrome han permitido determinar mejor su importancia económica (Fenner *et al.*, 2002).

La ganadería bovina en el Perú es una actividad importante de la producción agropecuaria, existen aproximadamente 4'495,263 bovinos, siendo 640,056 bovinos de razas especializadas, 3'855,207 bovinos de la raza criollo, el cual se encuentra mayormente en la sierra, en manos de pequeños y medianos criadores con una crianza de tipo mixto mayoritariamente extensiva, y en menor grado semi – intensiva. La región de Puno cuenta con el 12.2% (547,180) de la población total de vacunos del Perú, de los cuales un 90.8% son de raza criollo y un 9.2% (50,174) son de razas especializadas, de estas el 95.6% Brown Swiss, el 4.4% Holstein y otros. (INEI, 1994).

El virus de la diarrea viral bovina se transmite fácilmente de un animal a otro y de una crianza a otra por mecanismos indirectos, a través de alimentos contaminados por orina, secreciones nasales, heces o fetos abortados y placenta, y se transmite de forma directa a los animales susceptibles con

bastante ineficacia a partir de animales en fase aguda de la enfermedad y de forma muy eficaz a partir de animales persistentemente infectados, dado que la infección también afecta a ovejas, cabras, cerdos, ciervos, bisontes y otros rumiantes salvajes. El virus de la diarrea viral bobina es uno de los virus patógenos más importantes del ganado vacuno, el efecto inmunosupresor del virus pueden potenciar la infección de otros microorganismos, traspasa la placenta de vacas preñadas infectadas y provoca pérdidas en la reproducción debido a abortos, crías que nacen muertas o que tienen vida corta, las crías que logran sobrevivir son inmuno tolerantes y eliminan grandes cantidades de virus infecciosos durante el resto de su vida. Es fundamental identificar a los animales portadores para interrumpir el ciclo infeccioso del rebaño. La importancia radica en evitar la presencia de animales enfermos aplicando como prueba de diagnóstico el test de ELISA, lo que nos permite identificar a los animales portadores de los no portadores por estas razones realizamos el presente trabajo de investigación en el CIP Carolina porque tiene un sistema de crianza mixta que favorece la fácil difusión del virus, siendo nuestro objetivo de estimar la prevalencia del virus de la Diarrea Viral Bobina (Vacunos, ovinos y alpacas) e identificar los factores de riesgo como clase y especie en la presentación de la enfermedad.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El desarrollo y mantenimiento de una industria ganadera lucrativa se basa en una eficiente producción. Los problemas reproductivos de etiología infecciosa caracterizados por fallas reproductivas, de infertilidad, muerte embrionaria, abortos, malformaciones congénitas, o cualquier agente que interrumpe la preñez resultan en grandes pérdidas económicas, por lo que es fundamental identificar las causas que lo ocasionan. A partir de la década de los 90 los virus se consolidan como una de las principales causas de problemas reproductivos, siendo especialmente el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) causante de una de las enfermedades reproductivas de mayor significancia económica por su presentación en forma subclínica, donde están involucrados los bovinos, ovinos, camélidos sudamericanos (Rivera *et al*: 2000).

Estudios realizados de infecciones virales en un sistema de crianza mixta, a través de la detección de anticuerpos contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), en la Comunidad de Yanque provincia de Caylloma – Arequipa (Manchego *et al* .,1998), demostró, una prevalencia de (VDVB) en ovino de 40%, seguido de alpacas con 14% y llama 10%. Estudios realizados

en bovinos lecheros de crianza intensiva en al cuenca de Lima (Rivera *et al.* 2000) señala una prevalencia de infección subclínica de 60%, y una ocurrencia del 40% de abortos.

Cualquier agente que cause problemas reproductivos, siempre será fuente inagotable de investigación, aun cuando sabemos que los trastornos reproductivos en el ganado tienen múltiples etiologías, el problema es que el virus de la diarrea viral bovina es uno de los virus patógenos mas importantes del ganado vacuno, y responsable de perdidas considerables en la industria láctea y carnicá de todo el mundo . La importancia del presente trabajo radica, en el vacuno por ser el principal reservorio del (VDVB), la presencia de esta especie en el CIP – Carolina de la UNA – PUNO; estaría favoreciendo la infección a otras especies tales como ovino, alpacas por ser una crianza mixta, además en las comunidades campesinas son de este tipo de ahí viene la importancia de tipificar como es el grado de infección en estos rumiantes, en base a esta observación se podría preguntar, ¿Cuál de las especies, presenta mayor seroprevalencia al (VDVB) en el rebaño mixto a la prueba de ELISA?

OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia del virus DVB en el rebaño mixto del Centro de Investigación y Producción Carolina de la UNA – Puno.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estimar la seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), en un rebaño mixto en alpacas, vacunos y ovinos en el CIP – CAROLINA de la UNA – PUNO.

- b) Identificar factores de riesgo como, clase, especie en la presentación de infecciones por el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB)

2.1.1. Antecedentes

La DVB se describió por primera vez en 1946, al estudiar una nueva enfermedad que apareció en el ganado vacuno del estado de Nueva York. El nombre con el que se designa este agente microbiano es consecuencia de que la diarrea es el principal síntoma de la enfermedad. Unos años más tarde, a mediados de la década de los cincuenta del siglo pasado, se describió otra enfermedad infecciosa en el ganado vacuno que se denominó enfermedad de las mucosas. En 1957 se aislaron los agentes productores de estos procesos infecciosos. La principal diferencia que se apreció entre ambos virus fue que el virus de la DVB no producía efectos citopáticos en los cultivos celulares, mientras que el virus de la EM sí los originaba; posteriormente, se efectuaron pruebas de neutralización vírica con el objeto de establecer diferencias entre ambos viriones; tras analizar los resultados obtenidos, se pudo constatar que ambos microorganismos eran prácticamente iguales. Recientemente, tras someter estos virus a diferentes estudios basados

en las técnicas de biología molecular, se han podido poner de manifiesto diferencias entre ellos. Ahora bien, desde un punto de vista clínico, cuando la enfermedad se presenta de forma aguda, se asocia con la DVB, mientras que si muestra un desarrollo crónico, se relaciona con la EM; En la actualidad, para prevenir la acción del virus de la DVB en los animales, se recurre al uso de vacunas de virus atenuados mediante el pase sucesivo del virión por cultivos celulares. (Vadillo *et al.*, 2002).

2.1.2. Etiología

El agente etiológico es un virus clasificado dentro de la familia Flaviviridae y el género Pestivirus, muy sensible a la temperatura, siendo inactivado en pocos minutos a 56°C y a un pH ácido; Antigénicamente se reconocen tres serotipos: Nueva York, Indiana y Oregon de los cuales, el último se utiliza en la producción de vacunas, el virus DVB muestra una estrecha relación antigénica con el virus del cólera porcino, relación que se puede demostrar con pruebas serológicas y pruebas de reacción cruzada en vivo; el virus clásico de DVB entérica tiene distribución mundial (Lértora, 2003).

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB), morfológicamente corresponde a una partícula esférica de 30 a 60 nm de diámetro. Es un virus envuelto con una cadena simple de ARN, compactado por una cápside proteica y rodeado por una membrana fosfolipídica, el genoma posee proteínas estructurales y no estructurales; las proteínas

estructurales son: gp48 (EO), gp25 (EI), gp53 (E2) (Reinhardt, et al, 2002).

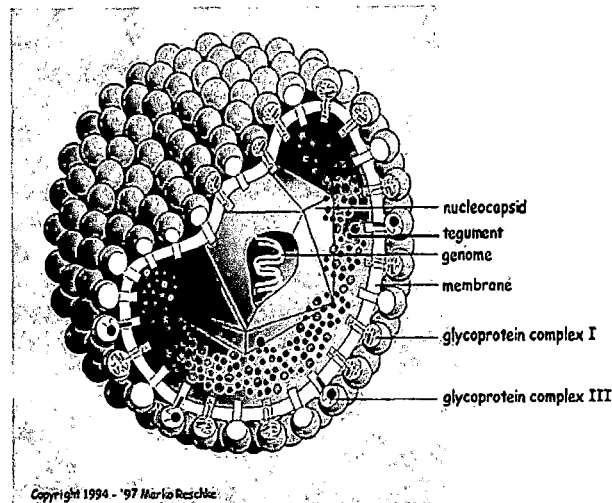


Figura 1: Virus de la Diarrea Viral Bobina

La glicoproteína estructural E2 es el mayor marcador para anticuerpos neutralizantes, los cuales confieren protección luego de la Infección o vacunación, además la naturaleza altamente variable de su región epítoto sugiere que la proteína E2 es una fuente importante de variabilidad antigénica entre las diferentes cepas del VDVB. La glicoproteína estructural EO forma una unión no covalente con E2 en la superficie viral. EO puede encontrarse en el suero de animales persistentemente infectados. Las glicoproteínas no estructurales, son NS2-3, NS2 y NS3. La glicoproteína NS3 está asociada con la actividad lítica del virus, es una glicoproteína altamente conservada e inmunogénica y es la base de los anticuerpos desarrollados comercialmente. Los anticuerpos contra NS3, NS2 no son neutralizantes, pero juegan un rol importante en la inmunidad mediada por células (Reinhardt *et al*; 2002).

2.1.3. Clasificación viral

El VDVB puede ser clasificado en 2 biotipos: citopático (cp) y no citopático (ncp), la diferencia radica en la particularidad del primero de producir efecto citopático (cp) en un cultivo celular susceptible, el que se traduce en vacuolización citoplasmática y muerte celular, además se caracteriza por la expresión separada de las proteínas NS2 y NS3. El otro biotipo (ncp) no causa ningún efecto manifiesto en la monocapa celular que infecta y donde se multiplica adecuadamente, este biotipo es el más común en la naturaleza y expresa NS2-3 como una proteína fusionada sobre la base de su secuencia genética, el VDVB se puede dividir en 2 genotipos :el Tipo I y tipo II.

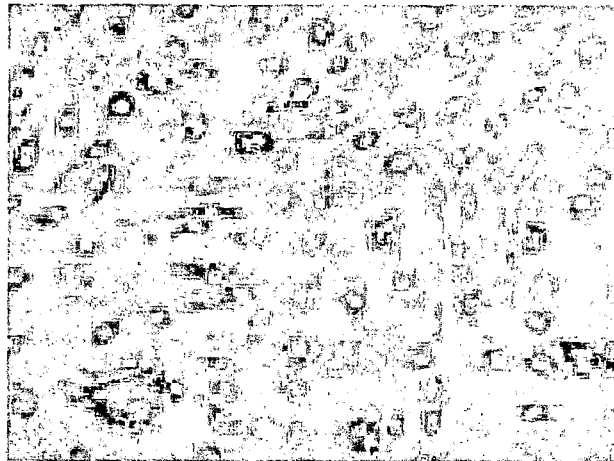


Figura 2: VDVB no citopático



Figura 3: VDVB citopático

El VDVB tipo I causa primariamente enfermedad leve, pero en vacas preñadas las infecciones fetales pueden inducir abortos y otras fallas reproductivas además del nacimiento de animales persistentemente infectados (PI). El VDVB tipo II está asociado principalmente con enfermedad respiratoria severa y un cuadro hemorrágico agudo, caracterizado por trombocitopenia, diarrea hemorrágica, epistaxis, petequias, equimosis en mucosas, anemia, sangrado en zonas de inyección, pirexia, leucopenia y muerte. La diferencia en la virulencia entre el tipo I y el tipo II del VDVB y los mecanismos por los cuales el tipo II causa enfermedad hemorrágica son desconocidos (Lértora, 2003).

2.1.4. Manifestaciones clínicas y patogenia

La vía de infección puede ser horizontal o vertical. En la forma horizontal el virus penetra en forma directa por vía oro-nasal, conjuntiva o genital, a partir de bovinos clínicamente afectados o asintomáticos que eliminan virus por secreciones nasales, saliva, sangre, semen, fecas y orina; en forma indirecta a través de vectores. En la forma vertical el virus llega al feto vía transplacentaria (Miller, 1994). Cuando se infecta una vaca preñada no inmune con VDVB se produce una enfermedad subclínica y el virus rápidamente atraviesa la placenta. El éxito de la infección fetal depende de la virulencia de la cepa del VDVB y la edad del feto al momento de la infección. Si la infección del feto ocurre durante la gestación temprana antes del día 60, puede causar reabsorción fetal, muerte embrionaria y aborto, lo cual se observa

cuando la vaca regresa rápidamente al celo. Si la infección ocurre entre los 60 y 100 días de gestación, cuando el sistema inmune fetal está en desarrollo, éste no reconoce como extraño al virus y el animal se vuelve inmuno tolerante, siendo clínicamente normal pero portador del virus a lo largo de su vida, los animales PI son el principal reservorio del virus de Diarrea Viral Bovina; Cuando la infección ocurre entre los días 100 a 150 de gestación, puede provocar el nacimiento de terneros débiles con alteraciones congénitas, ataxia, hipoplasia cerebelar, lesiones oculares como degeneración de la retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico. Si la infección ocurre luego del día 150, cuando el sistema inmune se encuentra desarrollado no se produce aborto y el animal es capaz de producir anticuerpos contra el VDVB éstos animales nacen sanos y no son portadores del virus (Cebrián *et al.*, 2004).



