

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



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

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. ADEL RENSO CHOQUENAIRA CONDORI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2018

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

TESIS

SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (vDVB)
EN LA RAZA BROWN SWISS DEL DISTRITO DE PAUCARCOLLA

PRESENTADA POR:

Bach. ADEL RENSO CHOQUENAIRA CONDORI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE:



M.Sc. MARIO RUBEN ZAVALA GIBAJA

PRIMER MIEMBRO:



Mg.Sc. JAPHET DEMETRIO ZAPANA PINEDA

SEGUNDO MIEMBRO:



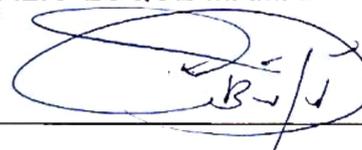
Mg. ELOY AMADOR CONDORI CHUCHI

DIRECTOR:



D.Sc. NATALIO LUQUE MAMANI

ASESOR:



Mg. Sc. DIANNETT BENITO LOPEZ

ÁREA : Salud animal

TEMA : Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 26/11/2018

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida.

Esta tesis está dedicada a mis padres Valeria Condori y Máximo Choquenaira por todo lo que representan y por su apoyo, consejos, comprensión, amor y ayuda en todo momento ya que sin ellos no lograría mis metas.

Con mucho cariño a mis queridos hermanos Celia, yudith, cristian, cristofer, Olger y a mi sobrina jayda luz.

AGRADECIMIENTO

Mi sincero reconocimiento a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, por la calidad de profesionales que forma. Mi especial gratitud y estima personal para: Mg. Sc. Diannett Benito Lopez, D.Sc. Natalio Luque Mamani, M.Sc. Mario R. Zavaleta Gibaja, Mg.Sc. Japhet D. Zapana Pineda y Mg.Sc. Eloy Amador Condori Chuchi.

A mi madrina jaquelin Morales Mamani y Adolfo Apaza Idme y a sus hijos por apoyo en todo momento.

A mi padrino al MVZ. Alfonso Quispe y a su esposa e hijos.

A todos los señores que trabajan en los laboratorios, la biblioteca, decanatura y el centro de cómputo de la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A todos mis tíos(as) en especial al Prof. Leonardo Condori y mis primos que siempre estuvieron presente cuando más los necesitaba.

Al MVZ. Mario Hanco, MVZ. Rómulo Mango, Ing. Oswaldo Huaraya, Ing. Aywen Labra, ing. Esau Quispe, Prof. Vidal Deza y a todos los técnicos del distrito de Checca, por aquellos momentos de apoyo y consejos en el inicio de esta carrera profesional.

Del mismo modo a mis amigos julio Huaylla, Nilton Quispe, Fredi Vargas, Yuri Alvarez, Arcangel Quispe, Mario Gutierrez, Cesar Mamani, Edita Torres, Ludio Santi, Roberto Sancca, Renzo Yucra, Alcides Gil, Jaime Mamani Ch., Jaime Mamani J., Vidal Huanca, Edagar Champi, Macoy, Rasiel Macedo y entre otros, por su total apoyo durante los años que pasamos juntos en nuestra formación profesional, por todas las vivencias y su amistad de toda la vida.

Al Colegio Nacional julio Alberto Ponce Antúnez de Mayolo especialmente a la profesora Carmen por las enseñanzas inculcadas desde la infancia.

INDICE GENERAL

INDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE ACRONIMOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN.	11
1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	12
1.1.1. Objetivo general.....	12
1.1.2. Objetivos específicos	12
II. REVISIÓN DE LITERATURA	13
2.1 Antecedentes del vDVB.	13
2.2 Definición	13
2.3 Agente Etiológico	14
2.3.1 Taxonomía.....	14
2.3.2. Genoma.....	15
2.3.3 Clasificación.....	18
2.3.4 Replicación viral.....	20
2.4. Epidemiología	20
2.4.1 Fuente de la infección.....	20
2.4.2 Métodos de transmisión.	21
2.5 Patogénesis	22
2.5.1 Infección subclínica	23
2.5.2 Infección aguda.	25
2.5.3 Enfermedad de las mucosas.....	26
2.5.4 Síndrome Hemorrágico.....	26
2.5.5 Complejo respiratorio.	27
2.5.6 Trastornos reproductivos.....	27
2.6 Aspectos Inmunológicos.	28
2.7 Diagnostico	29
2.7.1 Aislamiento viral en cultivo celular.....	29

2.7.2 Detección de antígeno virales.....	30
2.7.3 Detección de anticuerpos.....	31
2.7.4 Detección del ácido nucleico viral.....	32
2.8 Control y Prevención.....	33
2.8.1 Vacunas.....	34
2.9 Prevalencia.....	36
2.9.1 Prevalencia a nivel mundial.....	36
2.9.2 A nivel nacional.....	37
2.9.3 A nivel regional.....	39
2.9.4. A nivel distrital.....	40
III.MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1 Lugar de estudio.....	41
3.2 Materiales.....	41
3.2.1 Animales.....	41
3.2.2 Materiales y Equipos.....	42
3.2.3 Reactivos.....	43
3.3 METODO.....	43
3.3.1 Tamaño Muestral.....	43
3.3.2 Obtención de las muestras.....	44
3.3.3 Detección de anticuerpos contra vDVB.....	44
3.3.4 Análisis Serológico.....	45
3.4 Análisis de datos.....	46
IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
4.1. Seroprevalencia general.....	47
4.2. Seroprevalencia según sexo (machos y hembras < de 2 años).....	49
4.3. Seroprevalencia según edad.....	51
4.4. Seroprevalencia según estado reproductivo.....	53
4.5. Seroprevalencia según estado productivo.....	55
V. CONCLUSIONES.....	58
VI.RECOMENDACIONES.....	59
VII.REFERENCIAS.....	60
VIII.ANEXOS.....	66

DE TABLAS

TABLA N° 01: <i>Seroprevalencia en la cuenca lechera de la Provincia de Melgar</i>	39
TABLA N° 02: <i>Distribución de vacas para la prueba serológica de Diarrea Viral Bovina mediante ELISA</i>	41
TABLA N°03: <i>Contenido del Kit ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab)</i>	43
TABLA N° 04: <i>Seroprevalencia general para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss en el distrito de Paucarcolla.</i>	47
TABLA N° 05: <i>Seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss, según sexo (Machos y Hembras < de 2 años) en el distrito de Paucarcolla.</i>	49
TABLA N° 06: <i>Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacunos Brown Swiss para la edad (< de 2 años y > de 2 años).</i>	51
TABLA N° 07: <i>Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (preñadas en producción y vacía sin producción)</i>	53
TABLA N° 08: <i>Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado productivo (vacía en producción y preñada sin producción)</i>	55

ÍNDICE DE ACRONIMOS

Acs	Anticuerpos
ARN	Ácido Ribonucleico
CP	Citopatogénico
DVB	Diarrea viral bovina
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay (Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas)
EM	Enfermedad de las mucosas
Gp	Glicoproteína
IF	Inmuno Florescencia
IHQ	inmunohistoquímica
NCP	No citopatogénico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PI	Persistentemente Infectados
P	Prevalencia
vDVB	Virus de la diarrea viral bovina
VN	Neutralización de virus
VLM	Virus Vivo Modificado
μl	Microlitro
χ^2	Valor de ji-cuadrado
Σ	Sumatoria
θ_i	Frecuencia de valor observado
e_i	Frecuencia de valor esperado

RESUMEN

El presente trabajo de investigación; se llevó a cabo en el distrito de Paucarcolla-Puno a 3,845 msnm; durante los meses de noviembre del 2017 a julio del 2018, con el objetivo: Determinar la seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, considerando las siguientes variables; sexo (machos y hembras < de 2 años), edad (< de 2 años y > de 2 años), estado reproductivo (preñadas en producción y vacías sin producción) y estado productivo (vacías en producción y preñadas sin producción), donde se muestrearon 91 vacunos de la raza Brown swiss. Las muestras se evaluaron en el laboratorio de salud animal con sede en el CIP. Chuquibambilla de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA – Puno, mediante la prueba de ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab) indirecta y los datos fueron procesados por la prueba estadística de Chi-cuadrada, teniendo los siguientes resultados; la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla fue de 60.44 %; según sexo (macho y hembra) fue de 33.33 % y 41.18% respectivamente, no existiendo diferencia estadística ($P \geq 0.05$); para la edad (< de 2 años y > de 2 años) fue de 37.93% y 70.97%, mostrando una diferencia estadística ($P < 0.05$); estado reproductivo (preñadas en producción y en vacías sin producción) fue de 75% y 73.33%, no existiendo diferencia estadística ($P \geq 0.05$) y finalmente el estado productivo (vacías en producción y preñadas sin producción) fue de 75% y 60%, no existiendo diferencia estadística ($P \geq 0.05$). En conclusión, el presente trabajo de investigación demostró la existencia de anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla.

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

ABSTRACT

The present research work; it was carried out in the district of Paucarcolla-Puno at 3,845 meters above sea level; during the months of November 2017 to July 2018, with the objective: Determine the seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea, considering the following variables; sex (males and females < of 2 years), age (< of 2 years and > of 2 years), reproductive status (pregnant in production and empty without production) and productive state (empty in production and pregnant without production), where They sampled 91 cattle of the Brown swiss breed. Samples were evaluated in the animal health laboratory based at CIP. Chuquibambilla of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry UNA - Puno, by means of the indirect ELISA test (IDEXX BVDV p80 Ab) and the data were processed by the Chi-square statistical test, having the following results; the seroprevalence of bovine viral diarrhea virus in the district of Paucarcolla was 60.44%; according to sex (male and female) it was 33.33% and 41.18% respectively, there being no statistical difference ($P \geq 0.05$); for age (< of 2 years and > of 2 years) was 37.93% and 70.97%, showing a statistical difference ($P < 0.05$); reproductive status (pregnant in production and empty production) was 75% and 73.33%, there being no statistical difference ($P \geq 0.05$) and finally the productive state (empty production and pregnant without production) was 75% and 60% , there being no statistical difference ($P \geq 0.05$). In conclusion, the present research work demonstrated the existence of bovine viral diarrhea virus antibodies in the district of Paucarcolla.

Key words: Seroprevalence, Bovine viral diarrhea (DVB), ELISA

I. INTRODUCCIÓN

La crianza de ganado Vacuno es una actividad importante para las familias rurales y centros de producción ganadera en el país, siendo su población de 5´156,000 cabezas aproximadamente. La raza predominante es la criolla, representando el 63,9% del total de la distribución, seguida por la Brown Swiss con 17,6%, la Holstein con 10,3%, Gyr/Cebú con 3,4% y otras razas con 4,8% respectivamente. La población de ganado vacuno se concentra en la Sierra con 3´774,300 cabezas; La región Puno cuenta con 617,163 vacunos, la provincia de Puno tiene 111,899 vacunos y el distrito de Paucarcolla con 10,423 vacunos (INIA, 2012).

El vDVB es un agente etiológico de mayor distribución en la población bovina, principalmente en cuencas lecheras donde alcanza prevalencias mayores al 50%, teniendo como referencia una prevalencia cercana a la zona de estudio donde se observó por Quiñones, (2007) quien mostro 25.35%, 18 positivos de un total de 71 animales, la prevalencia depende del tipo de ganado, densidad poblacional, tipo de manejo, comercio de animales, manejo de pasturas, entre otros (Rivera, 2008) y esta enfermedad se ha asociado a cuadros digestivos, con diarreas y erosiones en cavidad oral, trastornos reproductivos (abortos, alteraciones congénitas e infertilidad) y signos respiratorios. (Hilbe *et al.*, 2007).

El impacto económico de esta enfermedad son las pérdidas productivas, gastos de tratamiento y prevención, sin embargo las pérdidas productivas dependen del tamaño de la población, la magnitud de la infección y el curso de las diferentes manifestaciones de la enfermedad que influyen en la disminución de la producción láctea; en los trastornos reproductivos tenemos, la reducción en la

tasa de la concepción, infecciones fetales causales de abortos, defectos congénitos, retardo en el crecimiento y muerte entre los animales al adquirir la infección en forma aguda, sumándole a esto, la infección de los fetos produciendo terneros persistentemente infectados (PI) donde los animales más jóvenes son más débiles y tienen una mayor susceptibilidad a otras enfermedades y eventualmente pueden morir por la enfermedad de las mucosas (House, 2003) es por eso hay que contribuir a un mejor conocimiento de la epidemiología de esta enfermedad y así mismo estos datos han de ser útiles para tomar medidas adecuadas para el control de esta enfermedad.

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. Objetivo general

- Determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en vacunos de la raza Brown Swiss en el distrito de paucarcolla.

1.1.2. Objetivos específicos

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

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes del vDVB.

Esta enfermedad está distribuida mundialmente y la infección tiene a ser endémica en las poblaciones bovinas; en la mayoría de los países alcanza niveles de 0.5 a 2% en bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovinos seropositivos (Lertora, 2003).

La diarrea viral bovina (DVB) se presentó por primera vez en el año 1946 en Estados Unidos según Olafson *et al.*, (1946), y se caracterizó por la presentación de fiebre alta, depresión, diarrea, deshidratación, anorexia, salivación, descarga nasal, erosiones gastrointestinales, leucopenia y hemorragia en varios tejidos. El agente causal de esta enfermedad fue aislado por Chase, (2004) y se denominó vDVB. Una presentación similar, pero de mayor severidad se observó en Canadá y Estados Unidos, manifestándose con fiebre, anorexia, depresión, salivación profusa, descarga nasal, hemorragias gastrointestinales, erosiones, úlceras, y diarrea profusa a veces sanguinolenta; condición que posteriormente se denominó “enfermedad de las mucosas” (EM) (Ramsey y Chivers, 1953).

Fue introducida en el Perú en la década de los 60 con la importación de vaquillas de un país donde la enfermedad es endémica. Estudios epidemiológicos posteriores demostraron que la DVB se encuentra en la población bovina del país (Rivera, 1993).

2.2 Definición

La Diarrea Víral Bovina (DVB), es una enfermedad de etiología vírica que afecta a los bovinos de todas las edades y que puede cursar con

sintomatología muy variable dependiendo principalmente de las características de la cepa. se ha asociado a cuadros digestivos, con diarreas y erosiones en cavidad oral, trastornos reproductivos (abortos, alteraciones congénitas e infertilidad) y signos respiratorios. (Hilbe *et al.*, 2007).

