



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



SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL
BOVINA (vDVB) EN VACUNOS BROWN SWISS DEL DISTRITO
DE MACARI

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. GREGORIO EDEL MAMANI LIMACHI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2021



DEDICATORIA

Dedicado a mis padres Justo
Rufino Mamani Huallpa, Regina
Limachi Carbajal y hermanos.

Gregorio Edel Mamani Limachi



AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano por mi formación profesional.
- A la Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia y a su plana docente.
- Al Centro Experimental Chuquibambilla, Laboratorio de Salud Animal y al personal que labora.
- Al Dr. Sc. Natalio Luque Mamani, en calidad de director de tesis, por su colaboración durante la ejecución y redacción de esta investigación.
- A los miembros del jurado Dr. Sc. Domingo Ruelas Calloapaza, Mg. Sc. Hugo Vilcanqui Mamani, Mg. Sc. José Iván Quiñones García por sus contribuciones en la redacción del trabajo de investigación.
- Al Mg, Sc. Dianett Benito López, Mvz. Luis Paredes Aguilar por el aporte en la investigación.
- A mis amigos y compañeros de promoción 2017 – II Chuquibambilla por la amistad, vivencias y recuerdos compartidos.

Gregorio Edel Mamani Limachi



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 9

ABSTRACT..... 10

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Objetivos de la Investigación..... 12

1.1.1. Objetivo general 12

1.1.2. Objetivos específicos 12

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Marco Teórico. 13

2.1.1.- Diarrea Viral Bovina..... 13

2.1.2.- Etiología..... 14

2.1.3.-Características del virus 14

2.1.4.- Clasificación del virus de la Diarrea Viral Bovina 15

2.1.5.- Mecanismos de replicación viral. 16

2.1.6.- Epidemiología..... 17

2.1.7.- Fuentes de infección. 17

2.1.8.-Modos de transmisión de la Diarrea Viral Bovina 18

2.1.9.- Patogenia y manifestaciones clínicas..... 21

2.1.10.- Diagnóstico de la Diarrea Viral Bovina..... 24

2.1.11.- Prevención y control 28

2.1.12.- Impactos económicos de la Diarrea Viral Bovina 31

2.2.- Antecedentes DE LA INVESTIGACION 32

2.2.1.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina a nivel mundial. 32

2.2.2.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en América del Sur. 34



2.2.3.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en Perú.	35
2.2.4.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en la región Puno.	37

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Lugar de Estudio	41
3.2.- Material Biológico	41
3.2.1.- Determinación del tamaño de muestra.	41
3.2.3.- Procedimiento de muestreo y clasificación de animales.	42
3.3.- Materiales, equipos y reactivos	43
3.3.1. Materiales para la toma de muestras sanguíneas.	43
3.4.- Metodología	44
3.4.1.- Toma de muestras sanguíneas.	44
3.4.2.- Detección de anticuerpos específicos al vDVB mediante prueba ELISA.	45
3.4.3.- Seroprevalencia.....	46
3.4.4.- Método estadístico	47

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Seroprevalencia del virus DE LA Diarrea Viral Bovina	48
4.2. Seroprevalencia DEL vDVB, según sexo	51
4.4. Seroprevalencia del vDVB, según estado reproductivo	52
4.5. Seroprevalencia del vDVB, según estado productivo	54
V. CONCLUSIONES	56
VI. RECOMENDACIONES	57
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	58
ANEXOS	62
Anexo A	63

Área : Sanidad Animal

Tema : Seroprevalencia de vDVB en vacunos del distrito de Macarí.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 17 de marzo de 2021



ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1: Reactivos del Kit diagnóstico ELISA para vDVB.....	68
Ilustración 2: Identificación de animales y toma de muestras	68
Ilustración 3: Análisis de muestras serológicas.	68



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribucion de muestras para la prueba ELISA	42
Tabla 2: Contenido del kit ELISA (IDEXX BVDV p80 Ab).....	44
Tabla 3: Seroprevalencia general para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss en el distrito de Macari.	48
Tabla 4: Seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacunos Brown Swiss según sexo(machos y hembras < de 2 años) en el distrito de Macari.....	51
Tabla 5: Seroprevalencia de anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (vacas vacías y preñadas) en el distrito de Macari.....	52
Tabla 6: Seroprevalencia de anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss según estado productivo (vacas en producción y en seca) en el distrito de Macari.	54
Tabla 7: Resultados de la lectura ELISA a una DO a 540 nm.....	63
Tabla 8: Resultados a la densidad óptica y el M/P en porcentaje.....	63
Tabla 9: Prueba de Chi Cuadrado según sexo	65
Tabla 10: Prueba de Chi Cuadrado según estado reproductivo.....	66
Tabla 11: Prueba de Chi Cuadrado según estado productivo.	67