Figura N° 4: Secreción y congestión mucosa vaginal



Figura N° 5: Querato conjuntivitis



Figura N° 6: lesiones ulcerosas en las encías y congestión



Figura N° 7: Lesiones ulcerosas de la lengua



Figura N° 8: Lagrimeo



Figura N° 9: Secreción nasal mucopurulenta

La ruta principal de infección post natal es la oro-nasal, luego del ingreso del virus, éste se replica inicialmente en la mucosa alrededor del sitio de entrada lo cual lleva a ulceración y la consecuente salivación o descargas nasales, posteriormente ocurre una diseminación sistémica el cual puede ser como virus libre o bien asociado a células, principalmente linfocitos y monocitos. El animal enferma luego de la infección debido a que el virus de DVB daña el tejido epitelial del sistema gastrointestinal, respiratorio y tegumentario. El virus posee afinidad por el tejido linfoide siendo posible detectarlo en células del timo, linfonódulos, placas de Peyer, tonsilas y bazo, los primeros tejidos en infectarse son el epitelio del tracto respiratorio y tonsilas desde donde se disemina a todas las superficies epiteliales y tejido linfoide (Ridpath, 1996).

Las infecciones postnatales de animales inmunocompetentes conducen al síndrome de DVB, luego de un periodo de incubación de 5 a 7 días. La presentación va desde una forma subclínica o leve de gran morbilidad y baja mortalidad, que se caracteriza por fiebre, leucopenia, inapetencia, diarrea leve con curación rápida en pocos días y producción de anticuerpos neutralizantes, una forma aguda de la enfermedad, provoca depresión, anorexia, diarrea a menudo hemorrágica, disnea, descarga oculonasal y ocasionalmente erosiones bucales, además hay leucopenia, linfopenia y neutropenia, lo que potencia la acción de otros microorganismos patógenos bacterianos y vírales. Puede presentarse cojera, enrojecimiento e inflamación de la piel y en tejidos subyacentes de la pezuña, lo que lleva a una baja en la producción láctea.

Desarrollan anticuerpos neutralizantes en 3 a 4 semanas luego de la infección y se considera que persisten el resto de la vida, aunque el título disminuye con la edad (Lértora, 2003).

La infección aguda altera también la función ovárica y reduce la fertilidad. El VDVB causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Es posible detectar el antígeno viral en los macrófagos y células del estroma ovárico, entre los días 6 a 60 post infección, y en células foliculares y oocitos en distintos estados de maduración. Además., las infecciones agudas ocasionan un retraso en el desarrollo de los folículos pre ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos. En los machos el VDVB infecta el tejido testicular estableciendo una infección persistente en los túbulos seminíferos, y es excretado continuamente por un periodo de 7 a 22 meses, por lo tanto el VDVB puede ser aislado a partir de semen, el cual es de baja calidad y potencialmente puede infectar a hembras seronegativas (Moore *et al.*, 2005).

Cuando los animales se infectan por VDVB tipo II, el síndrome puede ser hemorrágico, el cuadro clínico es de alta mortalidad se caracteriza por la presentación de fiebre, diarrea hemorrágica, epistaxis, petequias, equimosis diseminadas en la conjuntiva, mucosa bucal, tejido subcutáneo, peritoneo parietal y visceral, mesenterio, pared del estomago, intestino, riñones, vesícula biliar, bazo, vejiga, diafragma, pleura parietal, pericardio, miocardio, nódulos linfáticos, y meninges.

También hay neumonía y pleuresía fibrinosa trombocitopenia, leucopenia y finalmente la muerte (Rivera, 1993).

El VDVB es responsable de originar lesiones como resultado de la interacción de factores como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes; sin embargo, la presencia de cepas no citopáticas es más complicado y obliga evidenciarlo mediante técnicas como la inmunofluorescencia o la inmunoperoxidasa, lo que hace que el proceso sea largo, incluso demora semanas para obtener el resultado e impide un resultado rápido (Reinhardt *et al.*, 2002).

Las primeras poblaciones celulares que soportan la replicación viral son las células epiteliales de la cavidad bucal, tonsilas y del tracto digestivo, células linfoides, como consecuencia el animal puede presentar múltiples expresiones clínicas como:

Infección subclínica Del 70 al 90% del ganado adulto susceptible puede presentar la VDVB subclínico. El periodo de incubación es de 5 a 7 días aproximadamente luego de la cual se presenta una ligera fiebre y leucopenia, que usualmente no es notado por el veterinario o ganadero siendo esto seguido por una producción de anticuerpos neutralizantes. En general es raro que el virus de la diarrea viral bovina cause enfermedad en animales inmunocompetentes, sin embargo. Debido a su rol inmunosupresor el VDVB puede potenciar o favorecer el desarrollo de

infecciones secundarias, sobre todo aquellas de tipo respiratorio como el complejo respiratorio bovino.

Infección aguda. La infección aguda en animales seronegativos e inmunocompetentes, puede dar un rango muy amplio de signos clínicos estando relacionados con factores como cepa del virus, edad del animal, inmunidad y estado fisiológico del animal y la presencia de otros agentes patógenos. La mayoría de las infecciones agudas están causadas por el biotipo NCP, generalmente ocurre en animales entre 6 meses y 2 años de edad. El periodo de incubación es de 5 a 7 días ; seguido de fiebre transitoria y viremia por encima de los 15 días . Luego del ingreso del virus se replica en las células epiteliales de la mucosa oronasal y tonsilas, la progenie se disemina vía sanguínea y linfática, como virus libre o asociado a linfocitos y monocitos. Además, clínicamente la enfermedad se caracteriza por estomatitis erosiva aguda, gastroenteritis y diarrea, leve depresión, inapetencia, descarga oculonasal. Las infecciones agudas causan ovaritis y producen infertilidad temporal.

Enfermedad de las mucosas. La enfermedad de las mucosas, es usualmente de curso fatal y esta asociado con súper infección del animal PI con el biotipo no citopático, por el biotipo CP del VDVB, teniendo como condición, que el biotipo superinfectante CP debe ser antigénicamente homólogo al biotipo NCP presente en el animal. Estos animales desarrollan profusa diarrea, una rápida pérdida de condición

corporal, erosiones a nivel del tracto gastrointestinal y muerte (Tautz et al, 1994).

Síndrome hemorrágico. Virus del genotipo 2 del VDVB se asocian a una condición fatal denominada síndrome hemorrágico. Se caracteriza por mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y muerte. Esta signología se atribuye a trombocitopenia y alteración de la función plaquetaria; bovinos infectados con el VDVB presentan altas concentraciones de prostaglandina E y óxido nítrico, hay una fuerte correlación entre la fase trombocitopénica y la viremia; además, la recuperación del recuento plaquetario está estrechamente relacionada con la aparición de anticuerpos neutralizantes, esto sugiere que este síndrome es el resultado de una alteración y consumo de los trombocitos periféricos, más que una alteración en su producción (Houe, 1995).

2.1.5. Inmunodepresión

El VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos coinfectantes, tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos; en el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. Estas células elaboran citoquinas esenciales para el normal desarrollo y maduración de linfocitos, lo que sugiere que la

necrosis linfoide es secundaria al trastorno del microambiente que proveen las células intersticiales y no a la acción directa del virus sobre los linfocitos (Cebrián, 2004; Obando *et al*; 2006).

El VDVB potencia a otras infecciones virales y bacterianas como: Parainfluenza tipo 3, rinotraqueitis Infecciosa bovina, rotavirus, Pasteurella spp, Salmonella spp etc; produciendo un cuadro de enfermedad respiratoria. El mayor impacto económico de la infección son los trastornos reproductivos por el tropismo del sistema inmune, tracto reproductivo, cuya replicación ocasiona un conjunto de patologías que depende de la cepa viral y el momento en que ocurre la infección durante la gestación (Contreras *et al*; 2000).

2.1.6. La infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad

No está claro de que manera el VDVB altera la función ovárica, aunque es posible que actúe por uno o más de los siguientes mecanismos: 1) inadecuado soporte gonadotrófico por infección de la glándula pituitaria. 2) la leucopenia que acompaña a la infección aguda puede ser el reflejo de una deficiencia en la población de leucocitos ováricos, células vitales para la dinámica folicular normal. 3) la necrosis de las células de la granulosa de los folículos pre-ovulatorios afecta negativamente la secreción de estradiol y consecuentemente suprime la liberación de hormona luteinizante y retrasa o impide la ovulación. 4) la disfunción ovárica puede ser el resultado de la ooforitis y de los cambios en la

concentración de citoquinas ováricas; 5) la reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular puede perjudicar el comportamiento estral e impedir la ovulación o reducir el número y calidad de oocitos liberados (Stahl *et al*; 2002),

2.1.7. El impacto del VDVB durante la preñez

La elevada frecuencia con que se produce la difusión transplacentaria del virus al feto. Ello da lugar a cualquiera de los siguientes hechos: dependiendo de la edad (madurez inmunológica) del feto y de la cepa vírica, la infección puede conducir a la muerte fetal o momificación o el aborto, anomalías congénitas, nacimiento de terneros pequeños débiles o al nacimiento de un ternero clínicamente normal. La infección producida antes de los 100 días de gestación suele dar lugar a lesiones destructivas y retraso del desarrollo de órganos y tejidos, conduciendo a la muerte o a un escaso peso al nacimiento. Entre los 100 y 150 días de gestación, la infección suele afectar a las génesis de los ojos y del sistema nervioso central, apreciadas en forma de hipoplasia cerebelar, cavitación del cerebro y displasia de la retina. Los terneros supervivientes que se han infectado dentro del utero antes del desarrollo de la competencia inmunológica permanecen infectados de por vida. Nunca desarrollan una respuesta inmune eficaz frente al virus; se trata de una infección tolerante persistente. Estos terneros, que son seronegativos frente a cualquier técnica, eliminan grandes cantidades de virus en todas sus secreciones y excreciones corporales y son muy eficaces en transmitir el virus a las vacas susceptibles de la crianza.

Estos animales tienen también una elevada probabilidad de desarrollar la enfermedad de las mucosas clínicamente. Los animales supervivientes infectados dentro del útero tras el desarrollo de la competencia inmunológica (hacia los 125 días de gestación), presenten o no lesiones patológicas, suelen desarrollar anticuerpos neutralizantes y acabar con el virus (Fenner *et al*; 2002).

2.1.8. Infección persistente

En las crías donde se ha apreciado el virus puede ser infectado un alto número de terneros nacidos en la siguiente época de partos, la mortalidad suele alcanzar el 50% en el primer año de vida, en los terneros se observa: fiebre crónica, anorexia intensa diarrea acuosa, flujo nasal y estomatitis erosiva o ulcerativa, el estudio histológico confirma la necrosis epitelial vista y evidencia una destrucción masiva del tejido linfóide (Lértora, 2003).

2.1.9. Enfermedad de las mucosas

La enfermedad de las mucosas es otra de las manifestaciones clínicas provocadas por VDVB. Esta enfermedad se presenta de forma aguda cuando un animal persistentemente infectado durante la vida intrauterina con un biotipo ncp se sobreinfecta con una cepa antigénicamente homologa pero de tipo cp. El biotipo citopático se origina por mutación a partir del biotipo no citopático; ya sea por depresión de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral. Generalmente, ésta enfermedad se

presenta en animales de 6 a 18 meses, aunque también se ha reportado en terneros de 5 semanas y en vacas de más de 5 años de edad, provocando un 100% de mortalidad. Los casos pueden presentarse en el transcurso de varios días, o aparecer esporádicamente en varias semanas a meses (Morales, 2001).

Los animales con enfermedad de las mucosas se presentan deprimidos, con pirexia (40.5 – 41°C) anorexia, sialorrea, los movimientos ruminales están ausentes y luego de 2 a 3 días de iniciados estos síntomas se producen una diarrea acuosa y profusa a veces sanguinolenta; se presentan lesiones erosivas en la mucosa bucal, lengua, faringe, fosas nasales y morro; generalmente hay descarga nasal mucopurulenta y a veces lagrimeo y edema corneal. En algunos casos hay claudicación producto de la laminitis, coronitis, y lesiones erosivas de la hendidura interdigital. La deshidratación y debilidad son progresivas y la muerte ocurre 5 a 7 días después de iniciados los signos (Zanabria *et al*; 2000). Cuando la sobre - infección de un animal inmuno tolerante portador del VDVB ocurre con una cepa citopática pero antigénicamente diferente, heteróloga, se desencadena la enfermedad de las mucosas de tipo crónica, la que se manifiesta con inapetencia, diarrea intermitente y emaciación progresiva; el pelaje se presenta hirsuto, deformación de las uñas y lesiones erosionadas con escaras a nivel del periné, escroto orificio prepucial y vulva, entre piernas, en el rodete coronario y a nivel de la hendidura interdigital, que pueden hacerse extensivas al resto de la piel. Los casos crónicos pueden sobrevivir por varias semanas a meses

y finalmente la muerte ocurre por inanición crónica, neumonía y otras enfermedades (Zacarías, 2002).

2.1.10. Epidemiología

a. Prevalencia de la infección. Esta enfermedad tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas; la mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovinos seropositivos (Houe, 1995).

b. Hospederos. Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. Los Pestivirus rumiantes infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos, ciervos y rumiantes silvestres, estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los pestivirus cruzan la barrera de especie (Lindberg y Alenius 1999).

c. Fuente de infección. La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos PI. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos (Lértora, 2003).

d. Modos de transmisión. La transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto.