2.3 Agente Etiológico

2.3.1 Taxonomía

El virus de la diarrea viral bovina (vDVB) pertenece al género Pestivirus y que James y Dubovi, (2011) lo describe como virus RNA de cadena simple, envueltos y esféricos; Los Pestivirus han sido reclasificados desde la familia Togaviridae a la familia Flaviviridae por la quinta reunión del Comité Internacional de Taxonomía Viral (House, 2003). Dentro de este mismo género se encuentra la enfermedad de las fronteras de ovinos y la peste porcina clásica (PPC), los cuales son antigénicamente y genéticamente relacionados (Rondón, 2006).

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

Morfológicamente, es una partícula esférica de 48 - 60 nanómetros (nm) de diámetro, constituido por una nucleocápside icosaedral de 25 a 37 nm de diámetro de naturaleza proteica y una envoltura externa de naturaleza lipídica. En la envoltura se sitúan las tres glicoproteínas, mientras que en la nucleocápside se localiza el ARN y la proteína de la cápside p 14/C (Kobrak y Weber, 1997).

2.3.2. Genoma

La información genética está contenida en una molécula de ARN de cadena simple con polaridad positiva, el genoma está constituido de 12.0 a 12.5 Kilobases (Paton, 1995). El primer evento de la biosíntesis del virus es la traducción del código genérico en una poliproteína que es cortada durante y post traducción de la misma para dar lugar a las diferentes proteínas estructurales y no estructurales del virus (Ridpath, 2005).

2.3.2.1. Proteínas

El primer evento de la biosíntesis del virus es la traducción del código genético en una poliproteína que es corta durante y luego de la traducción de la misma; para dar a las diferentes proteínas estructurales y no estructurales del virus (Donis, 1995). Entre las proteínas más importantes que conforman la estructura de la partícula tenemos:

- Npro/p20: Es la primera proteína no estructural traducida del ORF y cumple la función de autoproteasa, generado del extremo N terminal de la proteína C/p14 Esta proteína no es requerida para la replicación del ARN viral (Ridpath, 2005).
- C/p14: Es la segunda proteína generada y es la más abundante. Constituye la cápside y antígeno del grupo viral. Su función es empaquetar el ARN genómico y proveer las interacciones necesarias donde se anclará la envoltura del virión. Esta proteína no provoca una respuesta de anticuerpos en el ganado (Chase *et al.*, 2004).

- Erns/E0/gp48: Glicoproteína bien conservada que induce altos niveles de anticuerpos, aunque con escasa capacidad neutralizante. Es una ARNasa secretada al espacio extracelular por exocitosis durante la replicación viral (Chase *et al.*, 2004).
- E1/gp25: Es otra glicoproteína de envoltura que se ha encontrado en viriones covalentemente unidos al E2/gp53 por puente disulfuro. Esta proteína no induce una respuesta humoral significativa (Chase *et al.*, 2004).
- E2/gp53: Es la principal glicoproteína y un objetivo antigénico de los anticuerpos. Esta glicoproteína es muy antigénica e induce la producción de anticuerpos neutralizantes luego de una infección o vacunación con vacunas vivas o muertas. Además, está asociada con otras actividades biológicas, incluyendo unión al receptor de la célula y ensamblaje viral (Chase *et al.*, 2004).
- p7: Es una proteína no estructural que parece ser esencial para la producción y ensamblaje de virus infeccioso. Esta proteína no es requerida para la replicación del ARN viral (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS2-3/p125: Es una proteína no estructural altamente conservada entre todos los pestivirus, posee propiedades de helicasa y proteasa, indispensable en la replicación viral; cuenta con dos dominios que actúan por separado, NS2/p54 y NS3/p80, cada uno con distintas propiedades químicas. El ganado infectado o vacunado con virus modificado desarrolla una fuerte respuesta humoral contra este polipéptido; mientras que la vacuna a virus muerto produce una respuesta insignificante. Los anticuerpos

contra NS2-3/p125 producen reacción cruzada entre VDVB, VPPC y VEF (Chase *et al.*, 2004).

- NS2/p54: Es un producto proteolítico de la NS2-3/p125. Esta proteína tiene una actividad de unión en el ARN. Posee un dominio tipo Zincfinger (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS3/p80: Es un producto proteolítico de la NS2-3/p125, determinando el fenotipo del vDVB. Esta proteína tiene actividad de NTPasa en el extremo amino terminal y de helicasa en el extremo carbono terminal. La NS3/p80 es una proteína altamente conservada en el biotipo CP, 2005) y se produce por mutaciones o recombinaciones entre el ARN del VDVB y ARN celular o duplicaciones del ARN viral. La proteína NS3 es un antígeno inmunodominante en las respuestas de anticuerpo en terneros inmunizados (Chase *et al.*, 2004; Goyal y Ridpath, 2005).
- NS4A/p10: Es una proteína no estructural hidrofóbica que participa como un esencial cofactor de la NS2-3/p125 y la serina proteasa NS3/p80 (Goyal y Ridpath, 2005)
- NS4B/p32: Es una proteína no estructural hidrofóbica. Es un importante modulador de la citopatogenicidad de la cepa NADL del VDVB y se encuentra asociado a la producción del NS3/p80 del fenotipo CP. Esta proteína es un componente de la replicasa (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS5A/p58: Es una fosfoproteína serina que está íntimamente asociada con una o más quinasas. También, es un componente de la replicasa (Goyal y Ridpath, 2005).

2.3.3 Clasificación

Teniendo en cuenta la variabilidad genética, y su estrecha relación con otros miembros del género pestivirus, la clasificación del vDVB ha sido difícil y ha ido cambiando a medida que las nuevas investigaciones aportaban nuevos conocimientos sobre el virus y sus variantes. El análisis molecular de ciertas regiones del genoma y la utilización de anticuerpos monoclonales permitió dividir a los vDVB en genotipos. Por el efecto que produce el virus en cultivo celulares se les subdividió en dos biotipos, citopáticos y no citopáticos (Ridpath *et al.*, 2005).

2.3.3.1 Genotipos

Mediante estudios genéticos se han diferenciado dos genotipos dentro del vDVB, los cuales se han denominado genotipo I y II (Ridpath *et al.*, 2005). Las diferencias entre el genoma de ambos genotipos se encuentran en tres zonas hipervariables; dos de las cuales se encuentran en la gp53/E2 (Kobrak y Weber, 1997). En últimos estudios realizados, analizando la región 5 del genoma por RT-PCR, dentro del genotipo I se han diferenciado tres subgenotipos distintos denominados Ia, Ib e Ic (Sanjuan *et al.*, 1999).

El genotipo I incluye las cepas de laboratorio y las vacunales: NADL, SINGER, NY-I, C virus, TGAN y Osloss. El genotipo II está compuesta por las nuevas cepas asociadas con una alta mortalidad, trombocitopenia y hemorragias en USA y Canadá; cepas aisladas de animales con infección persistente nacidas de vacas vacunadas y cepas aisladas de suero fetal como: NY-93, 890, AZSPLN, MS-I; SY-89 y V/FLL (Ridpath *et al.*, 2005).

2.3.3.2 Biotipos

Un aspecto importante de este agente viral es la presencia de dos biotipos en función a su conducta de desarrollo in Vitro (cultivo celular) y a nivel molecular: biotipo citopatogénico (CP) y biotipo no citopatogénico (NCP) (Paton, 1995), el biotipo citopatogénico, causa vacuolización y muerte celular in Vitro. Ambos biotipos producen la misma enfermedad con toda la gama del síndrome de la DVB (Vanroose *et al*, 1998).

El biotipo citopatogénico surge a partir del biotipo no citopatogénico del vDVB, esta diferenciación se da por el procesamiento de la proteína NS23 o p125 presente en el biotipo NCP; el biotipo CP posee además de la proteína p125, la proteína p80, la cual le confiere el fenotipo citopatogénico al virus. Análisis de secuencia miento del genoma muestran que el biotipo CP, puede ser generado por una división proteolítica de un alterado NS23, duplicación genética de NS3, o simple punto de mutación (Kurmmmerer y Meyers, 2000).

El origen del virus CP, a partir del virus NCP del vDVB, explica el gran nivel de similitud antigénica encontrado entre estos dos biotipos del vDVB (CP/NCP); además del origen espontáneo de la enfermedad de las mucosas ante la presencia de ambos biotipos en el mismo animal (Paton, 1995). El biotipo NCP del vDVB es aislado comúnmente de animales con infección aguda y están presentes invariablemente en animales persistentemente infectados (Paton, 1995).

2.3.4 Replicación viral

La replicación comienza con la adhesión y penetración en la célula hospedadora, para parecer que el receptor específico del vDVB es una proteína de superficie de 50KD de las células, por mediación de la E2, el virus ingresa al citoplasma mediante endocitosis mediada y libera su genoma en el citosol, y luego el RNA viral es traducida en el ribosoma en una poliproteína, la misma que es cortada por enzimas de origen viral en polipéptidos que constituyen las proteínas estructurales y no estructurales, y el ensamblaje tiene lugar tanto en el aparato de Golgi como en el retículo endoplásmico donde los viriones adquieren su envoltura lipídica. Cada célula infectada libera de 100 a 1000 viriones que alcanzan el medio extracelular mediante exocitosis y al cabo de 3 horas postinfección puede detectarse polipéptidos víricos en las células infectadas alcanzando un máximo a las 12 a 14 horas postinfección. (SanJuan *et al.*, 1999).

2.4. Epidemiología

2.4.1 Fuente de la infección

La principal fuente de infección del vDVB son los animales PI, cuya eficacia en la transmisión del virus es tal que, en tan solo tres a cuatro meses son capaces de infectar al 90% de los animales con los que conviven (Houe *et al.*, 1999). Los animales PI eliminan grandes cantidades de virus durante toda su vida a través de secreciones y excreciones tales como descarga nasal, saliva, semen, orina, heces, lágrimas y leche (Brock *et al.*, 2000; Sandvik, 1999); siendo la prevalencia de los animales PI de 0.5 – 2 % (Houe, 1995).

Los animales con infección aguda representan también una fuente importante de diseminación viral durante la infección, el virus es usualmente excretado a partir del día 4 al día 10; aunque el virus puede ser excretado durante un periodo mayor (Brownlie, 1991). Si bien, los animales con infección aguda también diseminan el virus por secreciones y excreciones, la cantidad del virus es mucho menor en relación a los animales PI. (Houe, 1995; Kirkland y Macintosh, 1994).

El virus también ha sido aislado de otros rumiantes incluyendo ovinos, caprinos y algunos de vida silvestre y en cautiverio; siendo estas especies, consideradas fuente potencial de transmisión del virus (Houe, 1995).

2.4.2 Métodos de transmisión

2.4.2.1 Transmisión Vertical

La transmisión vertical ocurre de una generación a otra. Se incluye la transmisión al feto a través del semen infectado de toros con infección aguda o persistentemente infectados (PI). Las hembras seronegativas pueden ser inseminadas con semen infectado pudiendo infectarse y en caso de ocurrir la producción de una cría PI, entonces es una transmisión vertical, aunque como ya se mencionó va precedida de una transmisión horizontal. A pesar de la alta mortalidad entre los terneros PI (Houe, 1999), algunos pueden llegar a adultos y reproducirse, entonces los terneros de madres PI son también PI, por lo tanto, se forman líneas familiares de animales PI y puede ocurrir en varias generaciones (Houe, 1995). Además, puede ocurrir transmisión vertical después de la

transferencia de embriones, si la receptora o la hembra donante son PI el vDVB está presente en niveles altos en el medio uterino, por ello antes se puede dar una transmisión horizontal de madre a madre a través de los procedimientos del lavado (Houe, 2003).

2.4.2.2 Transmisión Horizontal

La transmisión horizontal puede ser directa o indirecta. La transmisión directa, ocurre por contacto entre animales susceptibles y animales persistentemente infectados (PI), siendo esta la vía más importante de transmisión de la infección; presumiblemente, la más eficiente es el contacto de nariz a nariz (Travén *et al*, 1991), existe además la posibilidad de transmisión por el aire siendo a poca distancia, aunque esto no está probado experimentalmente.

Al igual que en la transmisión vertical, la principal fuente de infección son los animales PI, aunque también está probado la capacidad de transmitir el vDVB a partir de animales con infección aguda (Houe, 1995).

El semen es una fuente importante de transmisión horizontal para las vacas, esto está asociado con la eliminación del virus a través de este medio (McGowan *et al.*, 1993).

2.5 Patogénesis

La transmisión horizontal del virus es en forma directa, por inhalación de saliva infectada, descarga óculo nasal, vaginal, orina y heces. La transmisión también puede ocurrir a través del semen infectado, de toros con infección

aguda o PI (Vanroose *et al.*, 1998). La transmisión vertical ocurre en cualquier etapa de la gestación; además la transmisión también es posible vía agujas hipodérmicas (Baker, 1995).

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 (SanJuan *et al.*, 1999).

La infección transplacentaria con vDVB es muy frecuente; ya que el virus cruza la placenta con casi 100% de eficiencia. El resultado de la infección del feto dependerá principalmente del periodo de gestación cuando ocurra la infección y del biotipo de la cepa infectante. Los efectos pueden ser muerte embrionaria, fetal, aborto o momificación, malformación congénita, nacimientos de terneros débiles, nacimientos de terneros PI y nacimientos de terneros sanos (Baker, 1995). Los terneros PI son el resultado de la infección del feto entre los 120 a 125 días de edad fetal con una cepa NCP (Vanroose *et al.*, 1998).

Los fetos bovinos son capaces de desarrollar una respuesta inmune contra el virus de la DVB a los 180 días de gestación, aunque para algunos fetos ya es posible una respuesta con anticuerpos entre los 120 y 165 días de gestación. Dicha respuesta inmune en el feto se desarrolla luego de 20 a 30 días post infección (Potgieter, 1995).

2.5.1 Infección subclínica

El 70 al 90% del ganado adulto susceptible puede presentar la DVB subclínico. El periodo de incubación es de 5 a 7 días aproximadamente

luego de lo 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 (Baker, 1987). En general, es raro que el vDVB causa 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 (Obando *et al.*, 2006).

La infección persistente con el vDVB en el ganado bovino resulta de infecciones en útero (Fredriksen *et al.*, 1999; Sandvik, 1999). Las hembras gestantes PI usualmente producen crías PI; teniendo éste las siguientes características: terneros anormales, nacimientos prematuros, retardan el crecimiento y dificultad para la lactación (Bock *et al.*, 2000).