Transmisión vertical. La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos ncp antes de adquirir competencia inmunológica, antes del día 125 de gestación, aproximadamente, desarrollará una infección persistente, que continua durante la vida post natal clínicamente inaparente excretando el virus y diseminándolo a un amplio rango de hospederos. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión. (Lértora, 2003).

Transmisión horizontal. La transmisión puede ser por inhalación o ingestión de saliva, descarga oculo nasal, orina, leche, secreciones uterinas, fluido amniótico, placenta y animales infectados. (Lértora,2003).

Se ha demostrado experimentalmente la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovinos PI a bovinos centinelas. Aunque la transmisión aerógena no es la principal ruta de transmisión, puede tener consecuencias graves cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con alta densidad animal (Zanabria *et al*: 2000).

El semen fresco o criopreservado de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal, para evitar el uso de estos

animales, en los centros de inseminación se debe recurrir al aislamiento viral y a un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección, sin embargo, un toro con infección aguda puede escapar al aislamiento viral en sangre, superar el período de cuarentena y seguir siendo una amenaza. El virus puede eliminarse en semen por un corto período más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por semen. Esta última situación se presenta cuando la infección ocurre en la pubertad, durante la formación de la barrera inmunológica hemato-testicular permitiendo al virus replicarse dentro del testículo y evadir la respuesta inmune, por lo tanto, es esencial un examen del eyaculado, antes que el semen sea distribuido (Lértora, 2003). También es posible la transmisión por transferencia embrionaria. La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además, los cultivos celulares y el suero fetal bovino utilizados en transferencia embrionaria pueden estar contaminados. Los embriones producidos "in vivo", con zona pelúcida intacta, recolectados de vacas, natural o artificialmente infectadas, no actuarían como vectores para la transmisión de la enfermedad si se cumple con los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria; (Rivera, 1993) señala la presencia de una zona pelúcida intacta y los procedimientos de lavado, no garantizan que los embriones estén libres del virus, ya que pueden desarrollarse de oocitos infectados, se ha demostrado que los oocitos soportan la replicación del VDVB, pudiendo ingresar al oocito en forma

directa y a través de las células del cumulus, las cuales son susceptibles al virus y están en estrecho contacto con el oocito por medio de procesos citoplasmáticos, pese a que no se ha demostrado si estos oocitos infectados son capaces de desarrollarse hasta la ovulación, no debe descartarse el potencial de las células germinales para transmitir el VDVB. Los embriones producidos in vitro son fuente potencial de introducción del VDVB. La zona pelúcida de embriones in vitro presenta alteraciones estructurales y bioquímicas permitiendo al virus penetrar hasta aproximadamente 50% de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus, sin embargo, no se ha determinado si la cantidad de virus asociado a estos embriones podría constituir una dosis infectiva para recipientes susceptibles vía intrauterina (Reinhardt *et al*; 2000).

Experimentalmente se han demostrado vías de transmisión indirecta como el uso de agujas, mocheta, palpación rectal y la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva rápidamente por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergente, solvente orgánico y pH que exceda el rango de 5,7 a 9,3; otro modo de transmisión es el uso de vacunas a virus vivo modificado o vacunas contaminadas (Houe, 1995).

g. Transmisión entre rebaños. La forma de introducir el virus a un rebaño susceptible es a través de la adquisición de bovinos PI o

hembras que transportan fetos PI, otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con ovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda (Houe, 1995).

h. Transmisión dentro del rebaño. La tasa de transmisión dentro del rebaño depende de la forma de introducción del virus al mismo, cuando un animal PI es introducido a un rebaño, la transmisión a animales susceptibles ocurre rápidamente a la mayoría de los animales del rebaño, por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje del rebaño antes que la transmisión cese; el sistema de producción y la virulencia de la cepa también participan en la tasa de transmisión (Barrientos, 2002).

2.2.1. Diagnóstico

Puede realizarse un diagnóstico presuntivo basándose en el historial clínico, el examen de los registros sobre reproducción de la crianza, los signos clínicos y las lesiones macroscópicas y microscópicas . Las lesiones orales, cuando están presentes, son especialmente indicativas de esta enfermedad. El diagnóstico de confirmación se basa en el aislamiento del virus en cultivos celulares, la detección del antígeno vírico en los tejidos y en la serología. Entre las muestras que deben enviarse para realizar un aislamiento vírico se encuentran las heces,

exudados nasales, sangre y tejidos recogidos en la necropsia, así como fetos abortados. Dado que el virus nos es citopático en los cultivos celulares, su presencia se determina mediante inmunofluorescencia. Esta misma técnica puede utilizarse para detectar el antígeno vírico en los tejidos. Asimismo, los sueros pareados tomados en las fases aguda y de convalecencia pueden examinarse mediante técnicas serológicas, normalmente la técnica de neutralización, pero debe tenerse cuidado en la interpretación de los resultados negativos ya que los animales tolerantes infectados de forma persistente son seronegativos. (Fenner *et al*; 2002).

Las pruebas de inmunoabsorbancia fijadas a enzimas ELISA y virus neutralización, son las más comúnmente usadas para la detección de anticuerpos contra el virus de la DVB. La prueba de virus neutralización, es altamente específica para detectar el VDVB, aceptada mundialmente como referencial para anticuerpos contra el virus DVB, sin embargo varias condiciones pueden afectar el resultado de la prueba: el biotipo del virus, línea celular, y medio para el cultivo celular. El fundamento de la prueba radica en la capacidad de los anticuerpos para neutralizar la citopatogenicidad o la capacidad del virus de infectar a las células en vivo o in vitro (Rivera *et al*, 1993).

La inmunoabsorbancia ligada a enzimas pueden ser indirecta o de competición o de bloqueos utilizadas como pruebas tamiz en estudios epidemiológicos y en los programas de erradicación de enfermedades

en grandes poblaciones. Estas pruebas son muy utilizadas debido a su independencia de cultivos celulares, pueden ser aplicadas en muestras de leche, plasma, y suero, es factible tener el resultado en pocas horas. Al respecto de la detección del ácido nucleico viral, los avances que se han producido en biología molecular, han contribuido al desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico altamente sensibles. Técnicas de DNA recombinante se aplican para la detección rápida de ácidos nucleicos víricos. La reacción en cadena por la polimerasa (PCR), es altamente sensible al virus de la diarrea viral bovina, es un método usado para la amplificación selectiva in vitro de una región particular del genoma viral. Estas moléculas sintéticas pueden ser utilizadas como componente de un DNA recombinante o como sonda en un test de hibridación. El principio de esta técnica es que moléculas ácido nucleico marcadas, conocidas como sondas, se unen específicamente a las secuencias complementarias de ácido nucleico que se investiga, en este caso el cDNA del VDVB. Debido a la complementariedad entre la sonda y el ácido nucleico vírico, esta unión es específica. En el caso de la DVB, el RNA vírico debe ser purificado y transcrito a DNA complementario (cDNA), mediante una enzima transcriptasa reversa (Sandvich, 1999).

2.2. PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA (DVB)

2.2.1. A nivel internacional:

La diarrea viral bovina (DVB) se describió por primera vez en el año 1946 a partir de la fecha se encuentra ampliamente diseminada a través del mundo en diferentes países con población bovina importante y tiende

a ser endémica ; señalando una prevalencia del 60 al 80% en ganado vacuno y del 1 al 2% está persistentemente infectado y el 70 al 90% presenta infección suclínica (Houe, 1999), el mismo autor señala para Estados Unidos una prevalencia de 65%, Reyno Unido 62,5%, Países escandinavos entre 55 al 100%, Dinamarca 78%, Suecia 41%, , España 43,5%. Estudios de seroprevalencia por (Barrientos, 2002) en Chile, determina para la región metropolitana 59,7%, IX región 77,8%, X región 69,2% en ganado lechero y 86% en ganado de carne; para cuatro predios de la zona de Temuco de 140 sueros analizados determina 25,17% de prevalencia. (Corrales y Garcia, 2003) hace referencia para Finlandia y Noruega • una prevalencia del 50 al 90%, para España los animales infectados varía de 43,5% a 65,4%; (Duong Chi Mai,2004) para Vietnam del Sur determinó una prevalencia de 78,93%; Obando (2006) en un trabajo realizado en el estado de Cojedes, Venezuela determinó para el ganado vacuno adulto infección subclínica del 50 al 90%; (Hever, *et al;* 2007) en Nueva Zelandia determina una prevalencia del 14,6% en ganado lechero y 14% de anticuerpos en los tanques de leche; (Dieguez, *et al;* 2008) al analizar 81 establos lecheros de Brasil determinó una prevalencia de 14,8% en terneros PI; (Progranichniy *et al;* 2008) durante un programa de erradicación del VDVB en Indiana E.U. determinó una seroprevalencia del 0,3%.

2.2.2. A nivel nacional

Estudio epidemiológico de infecciones virales en un sistema de crianza mixta a través de la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea

viral bovina (VDVB) en la comunidad de 'Yanque, provincia de Caylloma - Arequipa demostró una prevalencia del VDVB en ovinos de 40%, seguido de alpacas con 14% y llamas 10% (Manchego *et al*; 1998).

La prevalencia varía en los diferentes países, pero la enfermedad tiende a ser endémica en la mayoría de países con población bovina importante de modo que el 50 a 60% del ganado presenta anticuerpos frente al agente y entre 1 al 2 % está persistentemente infectado (PI) (Houe, 1999), En una investigación de detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina VDVB en muestras de leche de bovinos del valle de Mantaro, Jauja, Concepción y Huancayo, realizada en 18 hatos lecheros mediante la prueba de ELISA indirecta y virus de neutralización, señala que el 72.4% de animales muestreados presentaron anticuerpos contra VDVB en leche, la mayor prevalencia fue para la provincia de la Concepción con 86.3%, seguido por Jauja 83.3% y Huancayo con 41.3% (Contreras *et al*; 2001).

Al investigar agentes abortogénicos en bovinos lecheros del valle de Lima, analizaron 29 fetos abortados y muestras de suero sanguíneo procedentes de 9 hatos lecheros, encontrando que el 20.7% de fetos presentaban antígeno VDVB y el 69.0% de vacas que abortaron presentaron anticuerpos contra VDVB En una investigación de la distribución del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), en tejidos de un bovino persistentemente infectado PI demuestra que el antígeno viral fue detectado en el citoplasma de las células epiteliales, células del sistema

linforeticular de los tejidos frescos. La amplia distribución del antígeno viral en los tejidos del animal especialmente en el útero, nódulos linfáticos y riñón podría explicar la capacidad del virus de pasar a la prole y/o causar las fallas reproductivas así como el compromiso del tejido linfático en la defensa del animal (Rivera *et al*; 2000). En su trabajo de, detección de terneros con infección congénita del VDVB en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa encontró una prevalencia en animales PI del 27.8% para el establo A y para el establo B, 0.16% (Morales, 2001), En estudios realizados en Arequipa en animales clínicamente sanos demuestran que el 65% de vacas son positivas al virus de la diarrea viral bovina (VDVB), lo que significa que más de la mitad de animales han sido expuestas al virus en algún momento de su vida (Manrique, 2002).

SENASA 2006, reporta casos con en ganado vacuno de diarrea viral bovina para el departamento de Puno, en el año 2003, 7 casos, en el año 2004, 14 casos y para el año 2005, 4 casos de DVB. (Manrique, 2007) en un estudio de serie histórica de la DVB, realizado en diferentes zonas zoológicas: Campiña, San Isidro, San Camilo, Sta. Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya y el Pedregal de la región arequipa, señala para el año 2000 (58,7%), 2001 (47,6%), 2002 (61.5%), 2003 (65,6%), 2004 (89,3%), 2005 (78,2%) de seroprevalencia; (Alfonso *et al*; 2006) en terneros de 10 y 23 meses de edad de un establo lechero en proceso de erradicación de Santa Rita de Sigwas estableció 6,6 % de prevalencia; (Cabello *et al*; 2006) al estudiar un rebaño mixto de una comunidad

campesina de Calca Cuzco determinó 81,8% de prevalencia en vacunos, 50% en ovinos y 29,9% en alpacas. (Huamán *et al*; 2007) al analizar animales portadores del VDVB en 204 hatos productores de leche de la irrigación Majes Arequipa determinó una prevalencia de $98.0 \pm 1.9\%$.

2.3. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

2.3.1. Definición

La serología es el estudio del líquido seroso de la sangre; suero que es el líquido transparente que se separa cuando la sangre se coagula, y la inmunología es el estudio del sistema inmunológico del cuerpo sus funciones y transtornos. Los laboratorios de inmunología y serología se concentran en lo siguiente: identificar anticuerpos (proteínas elaboradas por una clase de glóbulo blanco, linfocitos B, como respuesta a un antígeno, una proteína extraña al cuerpo). Investigar los problemas inmunológicos; como las enfermedades autoinmunológicas, los trastornos de inmunodeficiencia (Cabrera *et al*; 2000)

2.3.2. Respuesta inmune y el diagnóstico serológico

Cuando un individuo se pone en contacto con un antígeno por primera vez ocurren los siguientes fenómenos que se relacionan con el diagnóstico serológico. Aparición precoz de anticuerpo específico de clase IgM, la concentración de este anticuerpo no es muy alta y su persistencia generalmente es corta. Su detección habitualmente identifica una infección aguda, aunque en algunas infecciones se correlaciona no sólo con la fase temprana de la enfermedad sino

también con la actividad de la misma en estadios crónicos. Este marcador no es siempre detectable en la fase aguda de la infección. (Williams *et al*; 1999, Lindberg y Alenius, 1999).