Algunos mueren dentro de los 6 primeros meses de vida, tal vez por el debilitamiento de la respuesta inmune contra la enfermedad. Sin embargo, algunos muestran salud y crecimiento normal. Los animales PI resultan en una inmunotolerancia a los antígenos del virus de la DVB, resultando de esto evidencias de la interacción sinérgica del vDVB con otros agentes patógenos (Chase, 2004).

Los toros infectados en forma aguda o PI, producen semen infectado con el vDVB, como consecuencia de la replicación del virus en la vesícula seminal y glándula prostática (Kirkland y Macintosh, 1994), el cual sirve como medio para la transmisión del virus a vacas susceptibles. La calidad del semen infectado por el vDVB, es caracterizada por el

descrecimiento de la motilidad, incremento de porcentaje de anomalías morfológicas de las células espermáticas. (Baker, 1995).

2.5.2 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 (Baker, 1995). El periodo de incubación es de 5 - 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 monositos. 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 (Vanroose *et al*, 1998).

El vDVB, raramente causa enfermedad en animales menores de 6 meses de edad. Los terneros recién nacidos infectados con vDVB pueden padecer de severas enteritis que son ocasionalmente de curso fatal (Baker, 1995). Experimentalmente se ha demostrado que en terneros que tomaron tarde el calostro, la infección que resultó fue una enfermedad clínica benigna con rápido restablecimiento. Los hatos

susceptibles experimentan diarrea con alta morbilidad, pero con baja o nula mortalidad; la producción lechera también se ve afectada. Generalmente, los anticuerpos neutralizantes son detectados en suero 3 a 4 semanas post infección y persisten probablemente por años. (Vanroose *et al.*, 1998).

2.5.3 Enfermedad de las mucosas

Es una forma esporádica de la infección con el vDVB y usualmente afecta a los animales entre meses y 2 años. La enfermedad de las mucosas, es usualmente de curso fatal y está asociado con súper infección del animal PI con el biotipo NCP, por el biotipo CP del vDVB (Paton, 1995), teniendo como condición, que el biotipo superinfectante CP debe ser antigénicamente homólogo al biotipo NCP presente en el animal. (Vanroose *et al.*, 1998). Estos animales desarrollan profusa diarrea, una rápida pérdida de condición corporal, erosiones a nivel del tracto gastrointestinal, y muerte (Baker, 1995; Bolin *et al.*, 1990).

2.5.4 Síndrome Hemorrágico

En USA Y CANADA, se han reportado como severos, en estos casos se observa diarrea con sangre, epistaxis, congestión en conjuntiva y mucosas, hemorragias petequiales y equimóticas en mucosas, los animales muestran pirexia, leucopenia, linfopenia y neutropenia. Este síndrome ha sido asociado con infecciones por cepas NCP del genotipo II (Ridpath *et al.*, 2001)

2.5.5 Complejo respiratorio

La infección con vDVB en animales inmunocompetentes y seronegativos tiene poca importancia, pero sí como un agente inmunosupresor. El vDVB potencia a otras infecciones virales y bacterianas como: Parainfluenza tipo 3, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Coronavirus, Rotavirus, Pasteurella spp., Salmonella spp., Coccidia, etc.; Produciendo un cuadro de enfermedad respiratoria severa denominado complejo respiratorio bovino, que es uno de los problemas causantes de grandes pérdidas económicas en el mundo. (Fulton *et al.*, 2000)

2.5.6 Trastornos reproductivos

El mayor impacto económico de la infección con el vDVB es el ocasionado por los trastornos reproductivos (Moennig y Liess, 1995).

Se han encontrado antígenos de vDVB en las células del estroma ovárico y en los oocitos en todos los estadios de maduración de los folículos ováricos y una disminución significativa en los niveles de estradiol plasmático acompañado a la infección aguda (Fray *et al.*, 2000). El vDVB en las hembras es el agente causal de ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos produciendo de esta manera una disfunción ovárica (Grooms, 1998).

2.6 Aspectos Inmunológicos

Ambos biotipos del vDVB muestran un amplio tropismo celular y tienen una especial predilección por las células del sistema inmune incluyendo linfocitos B, T y macrófagos (Lértora, 2003).

La respuesta inmune desarrollada luego de la exposición al virus es dirigida contra todas las proteínas estructurales y no estructurales del virus, siendo la proteína E2 la más importante en la inducción de los anticuerpos protectores o neutralizantes (Donis, 1995).

La respuesta inmune celular contra el vDVB no está muy bien delucidada. Estudios realizados indican que de toda la población de células T, las células CD4+, pero no de las células CD8+, son las principales responsables de la inmunidad protectora contra el vDVB (Howard, 1990). Sin embargo, un estudio realizado in vitro describe una respuesta virus específico de las células T CD4+ y CD8+ en animales seropositivos, lo que al parecer refuerza el concepto de que la respuesta antiviral de las células T comprenden células CD8+, capaces de actuar como efectoras contra células infectadas, y las células CD4+, que pueden proporcionar ayuda para la producción de anticuerpos neutralizantes capaces de limitar la diseminación del virus (Rhodes *et al.*, 1999).

La persistencia del vDVB en el ganado es una consecuencia específica de la inmunotolerancia de los linfocitos B y linfocitos T frente al antígeno del vDVB. Los anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes contra el vDVB están ausentes en esos animales PI; pero estos animales son

Inmunocompetentes a otros antígenos incluso a otras cepas del vDVB (Larson y Fossum, 1992).

2.7 Diagnostico

No existen signos clínicos patognomónicos en una infección con el vDVB en el ganado. Por lo tanto, el diagnóstico está basado en las confirmaciones en laboratorio mediante el aislamiento del virus, detección de antígenos virales o detección de ácido nucleico y detección de anticuerpos contra el virus. Los animales PI pueden ser identificados por el uso combinado de pruebas serológicas y pruebas de identificación viral o en muestras de sangre (Duvobi, 2013)

2.7.1 Aislamiento viral en cultivo celular

El aislamiento viral es la prueba estándar y tiene alta especificidad, pero es costoso, muy laborioso, requiere muchos días obtener el resultado y es dependiente de cultivo de células. El aislamiento viral puede realizarse a través de muestra de secreciones y tejidos fetales o sangre entera (Sandvik, 1999).

Es fundamental garantizar que las líneas celulares utilizadas, que pueden ser de riñón, pulmón o cornete nasal de feto bovino, sean libres del vDVB (Bolin, 1990); a su vez el suero fetal bovino utilizado debe ser libre no solo del vDVB, sino también de anticuerpos neutralizantes (Edwards, 1990).

2.7.2 Detección de antígeno virales

2.7.2.1 Inmunoperoxidasa

Es una prueba inmunohistoquímica rápida para detectar antígenos virales en muestras de tejido fresco o fijado en formalina. Esta prueba es: similar a la IF, pero en este caso el anticuerpo monoclonal o policlonal este marcado a una enzima como la peroxidasa. Esta técnica no requiere de microscopio de fluorescencia (Lertora, 2003).

2.7.2.2 Inmunofluorescencia

Es una prueba inmunohistoquímica rápida para detectar antígeno viral en muestras de tejido fresco mediante el uso de anticuerpos monoclonales o policlonales contra el VDVB marcados con fluorocromos (Lértora, 2003).

2.7.2.3 ELISA de captura de antígenos

La prueba de ELISA de captura de antígenos, está basada en la detección de antígenos a través de anticuerpos monoclonales (Mabs). Debido a que los Mabs utilizados Reconocen la p125, debe ser capaz de detectar muchas sino todas, las cepas del vDVB. La rapidez y su independencia de cultivos celulares han hecho de esta prueba una herramienta muy útil para el examen de grandes cantidades de muestras en programas de control. La prueba utiliza dos grupos de anticuerpos monoclonales, los cuales reconocen diferentes epítopes conservados en el polipéptido no estructural 125K/80K del virus, uno de ellos está pegado a los hoyos de la microplaca, los cuales capturan al antígeno viral de las muestras,

el antígeno capturado es detectado por el otro Mabs conjugado con una peroxidasa. La presencia de color seguida de la adición del sustrato de la enzima identifica muestras positivas (Sandvik, 1999).

2.7.3 Detección de anticuerpos

2.7.3.1 Virus neutralización

La prueba de virus neutralización es altamente específica para detectar el VDVB, aceptada mundialmente como referencial para anticuerpos contra el VDVB (Edwards, 1990); 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).

Esta técnica es cualitativa y permite detectar y titular anticuerpos, la titulación de anticuerpos es de gran utilidad, ya que permite evaluar la respuesta inmune luego de una vacunación y además determinar la antigüedad de una exposición de campo. Sin embargo, existen varias condiciones que pueden afectar el resultado de la prueba: el biotipo del virus, línea celular, y medio para el cultivo celular, además de la performance de la prueba (Fredriksen *et al.*, 1999).

2.7.3.2 Inmunoabsorbancia ligada a enzimas (ELISA)

Estas pruebas son muy utilizadas debido a su independencia de cultivos celulares, pueden ser aplicados en muestras de leche, plasma y suero, es factible tener el resultado en pocas horas, y es posible su automatización (Niskanen *et al.*, 1991; Sandvik, 1999).

Los ELISAs pueden ser indirecta o de competición o de bloqueo utilizadas como pruebas tamiz en estudios epidemiológicos y en los programas de erradicación de enfermedades en grandes poblaciones. (Kramps *et al.*, 1999). 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 más anticuerpos 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).

2.7.4 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 (vDVB) (Njaa *et al.*, 2000), 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 de ácido nucleico marcadas, conocidas como sondas, se unen específicamente a las secuencias complementarias del 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. El diagnóstico por PCR del vDVB, se hace sobre órganos homogeneizados (enfermedad aguda) o suero (infección persistente). En el caso de la DVB, el RNA vírico debe ser purificado y transcrito a DNA complementario (cDNA), mediante una enzima transcriptasa reversa (Pellerin *et al.*, 1994; Van Oirschot, 1999)

2.8 Control y Prevención

Un programa de prevención, control o erradicación de una enfermedad puede adoptar distintas estrategias que van a variar de acuerdo a la situación inicial de la explotación, pero apoyadas en tres pilares fundamentales que son: las medidas de bioseguridad, identificación y remoción de los animales PI y vacunación contra vDVB en el hato (Ames y Baker, 1990).

Bioseguridad, la implementación de medidas de bioseguridad está dirigida a evitar el ingreso del vDVB, así como su difusión dentro del hato, a través del control estricto de todos los animales que se incorporan, los cuáles deben ser seronegativos al virus antes y después de la cuarentena estricta, evitar el contacto directo o indirecto con otros hatos, evitar el servicio con semen sin certificación de ser libre de la enfermedad (Lindberg y Alenius. 1999).

Inmunización con vacunas de virus muertos o modificado, con el objetivo de prevenir la infección congénita, así como para evitar las infecciones postnatales (Van Oirschot *et al.*, 1999).

El conocimiento detallado de la epidemiología de la DVB y del comportamiento de las pruebas diagnósticas en uso es esencial para la identificación de animales virémicos (animales PI y animales con infección aguda), que son la fuente más importante de diseminación viral en hatos afectados (Sandvik, 1999).

2.8.1 Vacunas

Las evaluaciones realizadas a las vacunas existentes dieron resultados muy variados, tanto para la infección postnatal como para la infección prenatal (Van Oirschot *et al.*, 1999). Una complicación para el desarrollo de las vacunas contra el vDVB es la diversidad antigénica. La tendencia es identificar la mayor cantidad de variantes antigénica e incluirlos en la vacuna. Existen en el mercado dos tipos de vacuna.

2.8.1.1 Vacuna a virus vivo modificado

La vacuna a virus vivo modificado contra la DVB, está asociada a una gran variedad de efectos adversos tales como la inducción de la enfermedad de las mucosas (MD), infección fetal e inmunosupresión, pueden potenciar infecciones recurrentes, resultando en un incremento en la incidencia de enfermedades respiratorias (Potgieter, 1995).

Existen más de 140 vacunas; autorizadas en USA todas satisfacen requerimientos como pureza, potencia, y seguridad; garantizando

una respuesta inmune libres de agentes extraños. La vacuna a virus vivo modificado (MLV), usualmente contiene un solo biotipo de virus de la DVB citopatogénico. Los biotipos citopáticos usados comúnmente son vDVB, NADL y vDVB- Singer, vDVB-C24V. Las ventajas de uso de una vacuna MLV para controlar la DVB radican en que estas estimulan una rápida respuesta inmune y la protección se establece muy fácilmente dentro de 3 semanas post vacunación, se detecta anticuerpos en suero y ya neutraliza al vDVB. La duración de los anticuerpos en suero post vacunación con MLV, es similar a la provocada por infección natural, permaneciendo en esto en altos niveles por más de un año y persisten por varios años. Sin embargo, en algunos animales los anticuerpos neutralizantes contra el vDVB desaparecen dentro de dos años post vacunación (Balín, 1990). Además de ser menos costosas.

Las desventajas asociadas a MLV, están asociadas al fracaso en la inmunización por falla en el almacenamiento o manipulación lo cual puede provocar una enfermedad postnatal producto de la reactivación de la virulencia del virus; además, existe el riesgo de contaminación de las líneas celulares y suero fetal bovino utilizados en la producción de las vacunas con vDVB cito patogénico. Estas fallas están asociadas con enfermedad de las mucosas y fracasos reproductivos asociados al virus. Las enfermedades de las mucosas ocurren de 1 a 4 semanas post vacunación (Bolin, 1995).

Por ello, la vacuna MLV no es recomendado para hembras preñadas ya que pueden ocasionar aborto.

2.8.1.2 Vacuna Inactivada

La ventaja del uso de este tipo de vacunas está relacionada a las desventajas del uso de las vacunas MLV; sin embargo, la desventaja de este tipo de vacuna inactivada está relacionada con la necesidad de usar 2 dosis de vacuna y esto a su vez retrasa el tiempo necesario para que se establezca una inmunidad protectora. (Bolín. 1990), a su vez, la duración de inmunidad inducida es corta. (Van Oirschot. 1999).

2.9 Prevalencia

2.9.1 Prevalencia a nivel mundial

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 (Lertora, 2003).