Aparición algo mas tardía de anticuerpo específico de clase IgG, la concentración de este anticuerpo va creciendo hasta alcanzar en tres a seis semanas una meseta que muy lentamente desciende, su persistencia suele ser muy prolongado mucho más allá de la curación del enfermo y en ocasiones es detectable durante toda la vida; este echo de mantenerse positivo después de la curación limita su interpretación cuando se detecta aisladamente, estos datos relativos a la respuesta inmune permiten un uso mas adecuado para el diagnóstico. Efectivamente la detección de IgM a unas concentraciones determinadas faculta para realizar un diagnóstico de la infección aguda, por otra parte, la observación de un incremento en la concentración de IgG en dos muestras separadas una en fase aguda y otra convaleciente indica la presencia de un estímulo antigénico en ese momento, que es lo mismo la existencia de una infección aguda (Tizard, 1995).

2.3.3. Diagnóstico indirecto

Para comprender las bases del diagnóstico indirecto conviene recordar las bases fundamentales de la respuesta inmune: distinción entre propio y extraño, especificidad y memoria. Mientras que la primera hace mención que el sistema inmune no debiera responder en condiciones normales frente a sus propias sustancias, las otras

propiedades son de mayor importancia para comprender el diagnóstico indirecto. La especificidad es la propiedad que permite al sistema inmune responder frente al agente externo que la provocó y que esa respuesta no afecte a otros antígenos incluso a aquellos que pudiesen tener un parecido molecular (reacción cruzada). Cuanto mas específica y afin sea esa respuesta mas efectiva será su unión al agente provocador. La persistencia de esos anticuerpos varia con el tiempo y ello depende de muchos factores: estímulo inicial, reinfecciones subclínicas repetida etc.; por ello encontrar anticuerpos frente a un determinado antígeno hará suponer de forma indirecta que el organismo tiene o ha tenido contacto con el o con antígenos de su procedencia (Cabrera, *et al*; 2000).

La memoria inmunológica permite que el sistema inmune recuerde haber tenido contacto previo con un antígeno y responda frente a el de forma anamnésica. Esta respuesta será más rápida y violenta, uniéndose al organismo una gran concentración de anticuerpos en muy poco tiempo, esta propiedad es la base fundamental de la eficacia de las vacunas. La memoria inmunológica supone sin embargo un serio inconveniente a la hora de utilizar la respuesta inmune para el diagnóstico indirecto de una infección, en efecto el mantenimiento de una concentración de anticuerpos durante largo tiempo dificulta con algunas técnicas conocer si estos anticuerpos específicos que se encuentran en el suero del enfermo han sido provocados por una infección actual y o reciente, o son restos persistentes de una infección

antigua o curada, actualmente se disponen de mecanismos para poder discriminar entre estos dos tipos de situaciones (Tizard, 1995).

2.3.4. Técnica de ELISA

La técnica ELISA (Enzyme - Linked Immuno Sorgent Assay) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplean reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre. Además se han propuesto y desarrollado diferentes métodos de amplificación de la señal (luminiscentes, cascadas enzimáticas) que han permitido elevar la sensibilidad de algunos ELISA. Este método a tenido una enorme aplicación en aquellos campos en los que se precisa la cuantificación de productos mediante anticuerpos: diagnóstico clínico, detección viral, clasificación de anticuerpos en isotipos, búsqueda de anticuerpos monoclonates etc., (Cabrera *et al*; 2000).

2.3.5. Fases de un ensayo ELISA

Las cuatro fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

- a. Conjugación del anticuerpo o del antígeno con un enzima** (peroxidasa, fosfatasa alcalina). El anticuerpo conjugado a la enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sándwich, etc., el antígeno marcado se emplea en ensayos de competición de antígeno (Celedón, *et al*; 1997).
- b. Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos.** La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas (Celedón, *et tal*; 1997).
- c. Formación de una o más capas de inmunocomplejos.** En el caso del antígeno unido a la placa se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISA directo) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti – primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario; en el caso del anticuerpo unido a la placa se incuba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado, se ensayan diferentes relaciones de antígeno frío frente a una cantidad fija de antígeno marcado, es el ensayo de competición del antígeno (Celedón, *et al*; 1997).
- d. Revelado de la reacción enzimática.** Después del lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de

inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución, se deja reaccionar y se lee la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. (Celedon *et al*; 1997, Cabrera *et al*; 2000).

2.3.6. Tipos de ensayo ELISA

Se han desarrollado múltiples variantes de ensayo ELISA que permiten desde la cuantificación de un antígeno en solución, la detección de un anticuerpo en una solución (ej. clonaje de anticuerpos monoclonales), o la determinación de la subclase (idiotipo) de un anticuerpo. Dentro de los más comunes se describen: ELISA directo, ELISA indirecto y ELISA sándwich. (Williams *et al*;1999).

- a. **ELISA Directo.** Las placas de ELISA se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones en las que se sospecha se encuentra el antígeno. Se incuban con anticuerpos marcados. Indican la presencia de antígeno en la solución analizada. Es necesario incluir controles negativos que serán muestras del mismo tipo de las analizadas, pero en las que se tenga la certeza de la ausencia del antígeno buscado. Asimismo, se incluyen controles positivos (soluciones donde se encuentra el antígeno buscado, o bien se le ha añadido (Williams, *et al* 1999).

- b. **ELISA indirecto.** Las placas ELISA se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones conteniendo el antígeno, se incuban con anticuerpos marcados que indican la presencia de antígeno en la

solución analizada; es necesario incluir controles negativos. Los controles positivos y negativos son los mismos, el sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primario; la detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal de vida a la unión de dos o mas anticuemos secundario por cada primario. Es el ensayo más empleado como lo es la inmunofluorescencia indirecta, pues un mismo secundario marcado y un mismo sistema enzimático permiten cuantificar una gran cantidad de antígenos (Williams *et al*; 1999).

2.4. FACTORES DE RIESGO ASOCIADO A LAS ENFERMEDADES:

2.4.1. Diarrea Viral Bovina (DVB)

Observar la enfermedad en una población animal supone identificar las características del medio ambiente en el que se desarrollan los animales como posibles “Factores asociados” a las enfermedades, se menciona que para estimar la importancia de una enfermedad se debe identificar la existencia de factores asociados o implicados, por un lado relativo al estado de salud o enfermedad y por otro a la exposición de factores que se sospecha estén implicados en la ocurrencia de la enfermedad; estos factores engloba tres grandes grupos: (Jaramillo, 2010).

2.4.2. Dependientes del Hospedador

Especie, raza, inmunidad natural y pasiva, sexo, edad, estado fisiológico, otras enfermedades.

2.4.3. Dependientes del Agente

Virus, bacterias, hongos, parásitos y otros, hospedador, resistencia al medio ambiente, virulencia, patogenicidad, especificidad, sub especies.

2.4.4. Dependientes del medio en el que se desarrollan

Instalaciones, granjas, corrales, heces, tóxicos, medicación, alimento, (composición cantidad), clima (estación, humedad, temperatura), otro autor (Cebrián, *et. al;* 2004) considera dos grupos de factores de riesgo asociado: Ambientales e infeccioso; dentro de los ambientales señala: Densidad de población o grado de confinamiento, preparación de la vaca durante el periodo seco y durante el parto, instalaciones o alojamiento, condiciones del lugar de parición, condiciones de la tierra. Por otro lado (Campero, 2002) señala como factores de riesgo asociado a las enfermedades bovinas: Número de vacas infectadas, tipo de organismos presentes, adquisición de animales nuevos, transmisión entre animales, alimentación, sistemas de crianza entre los más importantes. Al respecto (Betancur, *et. al;* 2007) establece como factores de riesgo para DVB: Factores de supresión relacionados al hospedador stress, estado nutricional, status inmunológico, enfermedades recurrentes.

2.4.5. Factores dependientes del animal

Raza, edad, sexo, estado gestacional o reproductivo en hembras y toros en servicio. Para (Moore, *et al*; 2005) los factores de riesgo más importantes son: Presencia de animales enfermos, manejo de ganado por edades, condiciones de crianza, sistemas de crianza, vigilancia y educación. Al existir una gran diversidad y amplitud de factores de riesgo mencionados por diferentes autores, se detallan algunos a continuación.

a. Raza. En las cuencas lecheras estudiadas la mayor población bovina es de la raza Brown Swiss, existiendo una reducida población de ganado bovino criollo. La raza mencionada a nivel nacional constituye el 80%, tiene importancia por ser la población base de la actual ganadería; dentro de sus características es un biotipo proveniente de la adaptación del ganado vacuno introducido por los españoles hace mas de 400 años a nuestro medio , muy valioso por su rusticidad, adaptación al medio ambiente y de usos (Leche, carne, tracción) la raza Brown Swiss tiene aptitud de doble propósito, cruzada con vacuno criollo recibe el nombre de “Criollo mejorado” y constituye la raza mas adaptable a la sierra peruana. Es originaria de Suiza también conocida como Pardo Alemán o Pardo Suizo, son animales muy fuertes de buena talla, esqueleto bien desarrollado, piel gruesa que le confiere mayor resistencia a los parásitos y radiación solar, buena

profundidad corporal que significa una gran capacidad para aprovechar el forraje, de temperamento dócil y manso, además de otras cualidades como fertilidad, precocidad, partos fáciles, longevidad, amplia adaptabilidad a diferentes climas, habilidad para pastorear en terrenos duros y pedregosos; es la alternativa ideal de raza lechera (INIA, 2005).

En el Perú se les encuentra en la costa, sierra y el altiplano su crianza es con énfasis en la producción lechera, siendo la producción promedio de 1,500 3,500 litros/vaca/ campaña en condiciones de altitud y alimentación a base de pastos naturales y cultivados; respecto a la susceptibilidad de enfermedades, se conoce que las razas puras de origen europeo son las mas propensas en sufrir problemas reproductivos, especialmente el ganado lechero por estar mas sometidos a stress (Rivera,1993); en un trabajo realizado se determina que las vacas lecheras presentan mayor riesgo de infección por VDVB comparado con vacas de carne (Anderson *et al*; 2000).

- b. Edad.** La edad como factor de riesgo varia con respecto a las diferentes enfermedades infecciosas del ganado bovino, son mas susceptibles hembras en estado reproductivo (hembras en gestación), toros en servicio y vaquillas de primer parto. La etapa de embrión y feto es la edad de mayor riesgo durante toda la gestación, las tres primeras semanas para la vida del ternero son

las más críticas y la vaca adulta durante el ciclo reproductivo; si la infección ocurre en los primeros días antes del servicio, durante el periodo pre-ovulatorio, se reduce la tasa de concepción. El VDVB induce a fallas en la ovulación que predisponen la mortalidad embrionaria temprana (Lértora, 2003)

El periodo de vaca seca también es un momento de alto riesgo para la mayoría de enfermedades haciéndose evidente los signos clínicos luego del parto. Al analizar 150 muestras de sangre de vacunos de leche procedentes de Montería Colombia determinó 29,4% de seroprevalencia para DVB y los factores edad, raza tipo de crianza resultó no significativo (Betancur, *et al*, 2007).

2.5. SISTEMAS DE CRIANZA

A nivel nacional se identifican tres sistemas de producción; el sistema extensivo que predomina en la sierra y selva, el sistema intensivo a nivel de los valles costeros y el sistema semi-intensivo en los valles interandinos (INIA, 2005).

2.5.1. SISTEMA EXTENSIVO

Presenta bajos costos de producción, el capital disponible es escaso. la tecnología es rudimentaria y el terreno está sometido a los ciclos naturales. la utilización de mano de obra es familiar, la alimentación es al pastoreo con pastos naturales y cultivados, en general el pastoreo es mixto es decir en conjunto con otras especies animales y

no requiere de costosas instalaciones como mangas de manejo, corrales de ordeño, comederos, parideros entre otros, la producción lechera es baja; éste tipo de crianza representa el 15, 4% del total nacional de sistemas de producción lechera con una superficie promedio de 5,2 hectáreas (INIA, 2005) según (Quevedo, *et al*; 2003) señala que en este sistema son mas frecuente las enfermedades.

2.5.2. SISTEMA INTENSIVO

Aplica técnicas y tecnologías que les permite obtener el máximo beneficio en el menor tiempo posible; el costo de producción se debe al uso de concentrados en la alimentación, uso de instalaciones para estabulación, ordeño, cunas, salas de reposo, salas de maternidad y uso de maquinarias, la mano de obra es calificada; este tipo de crianza representa el 46.2% del total de establos lecheros y la superficie promedio de crianza es de 9 ha. Este sistema se concentra mas en la costa, la producción lechera puede alcanzar hasta mas de 6,000 lt / vaca / campaña y predomina el sistema de reproducción por inseminación artificial (INIA, 2005).

2.5.3. SISTEMA SEMI-INTENSIVO

El sistema está basado en el pastoreo pero la alimentación se complementa con concentrados, los animales en el día pastorean y en la noche son llevados a confinamiento, presentan una mediana producción de leche y manufacturación de quesos, la reproducción puede ser por inseminación artificial y monta natural, el sistema representa el 38,4%

del total nacional de establos lecheros con un superficie promedio de 68,3 ha. (INIA 2005).