Estudios realizados en diferentes países demuestran que la prevalencia del vDVB, se encuentra dentro del 40 - 90% (Kirkland, 1994). En los Estados Unidos de América se evaluaron 3,157 animales de 67 hatos aproximadamente el 50% de los hatos tenían historia de infección por VDVB, mostrando el 1.7% de animales PI y 89% de animales positivo anticuerpos. también en Suecia, evaluaron un total de 711 vaquillonas seleccionadas para inseminación artificial (IA),

mostrando 1.7% animales virémicos; 1.3% animales PI y 41% de animales positivos anticuerpos (Houe, 1995).

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; en un trabajo realizado en el estado de Cojedes, Venezuela determinó para el ganado vacuno adulto infección subclínica del 50 al 90%.

2.9.2 A nivel nacional

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 et al., 2001), también Manrique (2002). Obsevo 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.

Se determinó la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos de las 3 provincias ubicados en el Valle del Mantaro, Junín. Con este propósito se colectaron muestras de leche (228) y sangre (n=65), mediante una prueba de ELISA indirecta y virus neutralización. El 72.4% (165/228) de los animales muestreados presentaron anticuerpos contra el virus en leche. La prevalencia del

vDVB fue mayor en los animales de la provincia de concepción (86.3%), seguido por Jauja (83.3%) y Huancayo (41.3%). Las densidades ópticas corregidas de las muestras fluctuaron entre 0 a 2.4, el vDVB fue detectado en todos los hatos muestreados en rangos de 9.4 a 100%. La alta prevalencia del vDVB en los animales de todos los hatos muestreados confirma la amplia difusión del virus en la población bovina del Valle del Mantaro (contreras *et al.*, 2000).

En un trabajo de investigación en la cuenca lechera del distrito de Moquegua en el año 2014 obtuvo una seroprevalencia general de 29.63% (24/81). En la variable edad de los bovinos menores de 2 años y mayores de 2 años 9.68% (3/31) y 42% (25/50) respectivamente mostrando diferencia estadística ($P \leq 0.01$). el factor sexo fue de 25% (1/4) y 29.87% (23/77) no existiendo diferencia estadística ($P \geq 0.05$). en el factor estado productivo en gestantes fue de 33.33%(11/23) y en vacas vacias 45.45% (4/6) también no existiendo diferencia estadística ($P \geq 0.05$). con respecto a las vacas con antecedentes con aborto las que abortaron tuvieron una seroprevalencia de 66.67% (4/6) y las que no abortaron de 39.53% (17/43) tampoco hubo una diferencia estadística ($P \geq 0.05$). (Suni, 2014).

El trabajo de investigación realizado en Diciembre del 2017 a Febrero del 2018 en la Comunidad de Huisacollana del Distrito de Yauri, Provincia de Espinar – Cusco; observo una seroprevalencia general para vDVB de 58.8%, según estado productivo 58.8% para vacas en secas y 71.2% para vacas en lactación ($P \geq 0.05$), según sexo 50.0% para machos y 60.2% para hembras ($P \geq 0.05$), y según clase animal

27.8%, 66.7%, 57.1%, 68.1% 57.1%, 33.3% y 66.7% para terneras, vaquillas, vaquillonas, vacas, terneros, toretes y toros respectivamente; ($P \geq 0.05$). (Huacasi, B. 2018)

2.9.3 A nivel regional

La seroprevalencia del vDVB en la provincia de Melgar de un total de 337 muestras de suero, muestreados al azar, fue de $47 \pm 0.05\%$ (176/337). También se encontraron animales que presentaban anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en sus distritos de la provincia de Melgar, en rangos de 14 ± 0.19 a 89 ± 0.22 , como se muestra en el siguiente cuadro (Quispe, 2008).

TABLA N° 01: Seroprevalencia en la cuenca lechera de la Provincia de Melgar

DISTRITOS	NUMERO DE MUESTRAS	ANTICUERPOS CONTRA EL vDVB X \pm D.S	
		N°	%
Nuñoa	72	19	26 ± 0.11
Orurillo	56	17	30 ± 0.12
Umachiri	55	29	53 ± 0.12
Ayaviri	47	19	40 ± 0.14
Santa Rosa	44	30	68 ± 0.14
Macari	42	28	67 ± 0.14
Antauta	22	3	14 ± 0.19
Llalli	21	15	71 ± 0.19
Cupi	18	16	89 ± 0.22
TOTAL	377	176	47 ± 0.05

Fuente: Quispe, (2008).

En un trabajo de investigación que se llevó a cabo en el fundo Cauranhuyo del Distrito de Huacullani de la provincia de Chucuito a fin de determinar los anticuerpos virales al virus de la diarrea viral bovina, en el que se evaluaron 92 animales entre jóvenes y adultos; y la condición de gestación (vacías y gestantes). Donde obtuvieron una

prevalencia general de 23.91%, para la variable edad se obtuvo el 12.50% para los animales jóvenes y el 27.94% para los animales adultos; referente a la condición gestación, se obtuvo el 21.74% para los animales gestantes y el 24.64% para las no gestantes (vacía) (Ramos D., 2016).

La seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB), en la estación experimental ILLPA INIA Puno, de suero sanguíneo de un total de 71 vacunos Brown Swiss y criollos. A través de la prueba diagnóstica ELISA indirecta, obteniéndose los siguientes resultados: la seroprevalencia total del virus de la DVB en la estación experimental fue de 25.35 ± 0.05 (71/18), los valores de seroprevalencia según sexo fueron de 14.29% (21/3) en machos y 30% (20/15) en hembras, existiendo diferencia significativa estadística ($P \leq 0.01$). la seroprevalencia del virus DVB según edad fue de 18.42% (38/7) en jóvenes y de 33.33% en adultos, no existiendo diferencia estadística ($P > 0.05$) (Quiñones, 2006).

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).

2.9.4. A nivel distrital

No existen reportes de trabajos de la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio.

El presente estudio se realizó en el distrito de Paucarcolla, región Puno, su capital Paucarcolla a 12.3 Km de la ciudad de Puno. se encuentra ubicado en las coordenadas geográficas de 15°44'46''S y 70°03'31''O, según el INEI, tiene una superficie total de 170,4 672 km² y se encuentra situado en la parte sur del territorio peruano.

Las muestras sangre fueron tomadas en el distrito de Paucarcolla y analizadas el suero sanguíneo en el laboratorio de salud animal con sede en el CIP. Chuquibambilla de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA – Puno y se obtuvieron gracias al apoyo de los productores.

3.2 Materiales

3.2.1 Animales

Bajo la siguiente distribución

TABLA N° 02: *Distribución de vacas para la prueba serológica de Diarrea Viral Bovina mediante ELISA.*

sexo	Hembra		Macho		hembra > a 2 años	
Edad	(<)a 2 años	(<)a 2 años	(>) a 2 años	(>) a 2 años	(>) a 2 años	(>) a 2 años
Estado Reproductivo	Vacía	Reproductor	preñada en producción	Vacía sin producción	vacía en producción	Preñada sin producción
N° de Animales	17	12	16	15	16	15
Sub total	29		62			
Total	91					

Fuente: Elaboración propia

3.2.2 Materiales y Equipos

Materiales

Para el trabajo de recolección de muestras se utilizaron lo siguiente:

- Tubos al vacío (sistema vacutainer)
- Agujas
- Caja de tecnopor
- Viales
- Lapicero y formato para identificar a los animales

Para el trabajo de laboratorio se emplearon los siguientes materiales:

- Micropipetas de precisión de 0-100 y 100-1000 μL .
- Pipetas Pasteur
- Agua tridestilada (agua de inyección)
- Papel de aluminio o adhesivos para cubrir las microplacas
- Papel toalla
- Cronometro
- termómetro

Equipos

- Incubadora
- Refrigeradora
- centrifuga
- Lector de ELISA

3.2.3 Reactivos

El kit IDEXX BVDV p80 Ab es un inmunoensayo (ELISA) para la detección de anticuerpos contra vDVB en suero bovino en muestras individuales

TABLA N°03. *Contenido del Kit ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab)*

Item	Reactivos	Volumen
1	BVDV/MD/BDV p80 protein Coated plate	5 und
2	Positive control	1X 2.0 mL
3	Negative control	1X 2.0 mL
4 ^a	Conjugate concéntrate (100X)	1X 0.75 mL
4 ^b	Dilution Buffer N 1	1X 120 mL
5	Dilution Buffer N 1	1X 120 mL
A	TMB Substrate N 9	1X 60 mL
B	Stop Solution N 3	1X 60 mL
C	Wash Concentrate (20X)	1X 100 mL

Fuente: laboratorio IDEXX Europe B.V.

3.3 METODO

3.3.1 Tamaño Muestral

Se determinó mediante el método de muestreo aleatorio simple, con un nivel de confianza de 95% y un error de precisión de 10% mediante la siguiente fórmula de Thrusfield (Miranda, 1987).

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

Donde:

n = Número de animales (muestra)

Z₂ = Valor de Z al 95 % de confiabilidad

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

$q = \text{Complemento} = 1 - p$

$d_2 = \text{Grado de precisión del muestreo al } 90\%$

Calculando:

$$n = (1.96)^2 (0.39)(0.61) / (0.1)^2 = 91.39 \text{ -----}91 \text{ vacas}$$

3.3.2 Obtención de las muestras

Previo y durante la colección de muestras se registró e identifico a los animales según sexo y categoría a lo que pertenece.

Las muestras fueron colectadas en el mes de noviembre del 2017 por punción venosa (yugular) en tubos al vacío sin anticoagulante a 91 vacunos, aproximadamente de 5 a 8 ml y seguidamente se llevó las muestras a un cuarto facilitado por los productores, donde se centrifugo a 3500 rpm por un lapso de 5 minutos, con el fin de separar el suero sanguíneo, para luego aislarlo en viales de 2ml y finalmente se trasladaron las muestras a una temperatura de 5-8 °C al CIP. Chuquibambilla (laboratorio de salud animal), conservados a -20°C hasta el momento de su análisis.

3.3.3 Detección de anticuerpos contra vDVB.

La detección de los anticuerpos contra el vDVB se realizó mediante la prueba ELISA indirecta y utilizando placas descartables de 98 hoyos, según la técnica descrita por la FAO, (2006) en el laboratorio de salud animal.

3.3.4 Análisis Serológico

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

Fundamento.

Se basa en el antígeno inmovilizado del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) sobre una fase sólida, mediante anticuerpo que directa o indirecta producen una reacción y cuyo producto, es un colorante que es medido por el espectrofotómetro.

Interpretación de resultados.

- ✓ Cálculos de control.

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

- ✓ Criterio de validación.

$$CNx \geq 0.800$$

$$CP: CNx \leq 0.20$$

- ✓ Calculo para muestra.

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

- ✓ Interpretación en muestra de suero

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

3.4 Análisis de datos

a) Estimación de la seroprevalencia

La seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB), se determinó mediante la siguiente fórmula (Thursfield, 1990).

$$P = \frac{\text{numero de positivos}}{\text{total de muestreo}} \times 100$$

b) Método estadístico.

Los datos de los variables en estudio sobre la seroprevalencia a los anticuerpos del vDVB, fueron analizadas a través de la prueba de significancia de ji – cuadrado, considerando el sexo, edad, estado reproductivo y productivo, para lo cual se utilizó la siguiente fórmula.

$$X_c^2 = \sum \frac{(O_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde:

X_c^2 = ji cuadrado

\sum = signo sumatorio

O_i = valor observado

e_i = valor esperado

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Seroprevalencia general

TABLA N° 04: Seroprevalencia general para anticuerpos al vDVB en vacas

Brown Swiss en el distrito de Paucarcolla.

VARIABLE DE ESTUDIO	Nro ANIMALES EVALUADOS	Nro DE CASOS	SEROPREVALENCIA %
SEROPOSITIVOS	91	55	60.44
SERONEGATIVOS	91	36	39.56

Fuente: elaboración propia.

Los resultados obtenidos en el presente estudio se observan en la TABLA N° 04 la seroprevalencia para el virus de la diarrea viral bovina en vacunos de la raza Brown swiss del distrito de Paucarcolla – Puno, observandose el 60.44% que corresponde a 55 animales seropositivos y 39.56% a 36 animales seronegativos.

La alta seroprevalencia del vDVB en Paucarcolla corrobora Lertora, (2003) quien dice que esta enfermedad tiene una distribución mundial donde los animales seropositivos representan de 60 a 80%, también Corrales y Garcia, (2003) hace referencia para Finlandia y Noruega; es más en un trabajo realizado en Venezuela se determinó para el ganado vacuno adulto con una infección subclínica del 50 al 90%. Además, En los Estados Unidos de América se evaluaron 3,157 animales de 67 hatos aproximadamente donde el 50% de los hatos tenían historia de infección por vDVB, mostrando un 89% de animales positivos al anticuerpo de la diarrea viral bovina según Houe, (1995). Por lo cual comparando con los

datos obtenidos y la bibliografía nos indican que estamos dentro del rango de la seroprevalencia obtenidos a nivel mundial.

No obstante, en el Perú, Contreras *et al.*, (2000) en una investigación de detección de anticuerpos contra el vDVB en muestras de leche de bovinos del valle de Mantaro, Jauja, Concepción y Huancayo, señala que el 72.4% presentaron anticuerpos contra vDVB en leche, al igual que Manrique, (2002) en Arequipa reportó 65% de vacas positivas al vDVB, lo que significa que más de la mitad de animales han sido expuestas al virus en algún momento de su vida.

Manrique, (2007) dice que SENASA en 2006 reporta casos en ganado vacuno con la DVB para la región de Puno, en el año 2003 7 casos, en el año 2004 14 casos y para el año 2005 4 casos y Quiñones, (2006) reportó 18 casos en la estación experimental de ILLPA INIA – Puno. Estos datos nos indican que cada año va incrementándose progresivamente los reportes de seroprevalencia hasta este año 2018 que obtuvimos un total 55 animales positivos de 91 animales.

Estos altos casos de seroprevalencia en el distrito de Paucarcolla se pueden atribuir, a que en la zona de estudio existe introducción de ganado vacuno, sin control sanitario, además, no existen sistemas de bioseguridad, ni se realiza vacunaciones contra vDVB según Lindberg y Alenius, (1999). No obstante, este virus está altamente difundido en nuestra región; donde un factor importante para esta diseminación de este virus pudiera ser por la presencia de animales PI, ya que es la principal fuente de infección del vDVB donde puede transmitir en tan solo tres a

cuatro meses y pueden infectar el 90% de los animales con los que conviven según Houe, (1999). También se debe por el uso indiscriminado de las pajillas de toros nacionales e importados en programas de inseminación artificial teniendo desconocimiento de los registros sanitarios (libres de enfermedades virales e infecciosas).

4.2. Seroprevalencia según sexo (machos y hembras < de 2 años)

TABLA N° 05: *Seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss, según sexo (Machos y Hembras < de 2 años) en el distrito de Paucarcolla.*

VARIABLE DE ESTUDIO	Nro ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA vDVB	
		Nro ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENCIA %
Macho	12	4	33.33
Hembra	17	7	41.18
Total	29	11	37.93

Fuente: Elaboración propia (P≥0.05)

En el TABLA N° 05 se muestra la seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacas de la raza Brown Swiss, según sexo (< de 2 años), observándose el 37.93% de seroprevalencia para la variable sexo, donde las hembras son más seropositivos que los machos, datos que al análisis estadístico no son significativos (P≥0.05).

Los datos obtenidos en el presente estudio de 41.18% y 33.33% respectivamente, tienen una similitud a lo encontrado en Melgar – Puno por Quispe, (2008) quien mostro una seroprevalencia de 29.5% en machos y 48.9% para hembras, mientras tanto hubo una gran diferencia

frente a un estudio realizado por Quiñones, (2006) que realizo en la estación experimental ILLPA INIA Puno donde reporto una seroprevalencia de 25% para machos y 29.87% para hembras; Esta diferencia se debe a que en el centro experimental hay mayor bioseguridad (aislamiento de animales enfermos, vacunaciones contra los terneros PI) frente a la zona de estudio.

Los valores superiores en hembras se deben a que la mayoría de las infecciones son sub clínicas o de carácter moderado, pero al momento del muestreo estos animales no presentaban los signos característicos de esta enfermedad como son: la fiebre, descarga nasal, descarga ocular nasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad según Lertora, (2003) es por eso que estos vacunos conviven con la enfermedad ya que el virus de la diarrea viral bovina tiene un efecto inmunosupresor.

las hembras tienen la función de reproducirse, pasando en su vida por cambios fisiológicos y hormonales, es por eso que son más vulnerables y más predispuestas a infectarse por estar en mayor contacto con el agente viral según Quispe, (2008) y además nos dice que el vDVB conlleva a las pérdidas económicas ya sea en las fallas reproductivas y en las crías sobrevivientes a la gestación; encontrando la mayor persistencia del virus al momento de la gestación en fetos hembras que en machos siendo desconocido este mecanismo de sobrevivencia viral hasta el momento según Bolin, (1990) y Ribera, (2008).

Por ende estos resultados nos muestran que los machos son pocos en los hatos por lo que están menos expuestos al agente viral por estar aislados

del rebaño y son vendidos antes de los dos años para evitar la monta natural según McGowan *et al.*, (1993), ya que en el distrito se manejan más los programas de inseminación artificial, sin embargo, los productores tienen un desconocimiento de la procedencia de las pajilas y no saben si estos toros están libres de las enfermedades virales ya que el virus se puede transmitir a través del semen.

4.3. Seroprevalencia según edad

TABLA N° 06: Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacunos Brown Swiss para la edad (< de 2 años y > de 2 años).

VARIABLE DE ESTUDIO	Nro ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA vDVB	
		Nro ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENCIA %
< de 2 Años	29	11	37.93
> de 2 Años	62	44	70.97
Total	91	55	60.44

Fuente: Elaboración propia (P<0.05)

En el TABLA N° 06 se muestran una seroprevalencia al vDVB en animales según edad, observándose que los animales < de 2 años fue de 37.93% y para > de 2 años fue de 70.67%, datos que al análisis estadístico son significativos (P<0.05) para la edad, es decir que el virus puede infectar más a animales > de 2 años, esto se debe a que el animal se infecta con el virus donde genera una buena respuesta inmunitaria (puede convivir con la diarrea viral bovina y con otras enfermedades infecciosas) y con el tiempo baja su sistema de inmunidad, es por eso que pueden repotenciar estas enfermedades y pueden conllevar a la muerte.

En estudios similares en Melgar - Puno, Quispe (2008) reporta una seroprevalencia de 36.6% para animales < de 2 años y 56.6 % para animales > de 2 años, lo cual se asemejan a nuestros resultados. Sin embargo, Quiñones, (2006) muestra una seroprevalencia de 18.42 % para los animales jóvenes (toretos, vaquillas y crías) y 33.33 % para los vacunos adultos (toros y vacas) en la estación experimental ILLPA INIA-Puno. Lo que es menor frente a los resultados encontrados en nuestro estudio, esta diferencia se debe a que en el centro experimental hay mejores programas de bioseguridad, mejor control sanitario de los animales según Lindberg y Alenius, (1999), mas no así en el distrito de Paucarcolla por ende hay mayor infección.

La alta seroprevalencia se debe a que los vacunos se encuentran más hacinados y están bajo una crianza semi intensiva en donde no existe el cuidado adecuado de los mismos y están en permanente estado de estrés (causando infecciones sub clínicas) por esta razón son más susceptibles, debido a que están en mayor tiempo de su vida a contagiarse con este virus ya sea por contacto directo (contacto con animales PI) o indirecto (por inseminación artificial) según Brock *et al.*, (2000).

La baja seroprevalencia en animales < de 2 años, es porque en la mayoría de las infecciones agudas están causadas por los biotipos NCP (se produce una viremia breve durante 7-10 días y la excreción del virus puede detectarse en secreciones nasales y oculares) y generalmente ocurre en animales entre 6 meses y 2 años de edad según Baker, (1995). Es por eso que los vacunos menores se vuelven en animales PI ya que el virus es inofensivo en menores cantidades y además estos biotipos son

inmunosupresores ya que pueden convivir con otras enfermedades, pero también algunos mueren dentro de los primeros 6 meses de vida, tal vez por el debilitamiento de la respuesta inmune contra la enfermedad. Sin embargo, algunos muestran salud y crecimiento normal, incluso llegan a reproducirse formando las llamadas líneas familiares de animales (PI) que puede ocurrir en varias generaciones.

4.4. Seroprevalencia según estado reproductivo

TABLA N° 07: *Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (preñadas en producción y vacía sin producción).*

VARIABLE DE ESTUDIO	Nro ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA vDVB	
		Nro ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENC IA %
Preñada en Produccion	16	12	75
Vacia sin Produccion	15	11	73.33
Total	31	23	74.19

Fuente: Elaboración propia (P≥0.05)

En la TABLA N° 07 se muestra la seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacunos según estado reproductivo, observándose que las vacas preñadas en producción son más positivas frente las vacas vacías sin producción que son menores, los datos que al análisis estadístico no son significativos (P≥0.05).

Los valores encontrados en el presente estudio son superiores a lo encontrado en el Distrito de Huacullani de la provincia de Chucuito por Ramos, (2016) donde reporto una seroprevalencia de 21.74% para los

animales gestantes y 24.64% para las no gestantes (vacía) y en la cuenca lechera del distrito de Moquegua por Suni, (2014) reporta una prevalencia de 33.33% para vacas gestantes y de 45.45% para vacas vacías. Estas diferencias se deben a que, en la zona de estudio, existe una creciente tendencia a usar inseminación artificial para la reproducción del ganado bovino lechero y esto se debe a los continuos proyectos pecuarios ejecutados por la municipalidad distrital de Paucarcolla, como indica Kirkland y Macintosh, (1994) donde el semen es una fuente importante de transmisión horizontal para las vacas y para los fetos según McGowan *et al.*, (1993).

La superioridad de casos positivos en las vacas preñadas en producción se debe a que el virus cruza la placenta casi el 100% en el momento de la gestación según Baker, (1995), es por eso que el resultado de la infección del feto dependerá principalmente del periodo de gestación cuando ocurra la infección y del biotipo de la cepa infectante, donde generalmente habrá muerte embrionaria, aborto o momificación, malformación congénita, nacimientos de terneros débiles, nacimientos de terneros PI y nacimientos de terneros sanos es por eso que las vacas preñadas siguen su curso de gestación no obstante este virus pueda adelantar o retroceder el periodo de parto.

Los valores de seroprevalencia en vacas vacías en seca son menores frente a las vacas preñadas en producción, pero son superiores los casos positivos esto se debe a que el virus de BVD en el útero de una hembra durante la inseminación artificial demostró interrumpir la fertilización. Además, algunos estudios reportan que se han encontrado antígenos del

vDVB en las células del estroma ovárico y en los oocitos en todos los estadios de maduración de los folículos y una disminución significativa en los niveles de estradiol plasmático acompañado a la infección aguda según Fray *et al.*, (2000). Es mas Grooms, (1998) nos indica que el vDVB es el agente causal de ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos produciendo de esta manera una disfunción ovárica en las hembras, es por eso porque las vacas vacías en seca nunca entraran a preñarse.

4.5. Seroprevalencia según estado productivo

TABLA N° 08: Seroprevalencia para anticuerpos del vDVB en vacas Brown

Swiss según estado productivo (vacía en producción y preñada sin producción).

VARIABLE DE ESTUDIO	Nro ANIMALES EVALUADOS	ANTICUERPOS CONTRA vDVB	
		Nro ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREV ALENCIA %
Vacia en Produccion	16	12	75
Preñada sin Produccion	15	9	60
Total	31	21	67.74

Fuente: Elaboración propia (P≥0.05)

En la TABLA N° 08 se muestra la serorevalencia para anticuerpos del vDVB, observándose que las vacas vacías en producción son más positivas que las vacas preñadas sin producción que son menores, de un total de 31 animales evaluados. Los datos al análisis estadístico no son significativos (P≥0.05).

Estudios similares se observaron en espinar por Huacasi, (2018) donde reporto una seroprevalencia según estado productivo de 58.8% para vacas en secas y 71.2% para vacas en lactación, mas no hay reportes en la región de Puno sobre este variable, no obstante, estos reportes son muy altos y es por eso que el mayor impacto económico por la infección del vDVB es ocasionado por los trastornos reproductivos (muerte embrionaria, abortos, malformaciones congénitas) y productivos (nacimiento de terneros débiles y PI) según Moennig y Liess, (1995).

El número de casos positivos de las vacas vacías en producción son más que las vacas preñadas sin producción esto se debe a que en la zona de estudio hay ausencia de prevención, control o erradicación de esta enfermedad ya sea las medidas de bioseguridad, identificación de los animales PI y vacunaciones contra el vDVB en los hatos según Ames y baker, (1990).

Solo algunos ganaderos de producción lechera realizan programas de vacunación, en otros lugares segun Zuniga et al., (2006) mas no así en el distrito de Paucarcolla, es por esta razón que la prevalencia a un persiste para los anticuerpos al vDVB. Es más cuando las infecciones agudas causan ovaritis en las vacas estas se vuelven infértiles (provocan un mayor riesgo de muerte fetal y embrionaria, por lo que los números de concepción y gestación son menores y así también la disminución del rendimiento reproductivo) pero son temporales no obstante en otros animales se pueden volver infértiles para toda su vida reproductiva según Vanroose et al., (1988). La infección con vDVB está muy extendida y provoca pérdidas económicas que a menudo se subestiman porque no

siempre se pueden atribuir de forma clara a esta enfermedad es por eso que los animales infectados de forma persistente son una fuente de pérdidas por sí mismos, estos animales no suelen alcanzar todo su potencial genético y en generalmente presentan una menor ganancia de peso, una mayor sensibilidad a las enfermedades y una disminución de la fertilidad por lo que excretan el virus continuamente durante toda su vida, lo que provoca pérdidas relacionadas con la reproducción en los animales del rebaño que no están inmunizados es por esta razón, los animales PI, deberían identificarse y eliminarse del rebaño para evitar la proliferación de este virus.

V. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia general del virus de la diarrea viral en bovinos (vDVB) para los vacunos de la raza Brown Swiss en el distrito de Paucarcolla fue de 60.44%.
- La seroprevalencia de la diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla, según sexo (> de 2 años) fue de 33.33 % para los machos y de 41.18 % para las hembras.
- La seroprevalencia de la diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla, según edad fue de 37.33 % para los vacunos < a 2 años y 70.67% para los vacunos > a 2 años.
- La seroprevalencia de la diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla, según el estado reproductivo las preñadas en producción fue de 75 % y 73.33% para las vacías sin producción.
- La seroprevalencia de la diarrea viral bovina en el distrito de Paucarcolla, para el estado productivo para vacías en producción fue de 75% y 60 % para las preñadas sin producción.

VI. RECOMENDACIONES

- Establecer un programa de control del virus de la diarrea viral bovina más una vigilancia epidemiológica en los vacunos del distrito de paucarcolla.
- Sensibilizar a los productores de las comunidades para que faciliten a sus animales para estudios serológicos de las principales enfermedades infecciosas.
- No obtener la muestra de sangre de la vena yugular ya que el animal se estresa, obtener de la vena coxígea.
- En el procedimiento del test Kit de ELISA relizar el lavado con 300 μ l de solución lavado por 3 veces manualmente para evitar la pérdida de esta solución
- Utilizar la prueba de ELISA para determinar la seroprevalencia de otras enfermedades relacionadas a las pérdidas económicas que sufren los productores.

VII. REFERENCIAS

- Aguilar, R., A. Benito, Y H. Rivera, (2006). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de lima. *Rev. Inv. Vet. Peru.* 17(2): 148-153.
- Ames, T. Y A. Baker, (1990). Management practices and vaccination program that help control BVD virus infection. In: Symposium on BVD. *Vet Med Get:* 15-24.
- Baker, J. (1995). The Clinical Manifestation of Bovine Viral Diarrhea infection. In BVD virus. *Vet Clin North Am Food Anim Practice* 11(3): 425-445.
- Barrientos, C. (2002). Presencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus de diarrea viral bovina (VDVB) en sueros bovinos de 4 predios de la IX Región. Tesis, Universidad de Temuco- Chile.
- Bolin, S. (1995). The pathogenesis of mucosal disease. In: Bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice* 11 (3): 489-500.
- Bolin S. (1990). Control of bovine virus diarrhoea virus. *Rev Sci Tech* 9 (1): 163-71.
- Brock, K., and C.C. Chase (2000). Development of a fetal challenge method for the evaluation of bovine viral diarrhea virus vaccines. *Veterinary Microbiol* 77(1-2): 209-14.
- Brock, K. V. (1995). Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. *Vet Clin. North. Am Food Anim Practice* 11:549-561.
- Brownlie, J. (1991). The pathways for bovine virus diarrhea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch. Virol* 3:79-96.
- Contreras, O., K. Stahl, C. Arana, H. Rivera, (2000). Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del valle de Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo) *Rey. inv. Perú* 12(2): 167 -122.