2.6. CONOCIMIENTO DE LAS ENFERMEDADES

Las condiciones del manejo sanitario, alimentación, instalaciones o cobertizos pueden influenciar en mayor o en menor proporción la salud del ganado bovino, así lo menciona (Campero, 2002). El conocimiento de las enfermedades reproductivas y otras por parte de los productores son muy importantes para mantener programas de medicina preventiva. Un aspecto relevante es el conocimiento de las enfermedades basadas en exámenes de seroprevalencia que permite conocer el nivel de infección de las enfermedades involucradas en la cría y crianza del ganado bovino lechero; el desconocimiento epidemiológico ha tenido efecto en una amplia difusión de las enfermedades. El manejo sanitario señala (Georgieva, *et al*; 2006) es una acción difícil pero de extrema importancia, en el criador coexisten hábitos, conductas, costumbres que permiten conciente o inconcientemente la fácil transmisión de enfermedades y plantea la necesidad de conocer y manejar variables sociales antropológicas, educacionales y comunicacionales. El manejo sanitario es un aspecto muy importante en la crianza del ganado bovino, los criadores deberán aplicar medidas preventivas básicas como detectar anomalías mediante observaciones diarias, aplicar medidas de aislamiento en animales enfermos, aplicar tratamiento recomendado por el veterinario y llevar registros del tratamiento o dolencias (INIA, 2005).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Carolina, perteneciente a la Universidad Nacional del Altiplano, ubicado a la altura del Km. 8, de la carretera Puno-Moquegua, ubicado en el distrito de Puno y provincia de Puno, alrededor de las coordenadas U.T.M.(Marcador transversal Universal: Localización única y exacta basada en un sistema de coordenadas geográficas), 389,000 longitud Oeste y 8°242,000 Latitud sur, se halla geográficamente localizada a una altitud de 3,995 m.s.n.m. con una extensión de 144 hectáreas, El clima es frígido y seco de abril a agosto y templado de setiembre a noviembre y lluvioso el resto del año, tiene una precipitación pluvial (mm) promedio anual de 642,2 y una temperatura promedio anual: máxima 14.4; media 9.4; y mínima 1.0 Humedad relativa, promedio anual 56%, con vientos cuyos promedios del Este, Noroeste y Sureste con velocidades de 11 a 15 Km./h. De pastos naturales y recursos mineros, el capital pecuario esta conformado

por vacunos, ovinos, alpacas. Predominan los pastos naturales de baja calidad.

EQUIPOS Y MATERIALES USADOS

Pipetas serológicas y portapipetas

Tubos de 10 ml, agujas N° 18 y viales

Gradillas

Alcohol yodado

Algodón

Pipetas Pasteur

Congelador

Centrifuga

Hielo para el transporte

REACTIVOS

Placas de micro titulación, tapizadas con antígeno de VDVB.

Control positivo 1 ml.

Control negativo 1 ml.

Conjugado peroxidasa de rábano (HRPO) 60 ml.

Diluyente de la muestra 60 ml.

Solución de lavado 480 ml.

Solución de sustrato TMB 60 ml.

Solución de frenado, 1 M HCl 60 ml.

3.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES.

Los animales que se sometieron al proceso de investigación fueron vacunos, ovinos y alpacas que se crían en el CIP Carolina el cual se

Clase	Especie			Total
	Vacunos	Alpacas	Ovinos	
Crias	03	11	8	23
Destetados	03	16	8	27
Adultos	04	13	24	40
Total	10	40	40	90

encuentra distribuido de acuerdo al siguiente cuadro.

Cuadro N° 1. Distribución de vacunos, alpacas y ovinos por clase animal del C.I.P. Carolina

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Obtención de muestras sanguíneas

- Para la toma de muestras de sangre, primeramente fueron rotulados los tubos con los datos del animal como son clase, especie colocados en su gradilla para el transporte.
- Las muestras de sangre obtenidas fueron de sangre entera sin anticoagulante.
- El sitio de punción elegido fue de acuerdo a la especie animal, en el caso de vacunos y alpacas, fue por la vena yugular, y en ovinos fue por la vena radial, para la cual se aplicó un antiséptico como el alcohol yodado y se utilizó agujas N° 18 por 2.5 pulg. y tubos de 10 ml.

- Se dejó los tubos de sangre a temperatura del medio ambiente para la sedimentación del coágulo y separación del suero por 24 horas.
- Pasado las 24 horas, se procedió a coleccionar el suero, en viales estériles previamente rotulados, para la cual se utilizó pipetas Pasteur para cada muestra.
- Los viales fueron guardados en congelación hasta ser trasladados al Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR) de la ciudad de Arequipa, para ser sometidos al método de diagnóstico de ELISA.

3.3.2. ANÁLISIS SEROLÓGICO

Prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina

PRINCIPIO

Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) sobre una fase sólida mediante anticuerpo que directa o indirectamente producen una reacción, cuyo producto, es un colorante que es medido espectofotométricamente.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

➤ Solución de lavado

La solución de lavado concentrada (IOX) debe atemperarse a temperatura de ambiente, y agitarse para asegurar la disolución de posibles precipitados. La solución de lavado concentrada se

diluye 1 a 10 con agua destilada / dionizada antes de su uso.
Preparándose en condiciones estériles.

➤ **PROCEDIMIENTO DEL TEST DE ELISA (KIT IDEXX-USA).**

Para la ejecución se cumplió el resumen del protocolo en forma completa y cuidadosa del manual de instrucciones y consiste en lo siguiente:

- ❖ El kit, los reactivos, y sueros todos deben alcanzar la temperatura ambiente, de 18°C – 25°C antes de usarse.
- ❖ Tomar las placas tapizadas y marcar la posición de las muestras en una hoja de trabajo
- ❖ Añadir 100uL del diluyente de la muestra a cada pocillo.
- ❖ Añadir 25uL de control negativo en los pocillos apropiados
- ❖ Añadir 25uL de control positivo en los pocillos apropiados.
- ❖ Añadir 25 uL de las muestras de suero en los pocillos restantes.
- ❖ Mezclar el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa.
- ❖ Incubar durante 90 minutos a temperatura ambiente, para la cual la placa es sellada firmemente para evitar evaporaciones.
- ❖ Aspirar los contenidos líquidos del recipiente en un reservorio apropiado.
- ❖ Lavar cada pocillo con 300uL de solución lavado 5 veces. Aspirar los contenidos líquidos, de todos los pocillos después de cada lavado. Tras la aspiración final eliminar el fluido de

lavado residual de la placa golpeándolo firmemente sobre material absorbente.

- ❖ Dispense 100uL de conjugado en cada pocillo
- ❖ Inculcar durante 30 minutos a t° de ambiente (18° - 25°C)
- ❖ Repetir los pasos 8 y 9.
- ❖ Dispense 100 uL de la solución TMB en cada pocillo.
- ❖ Incubar 10 minutos a temperatura ambiente (18° - 25°C) en oscuridad.
- ❖ Dispense 100uL de solución de frenado en cada pocillo para frenar la reacción.
- ❖ Calibrar el espectrofotómetro con aire
- ❖ Medir y anotar la absorbancia de las muestras y controles a 450nm.
- ❖ Calcular los resultados:

Fórmula cociente de muestra con respecto al control positivo para cada muestra.

$$MP = \frac{\text{Muestra A } 450 - \overline{NC \bar{X}} A450}{\overline{PC \bar{X}} A 450 - \overline{NC \bar{X}} A450}$$

3.3.3. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- 1) Las muestras con valores de M/P menores de 0.20 son considerados como negativos para anticuerpos (VDVB).
- 2) Las muestras con valores de M/P mayores de 0.20 pero menos a 0.30 son considerados como dudoso.

3) Las muestras cuyos valores de M/P son mayores de 0.30 son considerados positivos.

Para la prevalencia: Se ha utilizado la siguiente formula.

$$P = \frac{\text{Numero de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

3.4. ANALISIS ESTADÍSTICO

El trabajo fue conducido bajo un diseño Bloque completo al azar, considerando como Tratamiento a las clases animales (crías, destetados y adultos), como Bloques a las tres especies animales (bovinos, ovinos, y alpacas), cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ij} = u + B_j + r_i + e_{ij}$$
$$i = 1, 2, 3$$
$$j = 1, 2, 3,$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta (prevalencia).

U = Media población o constante común.

B_j = Efecto de la j-ésima tratamiento (crías, destetados y adultos).

r_i = Efecto de la i-ésimo bloque (bovinos, ovinos y alpacas).

e_{ij} = Error experimental no controlable e_{ijn} (0.02).

Para el presente estudio se utilizó los cuadros de distribución de frecuencia y medidas de tendencia central.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) EN VACUNOS, ALPACAS Y OVINOS DEL CIP CAROLINA.

Según las normas vigentes, para el tránsito interno de animales dispuestos por SENASA (Ministerio de agricultura), estos pueden ser movilizados de un lugar a otro, siempre que cuenten con certificado sanitario de negatividad a brucella, tuberculosis y fiebre aftosa, mientras que el resto de las enfermedades infecciosas como la leucosis, diarrea viral bovina y otros, por la no certificación emitida por SENASA, se pueden introducir a otras zonas con el movimiento de los animales, procedentes de áreas donde estas enfermedades como la diarrea viral bovina son prevalentes, ya que no constituyen barreras sanitarias, estos agentes causales de la diarrea viral bovina pueden difundirse rápidamente al encontrar una población susceptible y ante la falta de medidas de control.

La seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en el rebaño mixto del “CIP Carolina” de la ciudad universitaria, de un total analizado de 90 animales, en tres especies (vacunos, alpacas y ovinos) y en clase de animales (crías, destetados y adultos), no mostraron reacción positiva al virus de la diarrea viral bovina (cuadro 1), del cual se deduce que no se halló títulos de anticuerpos para este virus, que sean superiores a 0.20 de MP.

Cuadro 1. Seroprevalencia al virus de la diarrea viral bovina en el rebaño mixto del “CIP Carolina” según especie animal UNA – Puno, 2010.

Especie de animales	Seroprevalencia del virus de la DVB			
	Nº de animales	Nº animales seropositivos	Nº animales seronegativos	Seroprevalencia %
Vacunos.	10	0.00	10	0.00
Alpacas.	40	0.00	40	0.00
Ovinos.	40	0.00	40	0.00
Total.	90	0.00	90	0.00

Los seronegativos hallados en el 100% de los animales que se sometieron a la determinación del virus de la diarrea viral bovina en vacunos, alpacas y ovinos a distinta clase animal, no presentaron anticuerpos neutralizantes contra el virus de la diarrea viral bovina (agente causal de la enfermedad denominada diarrea viral bovina), lo que indica que los animales del “CIP Carolina”, no fueron expuestos al virus en algún momento de sus vidas; informaciones proporcionadas por el personal del CIP Carolina, indican que no se utilizaron vacunaciones

contra el virus de la diarrea viral bovina, razón que atribuimos que la seroprevalencia (reactor negativo al virus de la DVB) está presente en el este centro de crianza ganadera, en caso que se hubiese tenido animales seroreactores positivos se estaría atribuyendo al virus del campo, lo cual descartamos, puesto que el rebaño mixto del CIP Carolina mostraron sero-reacción negativa, deduciendo que en los animales de este centro no muestran anticuerpos para la diarrea viral bovina en los bovinos, alpacas y ovinos.

A pesar que la diarrea viral bovina tiene distribución mundial y esta tiende a ser endémica alcanzando niveles de 0.5 a 2.0% en bovinos en los diferentes países (House, 1995), en el CIP Carolina de la ciudad Universitaria, no se determinó reacción alguna a la positividad al virus de la DVB, a pesar que tiene una crianza mixta con un tipo de crianza extensiva, de esto deducimos que la principal fuente de infección y reservorio del virus de la DVB están los vacunos (Lértora, 2003), pero este hecho no se dio en los animales sometidos a estudio del CIP Carolina, posiblemente no hubo introducción de animales portadores del virus de la DVB al centro de crianza ganadera (CIP Carolina), de la misma manera descartamos que no se presentó transmisión horizontal del virus, especialmente por inhalación, aunque la vía aerógena no es la principal ruta de difusión (Zanabria, et al, 2000), y si se diera este caso las consecuencias serían graves, cuando las cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles.

Cabe indicar, que el semen fresco o el criopreservado de toros, constituyen una importante vía de infección horizontal para el virus de la diarrea viral bovina (Reinhardt, et al, 2000; Lértora, 2003), frente a este punto, se debe indicar que el CIP Carolina, no se realiza inseminación artificial ya sea con semen fresco y mucho menos con semen criopreservado, por lo que atribuimos que esta vía de transmisión horizontal en el CIP Carolina es descartada, motivo por el cual no se mostro reactores positivos al virus de la diarrea viral bovina, a pesar que (House, 1995) manifiesta que experimentalmente se han demostrado vías de transmisión indirecta como es el caso del uso de agujas, mochetas, palpación rectal, pero este hecho aun no está bien clarificado, por lo que esta no puede ser una fuente de contagio o de transmisión para el virus de la DVB.

El diagnóstico mediante el historial clínico, examen de registros, signos clínicos y lesiones, constituyen medios de identificación de la diarrea viral bovina (Calderon, et al, 1997), pero esta característica no se dio en el CIP Carolina, puesto que en los años de crianza ganadera de este centro, no se cuenta con registro alguno sobre las manifestaciones propias de la enfermedad, razón que los resultados del presente estudio muestra seroprevalencia negativa para el 100% de los animales sometidos a estudio.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo frente a la determinación de anticuerpos para el virus de la DVB, deducimos que la

inmunología frente a el estudio de la identificación de anticuerpos (proteínas elaboradas por su clase de leucocitos – linfocitos B – como respuesta de una antígeno) Cabrera, et al, (2000), mediante el método de ELISA no se obtuvo seroprevalentes positivos en ningún animal sometido a estudio, puesto que la técnica de ELISA (enzyme-linked immuno sorgent assay), se basó en la detección del anticuerpo inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen reacción con coloración determinada espectrofotométricamente (Georgieva, et al, 2006), teniendo en cuenta que en el presente trabajo se realizó el ensayo de ELISA indirecto (William et al, 1999), en el laboratorio LABVETSUR de la ciudad de Arequipa, no habiéndose hallado seroreactores positivos en ninguno de los animales de estudio, que comparando estos resultados con los que manifiesta SENASA (2006), para el departamento de Puno, reporta que para el año 2003 se halló 7 casos, para el 2004, 14 casos y para el 2005, 4 casos de diarrea viral bovina, de ello colegimos que el porcentaje de vacunos portadores del virus de la diarrea viral bovina es relativamente bajo, el mismo que no permite una difusión rápida de este virus como para poder difundirse la enfermedad en el departamento de Puno, aseveramos que una de las causas que permite la difusión de la enfermedad es la introducción de animales portadores al hato, esta característica es descartada puesto que en el CIP Carolina no se han introducido animales con presencia del virus de la DVB.

4.2. FACTORES DE RIESGO, POR CLASE Y ESPECIE ANIMAL EN INFECCIÓN POR VIRUS DVB.

El estudio realizado en el CIP Carolina para determinar la presencia del virus en los animales según el factor clase animal y especie, a la prueba de ELISA no se halló prevalencia alguna, con ello deducimos que en ninguno de los animales sometidos a estudio mostramos reactividad positiva al virus de la diarrea viral bovina, en crías, destetados y en adultos, lo cual indica que este virus no está presente en este centro de crianza ganadera.

Cuadro 2. Seroprevalencia al virus de la diarrea viral bovina en el rebaño mixto del “CIP Carolina”, según factor clase animal y especie UNA – Puno, 2010.

Clase animal	Seroprevalencia del virus de la DVB						
	Especie animal						Seroprevalencia %
	Vacunos.		Alpacas.		Ovinos.		
	Nº animales	Seropositivos	Nº animales	Seropositivos	Nº animales	Seropositivos	
Crias.	03	0.00	11	0.00	8	0.00	0.00
Destetados	03	0.00	16	0.00	8	0.00	0.00
Adultos	04	0.00	13	0.00	24	0.00	0.00
Total.	10	0.00	40	0.00	40	0.00	0.00

La clase animal sometida a estudio de ELISA para detectar la presencia del virus de la DVB, indica que esta enfermedad puede estar presente en crías y en animales destetados, puesto que las infecciones postnatales de animales inmunocompetentes pueden conducir al síndrome de la diarrea viral bovina (Lértora, 2003), la infección post natal

(Ridpath, 1996) es una de las vías de transmisión del virus de la DVB, descartando este hecho para el CIP Carolina, puesto que ninguno de los animales sometidos a estudio presento reacción positiva al virus, por lo tanto descartamos que pudiera presentarse infección post natal, deduciendo que en este centro está ausente la infección vertical en el cual el virus llega al feto por vía transplacentaria (Miller, 1994), pero frente a este punto, se debe tener presente que si en el caso hubiera un animal con el virus de la DVB, en un inicio de la enfermedad puede presentar sintomatología sub clínica y en el caso que el animal estuviera preñada, este virus puede fácilmente atravesar la infección por la vía transplacentaria y esta infección depende de la virulencia de la cepa del DVB (Cebrian, et al, 2004), es por ello que se debe realizar la monitorización periódica de los animales del hato a fin de detectar la posible infección con el VDVB y realizar los programas de control pertinentes para que no se difunda la enfermedad, especialmente en los machos, puesto que el virus de la DVB infecta el tejido testicular estableciendo una infección persistente en los túbulos seminíferos (Moore et al 2005), y este virus puede ser excretado en un periodo de 7 a 22 meses y de esa manera se puede difundir el virus en las hembras seronegativas y estas producir una transmisión vertical a los fetos.

Referente al ELISA utilizado por LABVETSUR de la ciudad de Arequipa, reporta que tiene una sensibilidad de 96.3% y una especificidad de 99.5%, que este tipo de validación del ELISA KITIIDEXX - USA - BVDV ab, Test utilizado por esta institución, certifica

que los datos que se analizaron de las muestras serológicas procedentes de animales del CIP Carolina, dio valores seronegativos en el 100% de los animales sometidos a estudio, de los que afirmamos que en el CIP Carolina no está presente el virus de la diarrea viral bovina en los bovinos, alpacas y ovinos y los factores de clase animal, por lo tanto no hay infección alguna frente a este virus; esta sensibilidad y especificidad del Test utilizado indica que del 100% de animales positivos el Test solo detecta el 96.3% de los animales verdaderamente positivos al virus, y del 100% de animales verdaderamente negativos al virus el Test solo detecta 99.5% de animales que verdaderamente son negativos a la enfermedad, con esta prueba de ELISA deducimos que verdaderamente no esta presente la enfermedad en el CIP Carolina, el mismo que no da motivo a mayor discusión alguna, mas al contrario se deben establecer programas de control que favorezcan la no introducción de este virus en este centro de crianza ganadera, y así de esta manera no contar con problemas reproductivos especialmente en los vacunos que afecten el desarrollo productivo..

Para un mejor entendimiento de la prevalencia cero hallada en el presente estudio, en el cuadro 3 se muestra el valor promedio M/P para las especies animales y factor clase animal, que certifican la ausencia del virus en el CIP Carolina – ciudad universitaria.

Cuadro 3. Valores promedio de la densidad óptica - ELISA al virus de la diarrea viral bovina en el rebaño mixto del “CIP Carolina”, según especie animal y factor clase animal UNA – Puno, 2010.

Espece animal	Clase animal	Nº Animales	Promedio densidad óptica ELISA
Vacunos.	Crías.	03	0.144
	Destetados.	03	0.142
	Adultos.	04	0.148
Alpacas.	Crías.	11	0.112
	Destetados.	16	0.111
	Adultos.	13	0.125
Ovinos.	Crías.	08	0.120
	Destetados.	08	0.130
	Adultos.	24	0.142
Promedio general		90	0.131

Del cuadro 3 se desprende que el promedio de la densidad óptica hallado dentro del límite para la negatividad a la prueba de ELISA, puesto que el reporte de la prueba de ELISA (LABVETSUR) para el control negativo muestra una densidad óptica de 0.148 y para el control positivo muestra una densidad óptica de 1.268, la densidad óptica hallada en vacunos adultos fue de 0.148, dato que se encuentra dentro del límite que reporta LABVETSUR para las pruebas negativas, los datos obtenidos para los 3 vacunos destetados fue de 0.142, dato muy cercano al límite de negatividad a la prueba de ELISA, y los vacunos crías mostró valores de densidad óptica de 0.144, dato que se aproxima al control negativo, que relacionándolo con la especificidad del KIT de ELISA (KIT IDEXX-USA) con 99.5% de especificidad, indica que este Kit de ELISA no está detectando el 0.5% de los animales sometidos a estudio. En lo

que se refiere a la especie ovina, los adultos muestran una densidad óptica de 0.142, dato que está muy cercano a la densidad óptica control de negatividad del Kit de ELISA, de esto deducimos que estos valores cercanos a la densidad óptica del control negativo pueda ser que se deba al 0.5% de error que muestra el KIT IDEXX – USA, que a nuestro parecer se debería de repetir el análisis de estos animales a fin de descartar la verdadera negatividad al virus de la DVB, en lo que respecta a el resto de los animales sometidos a estudio los valores negativos de densidad óptica se encuentran muy lejanos al valor de la densidad óptica del control negativo, que esto atribuimos a el 99.5% de sensibilidad que muestra el KIT IDEXX – USA.

Comentamos que no se cuenta con informaciones del estado sanitario de los animales del CIP Carolina, por lo que la no presencia del virus en los animales muestreados, indica que el virus está ausente en este centro de crianza ganadera, y si es que se presentara algún problema respiratorio en estos animales del CIP Carolina no se debería a la presencia del virus de la diarrea viral bovina, mas al contrario se debería a problemas respiratorios bacterianos o parasitarios, puesto que los efectos de mayor relevancia del virus de la DVB son a nivel respiratorio como complejo respiratorio propiamente dicho y a nivel de tracto genital pueden ocasionar reabsorción embrionaria, muerte embrionaria o aborto, que esta estaría influenciada por la cepa del virus de la DVB

V. CONCLUSIONES

PRIMERA.- En el centro de investigación y producción Carolina de la ciudad Universitaria, la presencia de la Diarrea Viral Bovina según la prueba aplicada para la detección de anticuerpos ELISA, el virus de la diarrea viral bovina no está presente en bovinos, alpacas, y ovinos, mostrando una prevalencia cero por ciento para los anticuerpos virales.

SEGUNDA.- Según factores de riesgo por clase animal y especie animal, el virus de la diarrea viral bovina no está presente en el CIP Carolina, por haberse obtenido valores de densidad óptica al KIT de ELISA – IDEXX – USA – iguales/inferiores a 0.148.

VI. RECOMENDACIONES

PRIMERA.- Los animales que dieron valores de densidades ópticas iguales y/o cercanas al límite control de densidad óptica negativo al ELISA, se recomienda repetir la prueba de ELISA en estos animales, puesto que la especificidad del KIT – IDEXX – USA es de 99.5%.

SEGUNDA.- Efectuar los programas de control en el CIP Carolina, a fin de no introducir animales portadores del virus de la diarrea viral bovina al hato, sin que previamente no se haya realizado con su suero la prueba de ELISA y de cómo negativo a la diarrea viral bovina (DVB), recomendación muy importante que le hacemos extensiva a los criadores.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Alfonso H, Rivera H, Aranga R, Manchego S. 2006. Evaluación de anticuerpos contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina en un Hato en proceso de Erradicación de la Enfermedad, Rev. Investg. Vet. Enero.
2. Barrientos Cárdenas S. 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, 2002.
3. Betancur H., Gorgorza L., Martínez F. 2007. Seroepidemiología de DVB en Montería Córdoba, Colombia. *Analecta Veterinaria* 27(2) ISSN 0365-5148.
4. Cabello R., Quispe Ch., Rivera H. 2006: Frecuencia de los virus Parainfluenza 3, Respiratorio sincitial y Diarrea Viral Bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina Investg. Vet. Perú N° 145, 1 de Junio p.p.1-2 ISSN.
5. Cabrera M., Ortiz P Claxto J., Williams D., Trees A. 2000. Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en ganado vacuno en el Perú. IV Congreso de Parasitología. 212 p.p.
6. Campero M. 2002. Patología Veterinaria. INTA E. E. A. Balcarce. Rev. *Idia BS AS,P,P.* 127 – 131.

7. Cebrián I., Barberán M., Ferrer L. 2004. Neosporosis Bovina Agroveterinaria. Vet. Inv. Marzo, ISSN, 1688- 2075. Dpto. Patología Animal, Zaragoza.
8. Celedon M., Quinteros G. Roco R. 1997. Puesta en evidencia del VDVB en bovinos clínicamente afectados. Arch. Med. Vet., 1997, Vol. 29, N° 2, p. 189-1 95.
9. Contreras O., Stahl K., Arana C., Rivera H. 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.
10. Corrales J., García S. 2003. Epidemiología e Importancia económica de la DVB. Info. Vet. Ciencias V.FEBOL, p.p. 1-30.
11. Dieguez F.,Yus E, San Juan M., Vilar M., Arnaiz I. 2008. Monitoring bovine viral diarrhea (BVDV) Infection status in dairy herds. Pesq. Vet. Bras. 28(12) dezembro, p.p.588-592.
12. Duong Chi Mai 2004. Neospora caninum and bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cattle. Depart. Of CUnical Vet. Med.usspala Sweden p.o. box 7017, SE 75007.
13. Fenner F., Bachmann; Murpht F; Studdert M, White D. 2002 – Virología Veterinaria, Ed. Acribia S.A.; Zaragoza (España) 477 – 479.
14. Georgieva D; Prelezov P; Koinarski T. 2006. Neospora caninum and neosporosis en animals A. Review. Bulg. J. Vet. Med. 9, N° 1.
15. Heuer C.,Healy A., Zerbini C. 2007. Economic effects exposure to bovine viral diarrhea virus en dairy herds in New Zeland. J. Dairy Sci: American Dairy Science Association 90:5428-5438, DOI:103168,

16. Houe H., 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin, of North Am. Food Animal precoticé.* 11(3): 521 — 547.
17. Huamán J., Rivera H., Aranibar M., Gavidia O., Manchego A. 2007. Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche en la irrigación de Majes, Arequipa. *Rev. Invet. Perú, V 18. n2,* julio-diciembre, Lima —Perú.
18. INEI. Instituto Nacional de Estadística e Informática. 1995. III Censo nacional Agropecuario 1994. resultados definitivos departamento de Puno.
19. Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). 2005. La investigación en sistemas Extensivos de producción. *Portal veterinaria N° 2,* p.p.3-6.
20. 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. Pág. 61 — 90.
21. Lindberg A., Alenius S., 1999, Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Veterinary Microbiology* 64 (1999) 197-222.
22. Manchego A., Rivera H., Rosadio R 1998. Seroprevalencia de agentes virales en rebaños mixtos de una comunidad Andina peruana. *Rev. mv. Pec. IV1TA (Perú).* 9: 1-10.
23. Manrique G., 2002. Aborto viral. *Medicina A de la Producción. LABVETSUR Año 1 N° 1,* Julio 2002.
24. Manrique G. 2007. Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis

bovina por zonas zoocológicas de la Región Arequipa. Revista Medicina A de la Producción, LABVETSUR.