- Chase, C., G. Elmowalid, A. Yousif, (2004). The immune response to bovine viral diarrhoea virus: A constantly changing picture. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract.* 20: pág 95–114.
- Corrales J. Y S. García (2003). Epidemiología e Importancia económica de la DVB. *Info. Vet. Ciencias V.FEBOL*, p.p. 1-30.
- DIA- DRA Puno, (2006). Dirección de información Agraria.
- Donis, R. (1995). Molecular Biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. In: *Bovine viral diarrhoea virus. Veterinary Clinics of North America; Food Animal Practice* 11(3): 393-423.
- Edwards S. (1990). The diagnosis of bovine viral diarrhoea-mucosal disease in cattle *Rev Sci Tech Offint Epiz* 9: 115-130.
- Fredriksen, B., T. Sandvik, T. Loken y S.A. Odegaard (1999). Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Record* 144:111-114.
- Fulton, R.W., C. W. Purdy, A.W. Confer, J.T. Sliki, R.W. Loan, R.E. Briggs y L.J. Burge. (2000). Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with *pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Can J Vet Res* 64:151-1-59.
- Goyal, S.M. Y J.F. Ridpath (2005). *Bovine Viral Diarrhoea Virus. Diagnosis, Management, and Control.* Blackwell Publishing – USA, pág. 260.
- Grooms, L. (1998). Role of bovine viral diarrhoea virus in the bovine respiratory disease complex. *Bov. Pract.* 32: 7-12
- Hilbe M., E. Stalder, M. Peterhans, Haessig M. Nussbaumer, C. Egli, Schelp, K Zlinszky and F. Ehrensperger (2007). Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral diarrhoea virus infection in calves. *J Vet Diagn. Invest.* 19:28-34.
- Houe, H., (1999). Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV). *Vet Microbiol*, 64 (2-3): 89-107.

- Houe, H. (1995). Epidemiology of bovine viral diarrhea Virus. *Vet Clin North Am Food Animal Practice* 11(3):521-547.
- Houe, H. (2003). Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 31: 137-143.
- Howard, C. (1990). Immunological responses to bovine viral diarrhea virus Infections. *Rev. Sci. Tech Off Int. Epiz.* 9:95-103.
- Huacasi, B. (2018). Seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y diarrea viral bovina (DVB) en vacunos Brown Swiss de la comunidad de Huisacollana del distrito de Yauri- Espinar - Cusco, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Peru.
- Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). (2005). La investigación en sistemas Extensivos de producción. *Portal veterinaria No 2*, p.p.3-6.
- James, M. y E. Dubovi. (2011). *Fenner's veterinary virology*. 4ta Ed. Academic Press is an imprint of Elsevier. USA.
- Kirkland, P.D., S. Macintosh and Moyle, (1994), the outcome of widespread use of seaman from a bull persistently infected with pestivirus. *Vet. Rec.* 135:527-529.
- Kobrak, A. y E.L. Weber. (1997). Bovine diarrhea virus: and update. *Rev Argent Microbiol* 29(1):47-61
- Kramps J.A., C.Maanen, G.Van de Wetering y G. Stendas. (1999). A simple, rapid and reliable enzyme linked immunosorbent assay for detection of bovine virus diarrhea virus (BVDV) specific antibodies in cattle serum, plasma and bulk milk. *Vet Microbiol* 64:135-144.
- Kummerer, B., y G. Meyers. (2000). Correlation between point mutations in NS2 and viability and citopathogenicity of bovine viral diarrhea virus strain Oregon analyzed with an infectious Cdna CLONE. *J. Virol* 74:390400.
- Larsson, B. And. C. Fossum. (1992). Bovine virus diarrhea virus induces in viro o proliferative response of peripheral blood mononuclear cells from cattle immunized by infection. *Vet Microbiol* 31:317-325.

- 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.
- Lértora, W. (2003). Diarrea Viral Bovina: Actualización. Rev. Vet. 14:1, 42-51 456 p.p
- Lindberg, A. Y A. Alenius. (1999). Principles for eradication of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) infection in cattle populations. Vet Microbiol 64: 197-222.
- Niskaenen, R., S. Alenius; B. Larson; S. Jacombsson. (1991). Determination of level of antibodies to bovine viral diarrhea virus in bulk tank milk as a tool on the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections in dairy herds. Arch Virol Suppl 3: 245-251.
- Njaa. B.; E. Clarck; E. Jansen; J. Ellis; D. Haines. (2000). Diagnosis of Persistent Bovine Viral Diarrhea Virus infection of Immunohistochemical Staining of Formalin – Fixed Skin Biopsy Specimens. J. Vet Diagn Invest 12:393-399.
- Mcgowan, M.R., P.D. Kirkland, B.J. Rodwell, D.R. Kerr, Y C.L. Carroll (1993). A field investigation of the effects of bovine viral diarrhea virus around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. Theriogenology 39: pág. 443–449.
- Manrique G., (2002). Aborto viral. Medicina A de la Producción. LABVETSUR Año 1 No 1, Julio 2002.
- Manrique G. (2007). Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis bovina por zonas zoológicas de la Región Arequipa. Revista Medicina A de la Poducción, LABVETSUR.
- Moennig, V. y V. Liess, (1995). Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. Vet Clin. North Am. Food Anim. Pract., 11: 477-487

- Morales, S., A. Benito, H. Rivera. (2001). Terneros persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. *Rev. Acad. Peru. Cienc. Vet.* 3: 8-13.
- Obando C., D. Ocanto, M. Hidalgo, J. Rodriguez, Y R. Durán, (2006). Efecto de la infección con los virus de Rinotraqueitis infecciosa bovina y Diarrea viral sobre la reproducción en bovinos no vacunados. *Vet. CENIAP-INIA.*
- Olafson, P., A.D. Mac Callum y A. Fox. (1946). An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet.*, 36: 205-213
- Paton, D.J. (1995). Pestivirus diversity. *J comp. Path.* 112:215-236.
- Pellerin C., J. Vandenhurk; J. Lecomte and P. Tijssen. (1994). Identification of outbreaks and highs mortalities. *J. Virol* 203:260-268
- Potgieter, L. (1995). Immunology of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Animal Practice.* 11(3):501-520.
- Quiñones, j. (2006). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (DVB), en la estación experimental ILLPA INIA Puno, tesis para optar el título de médico veterinario y zootecnista UNA –Puno, Peru.
- Quispe, R. (2008). Prevalencia de diarrea viral bovina en la provincia de Melgar-Puno. Tesis Med. Vet.- UNA, Puno.
- Ramos, D. (2016). Seroprevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina en el distrito de Huacullani – Puno. Tesis Med. Vet.- UNA, Puno.
- Ramsey, F.K., and W.H. Chivers, (1953). Mucosal disease of cattle. *North am Vet* 34: 629-634
- Rhoedes, S., J.M. Cocksedge; A. Collins y W.I. Morrison. (1999). Differential cytokine responses of CD4+ANDCD8+Tcells in response to bovine viral diarrhea virus in cattle. *J. Gen. Virol* 80:1673-1679.
- Ridpath, J.F., J.D. Nelly, M. Frey y J.G. Landgraf (2001). Phylogenetic, antigenic and clinical characterization of type 2 bvdv from North America. *Vet Microbiol.* 77:145-155.

- Ridpath, J. (2005). BVDV genotypes and biotibes: practical implications for diagnosis and control. *Biologicals* 31:127-131.
- Rivera, H. (1993). el virus de la diarrea viral bovina (DVB). *investigaciones pecuarias, enero-julio, vol. 06 N°1*. Lima. Perú.
- Rivera, H. (2008). Evaluacion del conocimiento sobre la enfermedad de la diarrea VIRAL bovina y su agente etiológico. *Rev. Inv. Vet. Peru* 19(1): 93-112.
- Rondón, I. (2006). diarrea viral bovina: patogénesis e Inmunología. *Rev. MVZ Cordoba*. 11(1): 694-704
- Sandvik, T. (1999). Laboratoy diagnostic investigations for bovine viral diarrheavirus infections in cattle. *Vet Microbiol*. 64:123-134.
- Sanjuan M.I., C. García y J. Corrales. (1999). Etiopatogenia de la diarrea viral bovina: aspectos de interés. En: E. Yus y M.L. Sanjuán. Eds. *Diarrea virica bovina: Consejo General de Medicos Veterinarios de España*. 24:9-24.
- Suni, L. (2014). Seroprevalencia de la diarrea viral bovina en la Cuenca lechera del distrito de Moquehua. *Tesis Med. Vet.- UNA, Puno*.
- Travén, M., S. Alenius, C. Fossum, Y B. Larsson. (1991). Primary bovine viral diarrheavirus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. *J. Vet. Med*. 38:435-462.
- Williams D.J., Y H.C. Davison, (1999). Evaluation of a commercial ELISA for detecting seruni, antibody to Neospore caninum in cattle. *Vet. Rec*; 154:571 - 575
- Van Oirschot, J.T., C.J. Bruschkne y P.A. Van Rijn (1999). Vaccination of cattle against bovine viral diarrheavirus. *Vet Microbiol* 64:169-183.
- Vanroose, G., H. Nauwinck; A. Soom; E. Vanopdenbosch; A. de Kruif (1998). Replication of Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viral Diarrheavirus in zone – Free and Zone – Intact in Vitro – Produced Bovine Embryos and the Effect on Embryo Quality, *Biology of reproduction*. 58:857-866

ANEXOS

ECUACION A1***Preparación de reactivos***➤ ***Solución lavado***

91 Muestras X 30 μ l X 3 veces X 2 repeticiones = 163,800 μ l solución lavado
170,000 redondeando

1:20 = 170,000 / 20 = 8500 μ l Bufer lavado

➔ 170,000 – 8500 = 161,500 μ l de H₂O₂

➤ ***Conjugado***

91 muestras X 100 μ l = 9100 1: 100

9100 redondeando μ l solución conjugado

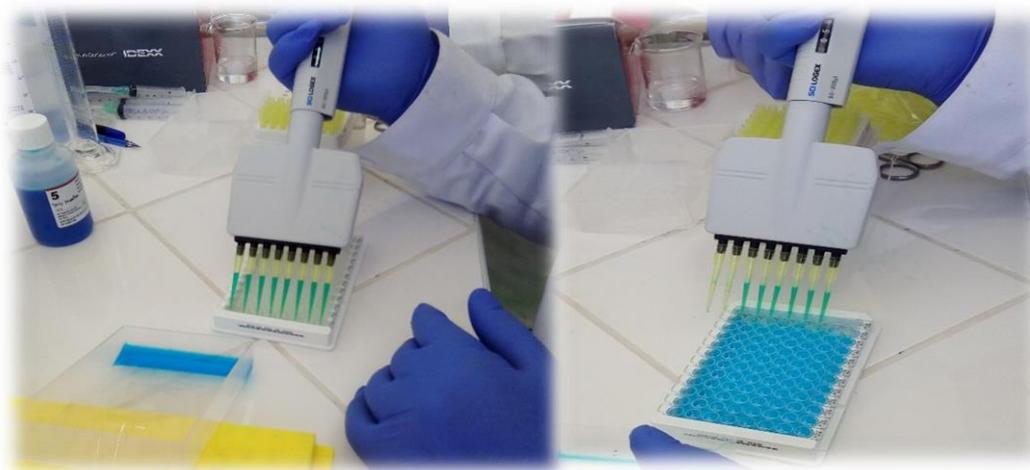
9100 / 100 = 91 μ l [] conjugado

9100 – 85 = 9009 μ l dilutor conjugado

ECUACION A2***Procedimiento del test de Elisa (kit IDEXX BVDV p80 Ab)***

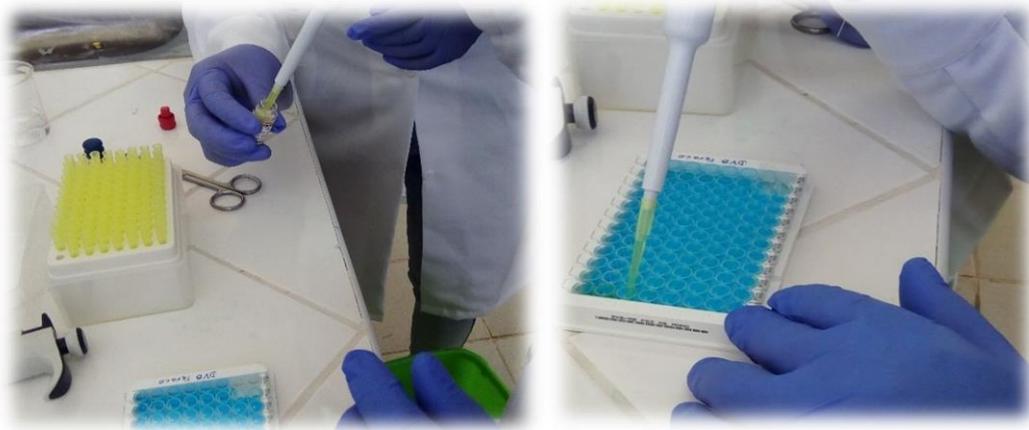
El KIT, reactivos y sueros todos alcanzan la temperatura ambiente de 18 a 25°C.
Antes de su uso.

a) Dispensar 50ml de solución tampón a cada pasillo o a los 81 pasillos.

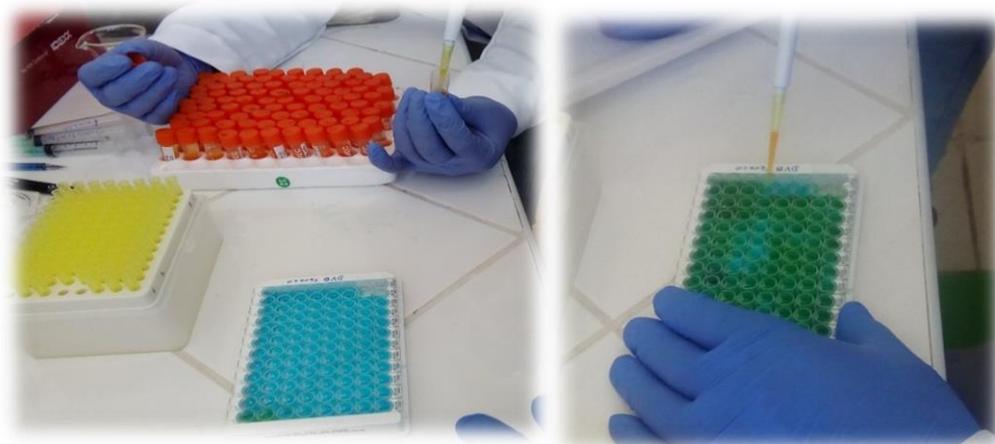


b) Dispensar 50ml de control negativo.