25. Moore D., Odeon A., Venturini M., Campero C., 2005. Neosporosis bovina: Conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Rey. Argent. Microbiol. Vol. 37 N° 4, oct/dic. ISSN 0325-7541
26. Morales, C. 2001. Detección de terneros con infección congénita con el virus de la Diarrea Viral Bovina en hatos lecheros de la Provincia Arequipa. Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario — UNMSM.
27. Miller R. 1994. The Veterinary Clinics of North America. SAUNDERS COMPANY, VOL. 10, Number3: 205—514.
28. Obando C., Ocanto D., Hidalgo M., Rodriguez J., Durán R. 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.
29. Progranichniy R., Raizman E., Thacker L., Stevenson W. 2008 Prevalence y Caracterizacion of bovine viral diarrhoea virus in the white Tailed deer population in Indiana. J. Vet. Diag Investg. 20: 71-74.
30. Quevedo V-, Chavez A., Rivera H., Casa E., Serrano E. 2003. Neosporis en bovinos lecheros de dos distritos de la provincia de Chachapoyas. Rev. Investg, vet. Peru Vol 14n en/jun, p.p. 1-6. ISSN 1609-9117.
31. Quispe., 2006. Prevalencia de diarrea viral bovina en la provincia de Melgar-Puno. Tesis Med. Vet. – UNA, Puno.
32. Reinhardt V., Gemi A., Gonzales R., Stelia E., Babaic T., Nestor A., 2000. Muestreo predial pequeño para predecir una infección activa por virus diarrea viral bovina (VDVB) en plantales lecheros de la IX Región de Chile.

33. Ridpath, J. 1996. Sequence diversity and genotyping, International Symposium Bovine viral diarrhoea virus, 50 years. *Revista Cornell University USA*, PP. 39 -92.
34. Rivera H. 1993. el virus de la diarrea viral bovina (DVB). *investigaciones pecuarias*, enero-julio, vol. 06 N°1. Lima. Perú.
35. Rivera H. Nelson D. Tabachi L. 2000. *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. *Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú)*.
36. Stahl K., Rivera H., Vagsholm I., Moreno L. 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV —1 in a rural region of Perú. *Preventive veterinary medicine* 56 (2002): 193 — 202.
37. Tizard LR., 1995. *Immunology: An Introduction*, 4 edición. Saunders College Publishing, New York, pp 844-862.
38. Vadillo S. Piriz S., Mateos E. 2002. *Microbiología veterinaria*. Mc Graw Hill – Interamericana España.
39. Williams D.J., Davison H.C. Evaluation of a commercial ELISA for detecting seruni, antibody to *Neospore caninum* in cattle. *Vet. Rec.* 1999; 154:571 — 575.
40. Zanabria y., Rivera H, Rosadio R., 2000. Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima. *Rev. Mv. Vet. Perú* 11(2): 67—85.
41. Zacarías E., 2002 Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa en bovinos criollo de Parinacochas, Ayacucho. *Rev. mv. Vet. (Perú)* 13n. 2, Lima jul., dic.

ANEXOS

ANEXO 1

DIAGNÓSTICO DE DIARREA VIRAL BOVINA

FECHA DE INFORME : 15/09/2010

REFERENCIA : B22/8 - 10

DIAG : 1139

FECHA DE ENVIO : 18/08/2010

Nº	ESPECIE ANIMAL	CLASE ANIMAL	DENSIDAD ÓPTICA	VALOR M/P	RESULTADO BVD S.R.
1	Alpaca	Cria	0,126	-0,02	"Negativo"
2	Alpaca	Cria	0,123	-0,02	"Negativo"
3	Alpaca	Cria	0,112	-0,03	"Negativo"
4	Alpaca	Cria	0,108	-0,04	"Negativo"
5	Alpaca	Cria	0,087	-0,05	"Negativo"
6	Alpaca	Cria	0,105	-0,04	"Negativo"
7	Alpaca	Cria	0,105	-0,04	"Negativo"
8	Alpaca	Cria	0,122	-0,02	"Negativo"
9	Alpaca	Cria	0,117	-0,03	"Negativo"
10	Alpaca	Cria	0,114	-0,03	"Negativo"
11	Alpaca	Cria	0,112	-0,03	"Negativo"
12	Alpaca	Destetado	0,106	-0,04	"Negativo"
13	Alpaca	Destetado	0,092	-0,05	"Negativo"
14	Alpaca	Destetado	0,107	-0,04	"Negativo"
15	Alpaca	Destetado	0,105	-0,04	"Negativo"
16	Alpaca	Destetado	0,112	-0,036	"Negativo"
17	Alpaca	Destetado	0,116	-0,03	"Negativo"
18	Alpaca	Destetado	0,114	-0,03	"Negativo"

19	Alpaca	Destetado	0,112	-0,03	"Negativo"
20	Alpaca	Destetado	0,109	-0,03	"Negativo"
21	Alpaca	Destetado	0,094	-0,05	"Negativo"
22	Alpaca	Destetado	0,112	-0,03	"Negativo"
23	Alpaca	Destetado	0,114	-0,03	"Negativo"
24	Alpaca	Destetado	0,117	-0,0	"Negativo"
25	Alpaca	Destetado	0,122	-0,02	"Negativo"
26	Alpaca	Destetado	0,114	-0,03	"Negativo"
27	Alpaca	Destetado	0,122	-0,02	"Negativo"
28	Alpaca	Adulto	0,123	-0,02	"Negativo"
29	Alpaca	Adulto	0,112	-0,03	"Negativo"
30	Alpaca	Adulto	0,133	-0,01	"Negativo"
31	Alpaca	Adulto	0,125	-0,02	"Negativo"
32	Alpaca	Adulto	0,128	-0,02	"Negativo"
33	Alpaca	Adulto	0,125	-0,02	"Negativo"
34	Alpaca	Adulto	0,126	-0,02	"Negativo"
35	Alpaca	Adulto	0,123	-0,02	"Negativo"
36	Alpaca	Adulto	0,119	-0,03	"Negativo"
37	Alpaca	Adulto	0,107	-0,04	"Negativo"
38	Alpaca	Adulto	0,140	-0,01	"Negativo"
39	Alpaca	Adulto	0,125	-0,02	"Negativo"
40	Alpaca	Adulto	0,127	-0,02	"Negativo"

DIAGNÓSTICO DE DIARREA VIRAL BOVINA

FECHA DE INFORME : 15/09/2010

REFERENCIA : B22/8 - 10

DIAG : 1139

FECHA DE ENVIO : 18/08/2010

Nº	ESPECIE ANIMAL	CLASE ANIMAL	DENSIDAD ÓPTICA	VALOR M/P	RESULTADO BVD S.R.
1	Ovino	Cria	0,114	-0,03	"Negativo"
2	Ovino	Cria	0,121	-0,02	"Negativo"
3	Ovino	Cria	0,116	-0,03	"Negativo"
4	Ovino	Cria	0,115	-0,03	"Negativo"
5	Ovino	Cria	0,103	-0,04	"Negativo"
6	Ovino	Cria	0,115	-0,03	"Negativo"
7	Ovino	Cria	0,146	0,00	"Negativo"
8	Ovino	Cria	0,128	-0,02	"Negativo"
9	Ovino	Destetado	0,145	0,00	"Negativo"
10	Ovino	Destetado	0,154	0,01	"Negativo"
11	Ovino	Destetado	0,127	-0,02	"Negativo"
12	Ovino	Destetado	0,114	-0,03	"Negativo"
13	Ovino	Destetado	0,102	-0,04	"Negativo"
14	Ovino	Destetado	0,130	-0,02	"Negativo"
15	Ovino	Destetado	0,130	-0,02	"Negativo"
16	Ovino	Destetado	0,137	-0,01	"Negativo"
17	Ovino	Adulto	0,145	0,00	"Negativo"
18	Ovino	Adulto	0,162	0,01	"Negativo"

19	Ovino	Adulto	0,133	-0,01	"Negativo"
20	Ovino	Adulto	0,127	-0,02	"Negativo"
21	Ovino	Adulto	0,127	-0,02	"Negativo"
22	Ovino	Adulto	0,137	-0,01	"Negativo"
23	Ovino	Adulto	0,130	-0,02	"Negativo"
24	Ovino	Adulto	0,144	0,00	"Negativo"
25	Ovino	Adulto	0,140	-0,01	"Negativo"
26	Ovino	Adulto	0,137	-0,01	"Negativo"
27	Ovino	Adulto	0,142	-0,01	"Negativo"
28	Ovino	Adulto	0,134	-0,01	"Negativo"
29	Ovino	Adulto	0,130	-0,02	"Negativo"
30	Ovino	Adulto	0,147	0,00	"Negativo"
31	Ovino	Adulto	0,136	-0,01	"Negativo"
32	Ovino	Adulto	0,145	0,00	"Negativo"
33	Ovino	Adulto	0,147	0,00	"Negativo"
34	Ovino	Adulto	0,141	-0,01	"Negativo"
35	Ovino	Adulto	0,147	0,00	"Negativo"
36	Ovino	Adulto	0,139	-0,01	"Negativo"
37	Ovino	Adulto	0,152	0,00	"Negativo"
38	Ovino	Adulto	0,163	0,01	"Negativo"
39	Ovino	Adulto	0,141	-0,01	"Negativo"
40	Ovino	Adulto	0,162	0,01	"Negativo"

DIAGNÓSTICO DE DIARREA VIRAL BOVINA

FECHA DE INFORME : 15/09/2010

REFERENCIA : B22/8 - 10

DIAG : 1139

FECHA DE ENVIO : 18/08/2010

Nº	ESPECIE ANIMAL	CLASE ANIMAL	DENSIDAD ÓPTICA	VALOR M/P	RESULTADO BVD S.R.
1	Vacuno	Cria	0,175	0,02	"Negativo"
2	Vacuno	Cria	0,135	-0,01	"Negativo"
3	Vacuno	Cria	0,162	0,01	"Negativo"
4	Vacuno	Destetado	0,118	-0,03	"Negativo"
5	Vacuno	Destetado	0,124	-0,02	"Negativo"
6	Vacuno	Destetado	0,134	-0,01	"Negativo"
7	Vacuno	Adulto	0,173	0,02	"Negativo"
8	Vacuno	Adulto	0,111	-0,03	"Negativo"
9	Vacuno	Adulto	0,103	-0,04	"Negativo"
10	Vacuno	Adulto	0,213	0,06	"Negativo"

Controles	Densidad Óptica	Resultado - Lectura
Control (-)	0.148	"Negativo"
Control (+)	1.268	"Negativo"

S.R. : Sero – Reactor.

BVD : Diarrea Viral Bovina

M/P : Cociente de muestra con respecto al control positivo (M/P) para cada muestra.

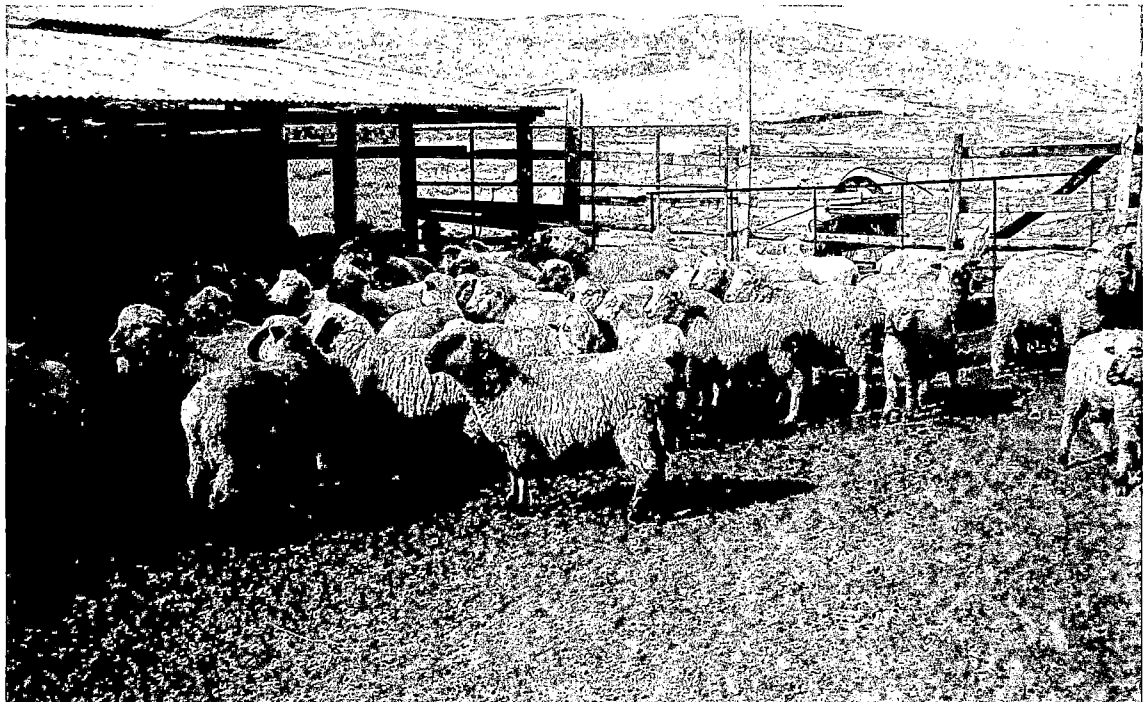
Material y Método empleado: ELISA indirecta, detección de anticuerpos, KIT IDEXX - USA

ANEXO 2

TRABAJO DE LA TOMA DE MUESTRAS



Vacunos Brown Swiss



Ganado ovino seleccionado para la toma de muestras.

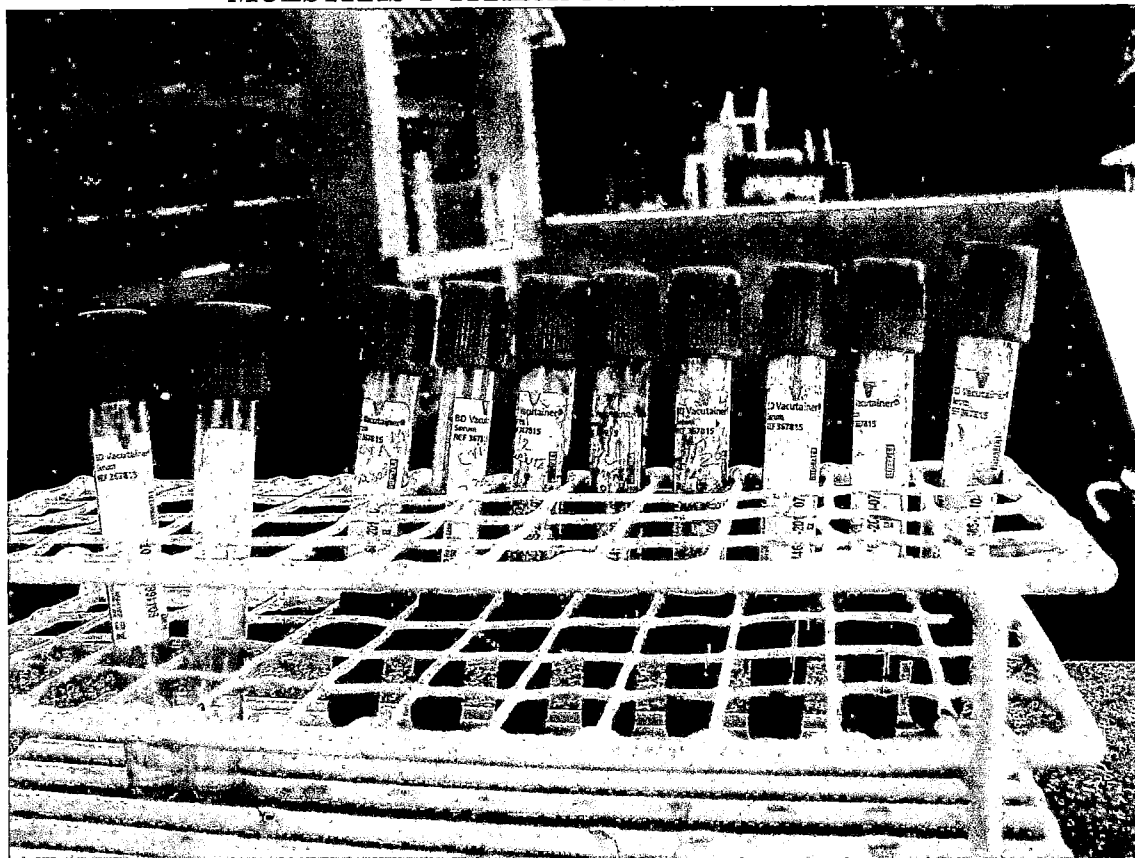


Toma de muestra en ovinos.



Toma de muestra en alpacas.

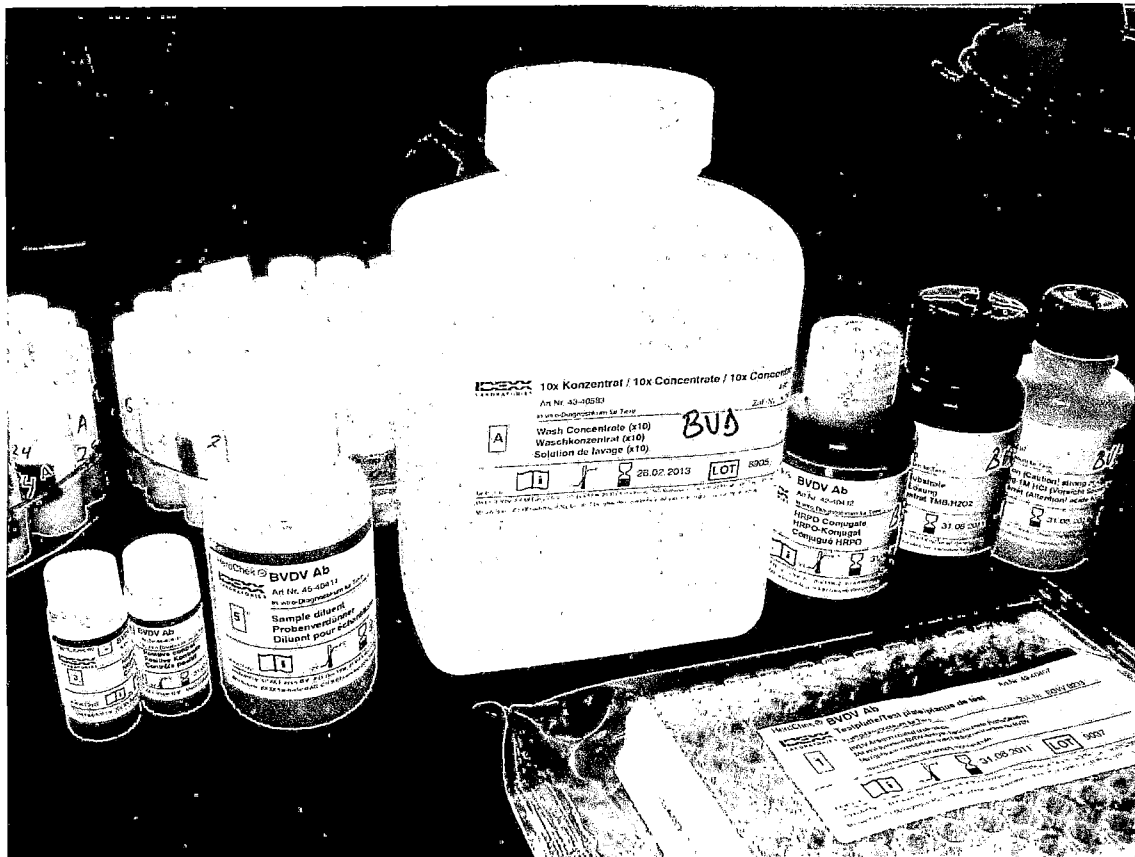
ANEXO 3
MUESTRAS Y TRABAJO EN LABORATORIOS



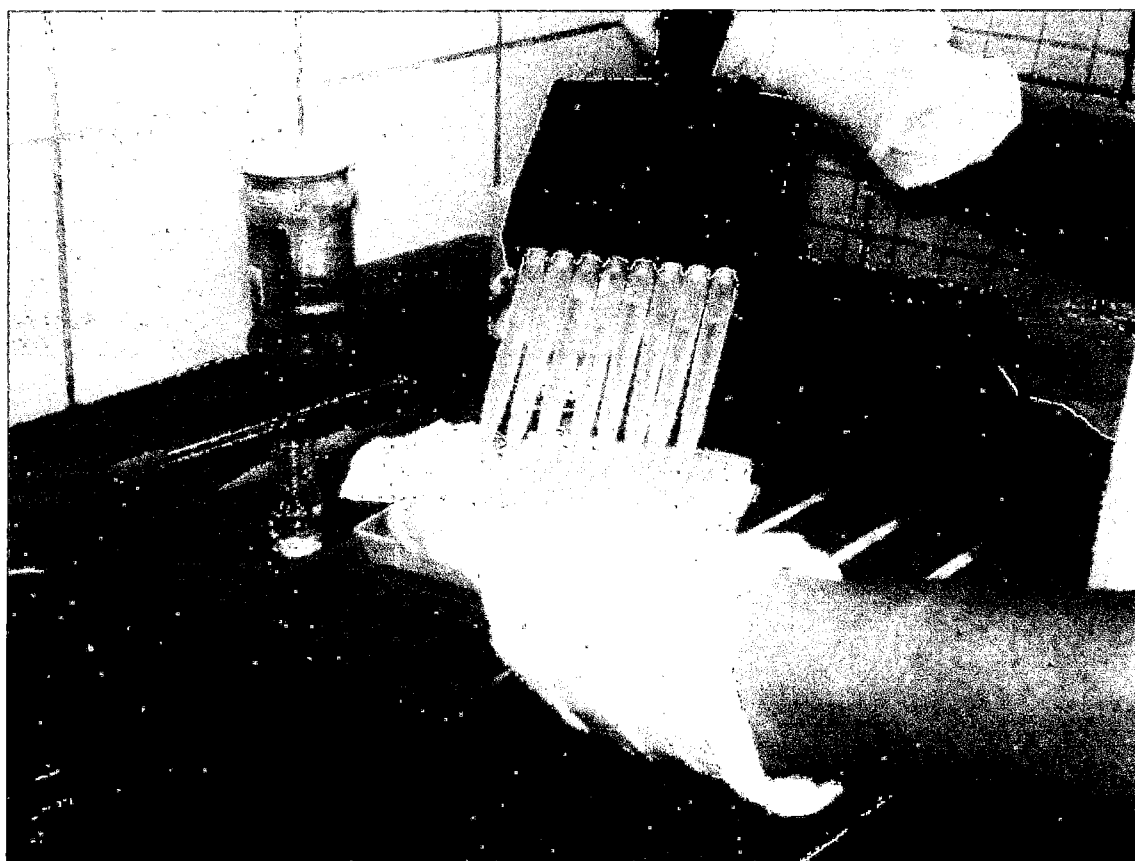
Muestras tomadas de sangre



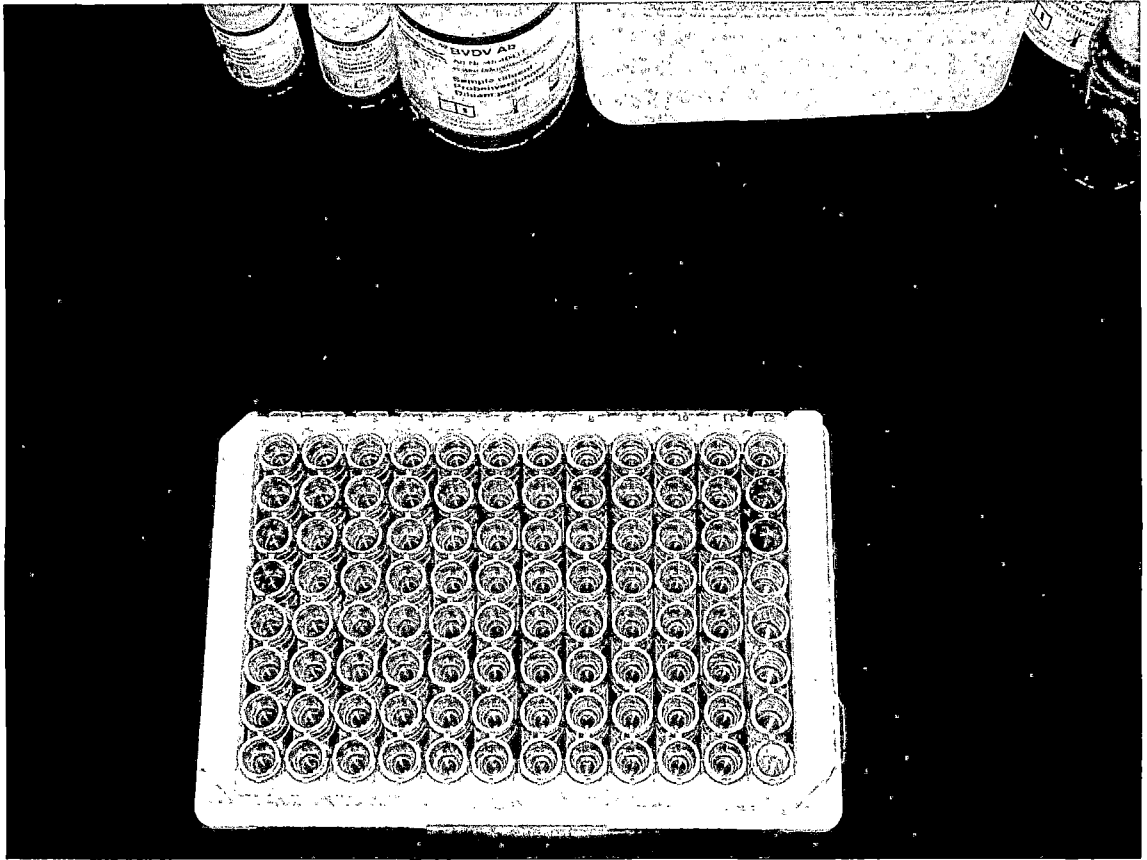
Viales con suero



Reactivos del Kits de ELISA para la detección de anticuerpos



Lavado de la placa



Placas de microtitulación tapizadas con antígenos