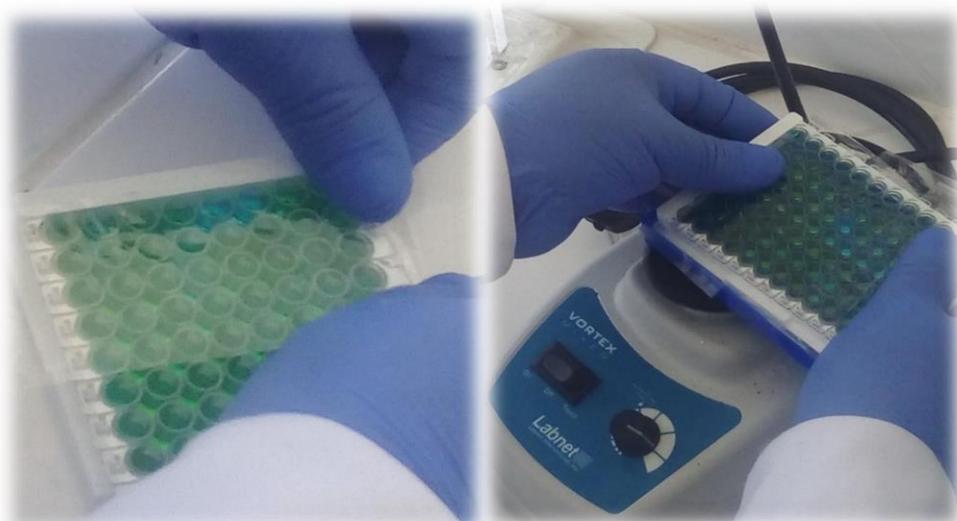
c) Dispensar 50 ml de control positivo.



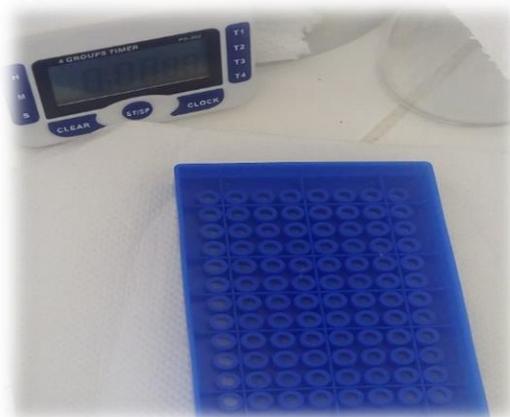
d) Dispensar 50ml de cada muestra problema a cada pasillo individual = 91 muestras.



e) Se procedió a mezclarlo o homogenizarlo el contenido de los pasillos.

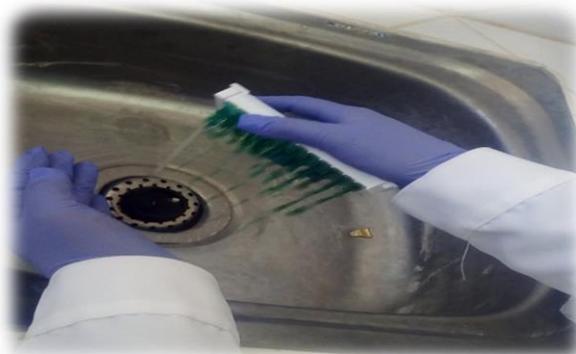


- f) Se incubo durante $1\text{hr} \pm 5$ minutos. A temperatura ambiente ($18 - 26\text{C}^\circ$) previamente tapado con una cinta para evitar la evaporación.

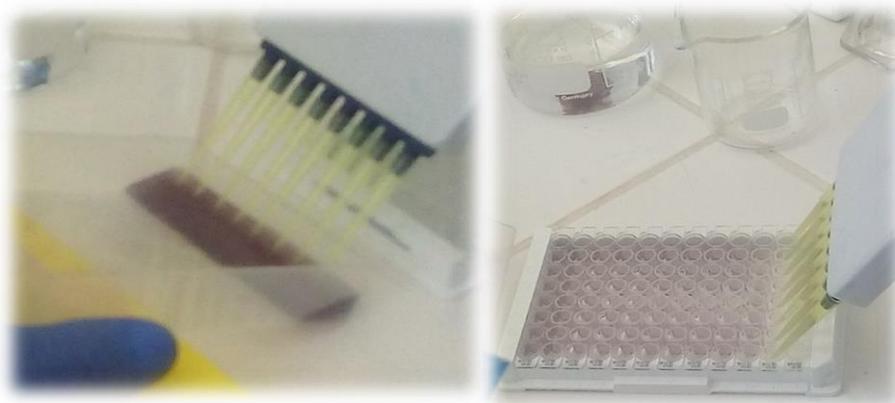


- g) Se procedió a eliminar el contenido de cada pasillo.

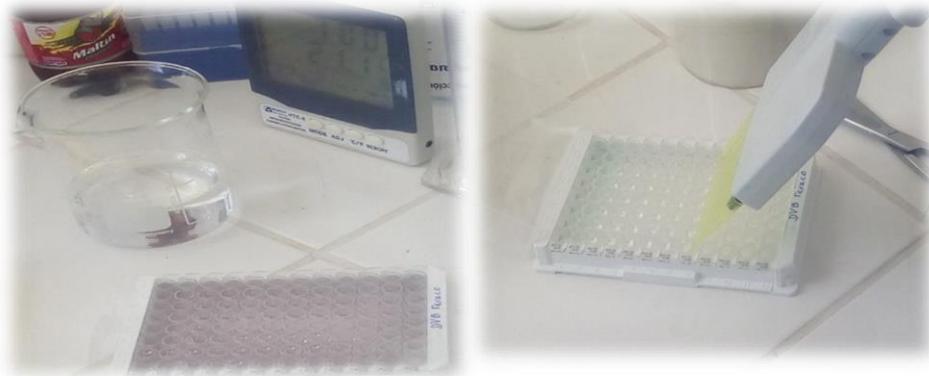
- h) Se lavó cada pasillo con $300\ \mu\text{L}$ de solución lavado por 3 veces.



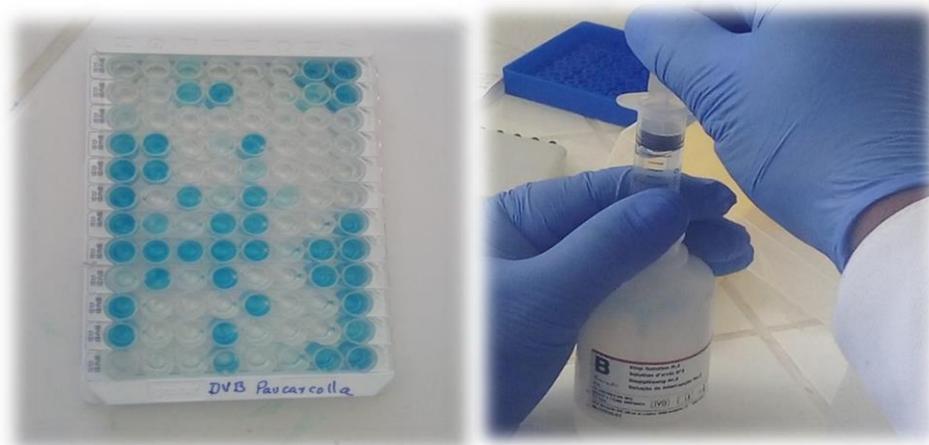
- i) Posteriormente se dispenseo $100\ \mu\text{L}$ de conjugado en cada pocillo y se homogeniza.



- j) Seguidamente se procedió a incubar por un lapso de 30 minutos a temperatura ambiente siempre cubierto de una cinta para que no se evapore.
- k) Se repite los pasos h y i.
- l) Luego se procedió a dispensar 100 μ L de solución TMB (sustrato) en cada pasillo y homogenizar.



- m) Se incubo por 10 minutos a temperatura ambiente siempre cubierto con cinta o un objeto encima.
- n) Luego se dispenseo 100 μ L de stop en cada pasillo para frenar la reacción.



- o) Posteriormente se calibro la lectora de Elisa a 450nm de longitud de onda.
- p) Se procedió a imprimir los resultados.
- q) Se calculó los resultados.

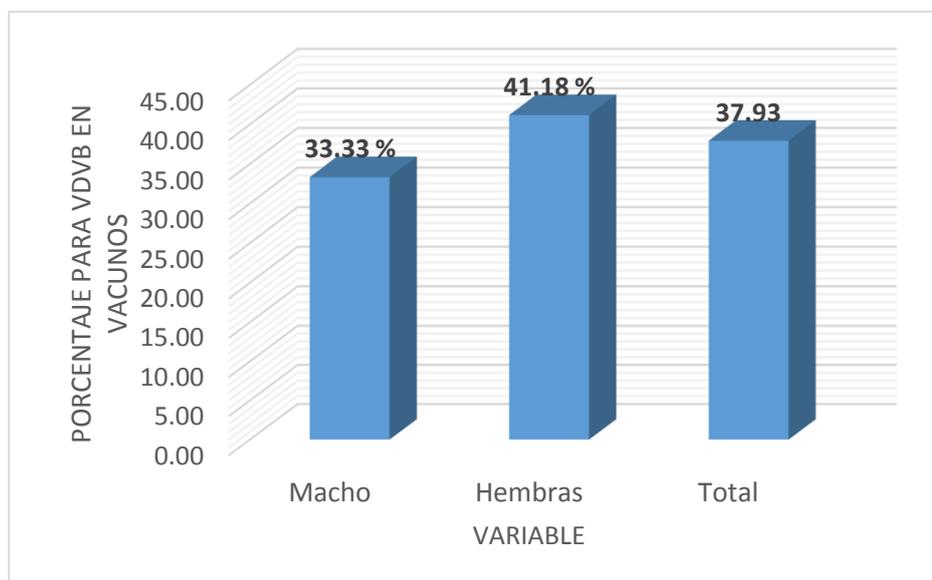
ECUACION A3. Ji cuadrada en vacunos Brown Swiss según sexo

			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Sexo	Macho	Recuento	8	4	12
		Recuento esperado	7.4	4.6	12.0
	Hembra	Recuento	10	7	17
		Recuento esperado	10.6	6.4	17.0
Total	Recuento		18	11	29
	Recuento esperado		18.0	11.0	29.0

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	.184a	1	.668
Corrección de continuidad ^b	.002	1	.968
Razón de verosimilitud	.185	1	.667
Prueba exacta de Fisher			
Asociación lineal por lineal	.177	1	.674
N de casos válidos	29		

*No significativo



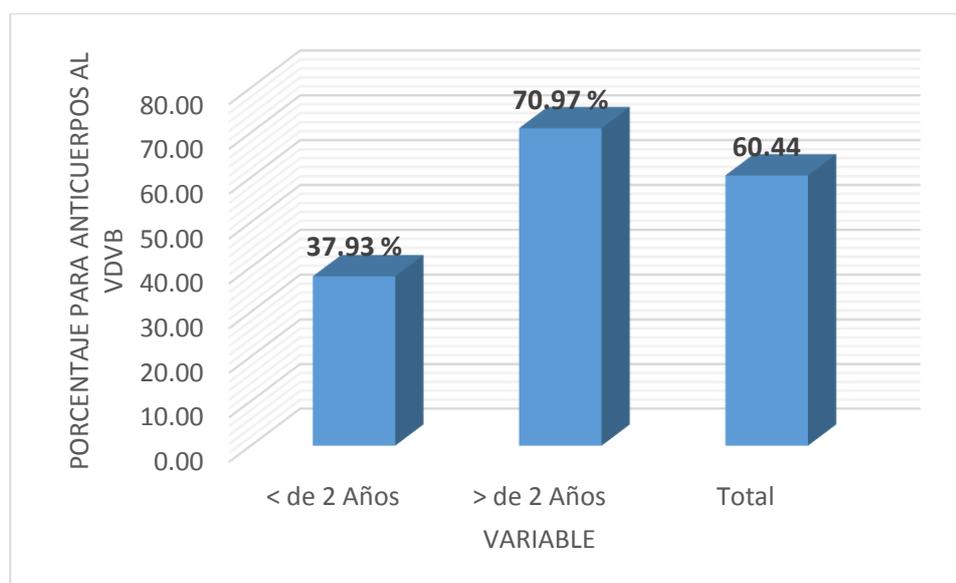
ECUACION A4. Ji cuadrada en vacunos Brown Swiss según edad

			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Edad	Joven	Recuento	18	11	29
		Recuento esperado	11.5	17.5	29.0
	Adulto	Recuento	18	44	62
		Recuento esperado	24.5	37.5	62.0
Total		Recuento	36	55	91
		Recuento esperado	36.0	55.0	91.0

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	9,019a	1	.003
Corrección de continuidad ^b	7.690	1	.006
Razón de verosimilitud	8.958	1	.003
Prueba exacta de Fisher			
Asociación lineal por lineal	8.920	1	.003
N de casos válidos	91		

*significativo



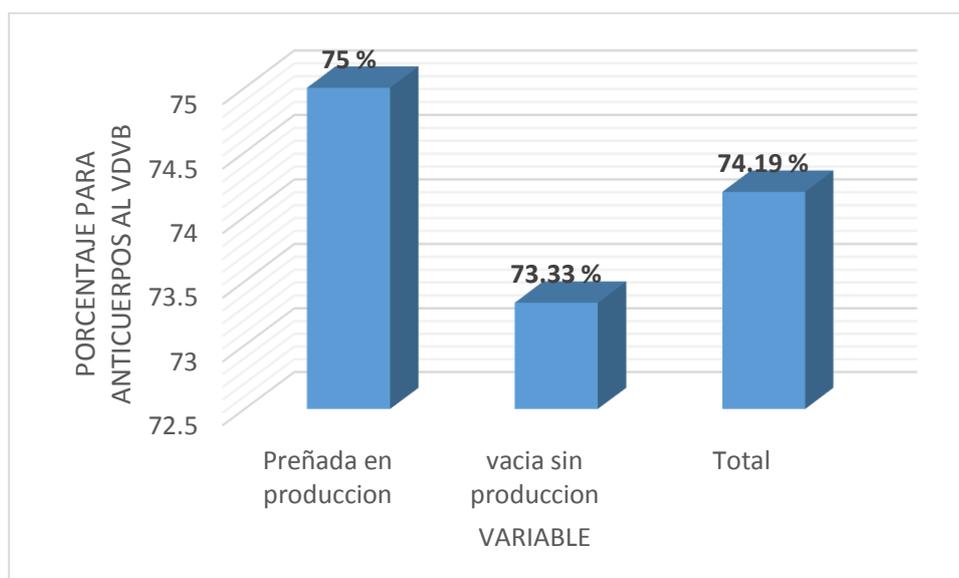
ECUACION A5. Ji cuadrada en vacunos Brown Swiss según estado reproductivo

			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Estado reproductivo	preñada seca	Recuento	6	9	15
		Recuento esperado	4.8	10.2	15.0
	Preñada producción	Recuento	4	12	16
		Recuento esperado	5.2	10.8	16.0
Total		Recuento	10	21	31
		Recuento esperado	10.0	21.0	31.0

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	.797a	1	.372
Corrección de continuidadb	.258	1	.611
Razón de verosimilitud	.800	1	.371
Prueba exacta de Fisher			
Asociación lineal por lineal	.771	1	.380
N de casos válidos	31		

*No significativo



ECUACION A6. Ji cuadrada en vacunos Brown Swiss según estado productivo

			Seroprevalencia		Total
			Negativo	Positivo	
Estado productivo	VP	Recuento	4	12	16
		Recuento esperado	4.1	11.9	16.0
	VS	Recuento	4	11	15
		Recuento esperado	3.9	11.1	15.0
Total		Recuento	8	23	31
		Recuento esperado	8.0	23.0	31.0

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	.011a	1	.916
Corrección de continuidad ^b	0.000	1	1.000
Razón de verosimilitud	.011	1	.916
Prueba exacta de Fisher			
Asociación lineal por lineal	.011	1	.917
N de casos válidos	31		

*No significativo

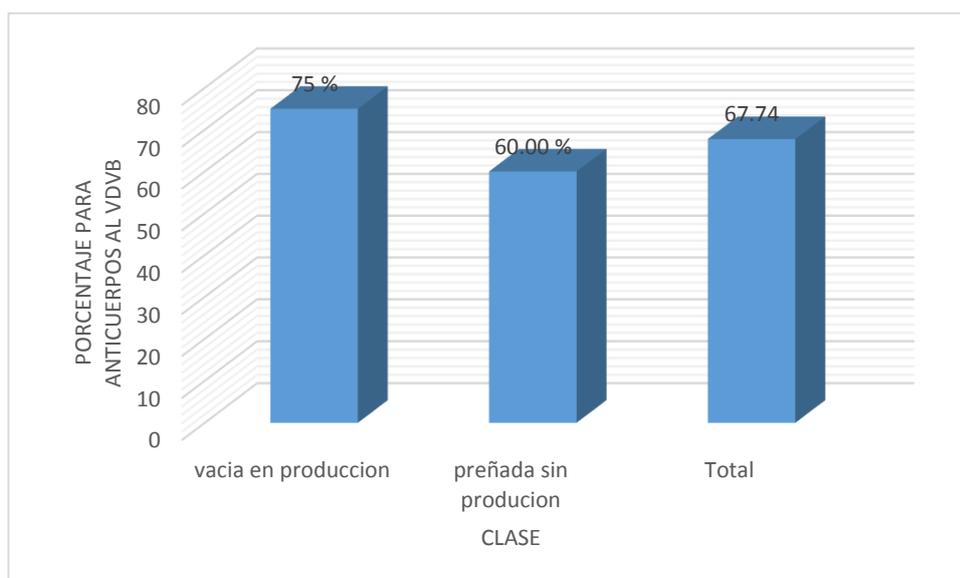


TABLA A1. Resultados obtenidos de la prueba de ELISA Indirecta para el vDVB, realizados en el laboratorio de salud animal en el CIP Chuquibambilla, del distrito de Paucarcolla – Puno.

RESULTADOS DE DVB - PAUCARCOLLA -CHOQUENAIRA RENZO

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.267	2.253	0.290	0.208	0.242	0.273	2.283	2.131	2.165	2.325	1.495	2.104
B	2.225	1.031	0.272	0.298	0.296	0.268	0.299	2.268	2.138	0.289	0.262	2.121
C	0.248	0.304	0.330	0.255	0.252	0.661	0.283	0.414	0.245	0.275	0.264	0.400
D	0.248	0.271	0.271	2.246	0.678	1.909	1.872	2.240	0.258	2.141	0.286	0.269
E	0.242	2.181	0.295	0.414	0.278	0.487	1.920	2.240	2.501	0.265	2.310	1.612
F	0.700	1.373	0.277	0.280	0.282	1.757	0.415	2.237	0.373	0.281	0.278	0.291
G	0.268	0.340	0.302	2.194	2.135	0.272	1.109	2.231	2.177	0.294	0.274	0.271
H	0.339	0.260	1.890	1.890	2.222	2.352	2.286	2.161	0.427	2.203	2.340	0.233

TABLA A2. Resultados obtenidos de la prueba de ELISA Indirecta para el vDVB en porcentaje y usando la fórmula de interpretación del Kit de ELISA, del distrito de Paucarcolla – Puno.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	100.9	100.3	12.91	9.26	10.77	12.15	101.6	94.88	96.39	103.52	66.56	93.68
B	99.07	45.90	12.11	13.27	13.18	11.93	13.31	101.0	95.19	12.87	11.67	94.43
C	11.04	13.54	14.69	11.35	11.22	29.43	12.60	18.43	10.91	12.24	11.75	17.81
D	11.04	12.07	12.07	100.0	30.19	85.00	83.35	99.73	11.49	95.33	12.73	11.98
E	10.77	97.11	13.13	18.43	12.38	21.68	85.49	99.73	111.4	11.80	102.8	71.77
F	31.17	61.13	12.33	12.47	12.56	78.23	18.48	99.60	16.61	12.51	12.38	12.96
G	11.93	15.14	13.45	97.68	95.06	12.11	49.38	99.33	96.93	13.09	12.20	12.07
H	15.09	11.58	84.15	84.15	98.93	104.7	101.8	96.22	19.01	98.09	104.2	10.37

TABLA A3. Resultados de la prueba de ELISA para la variable sexo (machos y hembras en el distrito de Paucarcolla – Puno.

N°	PRODUCTOR	NOMBRE DE LA VACA	CLASE	RESULTADO
5	ANTONIA NAIRA VILCA	GONZALO	MACHO	NEGATIVO
6	ANTONIA NAIRA VILCA	ARON	MACHO	DUDOSO
7	ANTONIA NAIRA VILCA	VIQUI	HEMBRA	POSITIVO
9	ANTONIA NAIRA VILCA	LUCY	HEMBRA	NEGATIVO
12	ASUNTINA ROQUE QUISPE	NINA	HEMBRA	POSITIVO
15	FELICITAS LOPEZ ROQUE	ROSALINDA	HEMBRA	POSITIVO
17	FELICITAS LOPEZ ROQUE	PEPE	MACHO	POSITIVO
20	GABRIEL CHOQUE NUÑEZ	LOLA	HEMBRA	NEGATIVO
24	PEDRO CHOQUE VILCA	ROQUI	MACHO	NEGATIVO
25	ANDRES LOPES QUISPE	CHICO	MACHO	POSITIVO
27	ANDRES LOPES QUISPE	PALOMA	HEMBRA	NEGATIVO
28	FELICITAS NAIRA VILCA	SULMA	HEMBRA	NEGATIVO
32	JOSE NAIRA VILCA	YUNPIO	MACHO	POSITIVO
33	JOSE NAIRA VILCA	YANDI	HEMBRA	POSITIVO
35	MARIA PAREDES NEIRA	ANALI	HEMBRA	NEGATIVO
36	MARIA PAREDES NEIRA	CHAVO	MACHO	NEGATIVO
40	MARIA PAREDES NEIRA	PATRIC	MACHO	NEGATIVO
42	MARIA PAREDES NEIRA	PEPE	MACHO	NEGATIVO
44	JOSEFINA GONSALES PAREDES	MARY	HEMBRA	NEGATIVO
46	JOSEFINA GONSALES PAREDES	CHERY	HEMBRA	POSITIVO
48	JOSEFINA GONSALES PAREDES	BETY	HEMBRA	NEGATIVO
49	VALERIA YUCRA COILA	MARISOL	HEMBRA	NEGATIVO
51	VALERIA YUCRA COILA	KATY	HEMBRA	DUDOSO
54	VALERIA YUCRA COILA	JULIO	MACHO	NEGATIVO
57	VALERIA YUCRA COILA	FERNANDA	HEMBRA	NEGATIVO
58	VALERIA YUCRA COILA	BRAYAN	MACHO	NEGATIVO
61	VALERIA YUCRA COILA	LESLY	HEMBRA	NEGATIVO
62	VALERIA YUCRA COILA	DANTE	MACHO	NEGATIVO
64	VALERIA YUCRA COILA	PATRICIA	HEMBRA	POSITIVO

TABLA A4. Resultados de la prueba de ELISA para el factor reproductivo (preñadas en seca y preñadas en producción) en el distrito de Paucarcolla – Puno.

N°	PRODUCTOR	NOMBRE DE LA VACA	CLASE	RESULTADO
1	ANTONIA NAIRA VILCA	LUCILA	PP	POSITIVO
3	ANTONIA NAIRA VILCA	DAYANA	PP	POSITIVO
10	ASUNTINA ROQUE QUISPE	LASLY	PP	NEGATIVO
13	ASUNTINA ROQUE QUISPE	MARUSA	PP	POSITIVO
14	ASUNTINA ROQUE QUISPE	NEGRA	PP	POSITIVO
16	FELICITAS LOPEZ ROQUE	MARIA	PP	POSITIVO
22	PEDRO CHOQUE VILCA	MARIA	VS	POSITIVO
23	PEDRO CHOQUE VILCA	NANCY	VS	POSITIVO
26	ANDRES LOPES QUISPE	CALLETANA	PP	POSITIVO
37	MARIA PAREDES NEIRA	ASLI	VS	POSITIVO
38	MARIA PAREDES NEIRA	CANDY	PP	POSITIVO
43	MARIA PAREDES NEIRA	FAVIANA	VS	POSITIVO
47	JOSEFINA GONSALES PAREDES	BLANCA	PP	POSITIVO
50	VALERIA YUCRA COILA	BARBECA	PP	POSITIVO
53	VALERIA YUCRA COILA	FLAQUITA	VS	NEGATIVO
60	VALERIA YUCRA COILA	ESTRELLA	PP	NEGATIVO
66	VALERIA YUCRA COILA	YAREN	PP	POSITIVO
67	FRESIA PARI FLORES	SHERIT	VS	NEGATIVO
68	FRESIA PARI FLORES	YERSEY	PP	POSITIVO
69	FRESIA PARI FLORES	MIRLA	VS	NEGATIVO
75	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	PRINCESA	PP	POSITIVO
76	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	MARIA JOSE	PP	NEGATIVO
79	MARIA YUCRA COILA	LILA	VS	POSITIVO
82	MARIA YUCRA COILA	LICHI	VS	POSITIVO
83	MARIA YUCRA COILA	PAOLA	VS	POSITIVO
84	MARIA YUCRA COILA	VILMA	PP	NEGATIVO
85	CLAUDIA VILCA SANDBAL	NATY	VS	NEGATIVO
87	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	CACHITAS	VS	POSITIVO
88	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	LOLA	VS	POSITIVO
90	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	DARINA	VS	POSITIVO
91	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	GIGANTE	VS	POSITIVO

PP= preñada en producción

VS= vacía sin producción

TABLA A5. Resultados de la prueba de ELISA para el factor productivo (vacía en producción y vacía en seca) en el distrito de Paucarcolla – Puno.

N°	PRODUCTOR	NOMBRE DE LA VACA	CLASE	RESULTADO
2	ANTONIA NAIRA VILCA	TALIA	VP	POSITIVO
4	ANTONIA NAIRA VILCA	ROSALINDA	PS	POSITIVO
8	ANTONIA NAIRA VILCA	LAURA	PS	POSITIVO
11	ASUNTINA ROQUE QUISPE	MAMASA	PS	POSITIVO
18	DELIA LOPEZ ROQUE	JUANA	VP	POSITIVO
19	DELIA LOPEZ ROQUE	BLANCA	VP	POSITIVO
21	PEDRO CHOQUE VILCA	PATY	PS	POSITIVO
29	FELICITAS NAIRA VILCA	AMARILLA	VP	POSITIVO
30	FELICITAS NAIRA VILCA	NERICA	PS	POSITIVO
31	FELICITAS NAIRA VILCA	OVINTINA	VP	POSITIVO
34	JOSE NAIRA VILCA	PALOMA	PS	POSITIVO
39	MARIA PAREDES NEIRA	MARIA	VP	POSITIVO
41	MARIA PAREDES NEIRA	CACHUDA	VP	POSITIVO
45	JOSEFINA GONSALES PAREDES	GUERRI	VP	NEGATIVO
52	VALERIA YUCRA COILA	GISELA	PS	NEGATIVO
55	VALERIA YUCRA COILA	LUNA	PS	POSITIVO
56	VALERIA YUCRA COILA	CARLITA	VP	NEGATIVO
59	VALERIA YUCRA COILA	MORONA	PS	NEGATIVO
63	VALERIA YUCRA COILA	YOBANA	PS	POSITIVO
65	VALERIA YUCRA COILA	MARINA	PS	NEGATIVO
70	FRESIA PARI FLORES	LUNA	VP	POSITIVO
71	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	BISEL	VP	POSITIVO
72	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	ROMINA	VP	NEGATIVO
73	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	LEGACIA	VP	POSITIVO
74	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	RITA	VP	POSITIVO
77	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	RENATA	VP	NEGATIVO
78	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	MATILDE	VP	POSITIVO
80	MARIA YUCRA COILA	ROSA	PS	POSITIVO
81	MARIA YUCRA COILA	KATY	PS	NEGATIVO
86	CLAUDIA VILCA SANDOBAL	CACHUDA	PS	NEGATIVO
89	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	NEGRA	PS	NEGATIVO

VP= vacía en producción

PS= preñada sin producción