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ARN:	Acido Ribonucleico
AV:	Aislamiento Viral
CN:	Control Negativo
cp :	citopatogenico
CP:	Control Positivo
DVB:	Diarrea Viral Bovina
ELISA:	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas
EM:	Enfermedad de las mucosas
NB:	Neosporosis Bovina
nep:	no citopatogenico
PCR:	Reaccion en Cadena de la Polimerasa
PI:	Persistentemente Infectados
UNA PUNO:	Universidad Nacional del Altiplano - Puno
vDVB:	virus de la Diarrea Viral Bovina



RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue determinar la seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) en vacunos Brown Swiss ubicados en el distrito de Macari, provincia de Melgar, departamento de Puno; para este efecto se obtuvo muestras sanguíneas de 85 vacunos, que fueron evaluadas mediante la prueba de ELISA indirecta para detectar anticuerpos frente al vDVB; el análisis estadístico fue mediante la prueba estadística de Chi-Cuadrado, teniendo los siguientes resultados; la seroprevalencia general del vDVB en vacunos Brown Swiss del distrito de Macari fue de 42.35 %; según sexo (machos y hembras) fue de 30.00 % y 26.67 % respectivamente, ($p \geq 0.05$); según estado productivo (vacas en producción y vacas en seca) fue de 60.00 % y 26.67 % respectivamente, ($p \geq 0.05$); según estado reproductivo (vacas vacías y vacas preñadas) fue de 33.33 % y 66.67 %, ($p \geq 0.05$); En conclusión, el presente trabajo de investigación nos demuestra la presencia de anticuerpos frente al virus de la Diarrea Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Macari.

Palabras Clave: Diarrea Viral Bovina, Prueba ELISA, Seroprevalencia, vacunos.



ABSTRACT

The objective of the research work was to determine the seroprevalence of the Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV) in Brown Swiss cattle located in the Macari district, Melgar province, Puno department; For this purpose, blood samples were obtained from 85 cattle, which were evaluated by means of the indirect ELISA test to detect antibodies against BVDV; the statistical analysis was by means of the statistical test of Chi-Square, having the following results; the general seroprevalence of vDVB in Brown Swiss cattle from the Macari district was 42.35%; according to sex (males and females) it was 30.00% and 26.67% respectively, ($p \geq 0.05$); according to productive status (cows in production and cows in dry) it was 60.00% and 26.67% respectively, ($p \geq 0.05$); according to reproductive status (empty cows and pregnant cows) it was 33.33% and 66.67%, ($p \geq 0.05$); In conclusion, the present research work shows us the presence of antibodies against Bovine Viral Diarrhea virus in Brown Swiss cattle from the Macari district.

Key Words: Bovine Viral Diarrhea, ELISA Test, Seroprevalence, cattle.



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La crianza de ganado vacuno es considerada una de las actividades económicas más trascendentales para las familias campesinas del área rural en el mundo, asimismo para los centros de producción ganadera de la región y del país (Arauco, 2018).

La diarrea viral bovina es una enfermedad endémica del ganado vacuno, ampliamente distribuida en el mundo, responsable de producir patologías con diversas manifestaciones clínicas especialmente de carácter reproductivo, causando problemas y pérdidas económicas a los ganaderos (Huaylla, 2018).

A partir del año 1990, el virus se consolida como una de las principales causas de problemas reproductivos; siendo la diarrea viral bovina causante de una de las enfermedades reproductivas con mayor impacto económico. La principal característica es la falla y pérdida de la gestación. En menor cuantía se reporta nacimiento de terneros con malformaciones, baja producción láctea, intervalo entre partos prolongados, etc que alteran los parámetros reproductivos y zootécnicos (Arauco, 2020)

La principal fuente de infección y reservorio del virus son los bovinos persistentemente infectados (PI), que eliminan constantemente el virus durante toda su vida en la secreción nasal, lagrimas, semen, orina, etc. justamente la detección y eliminación de animales PI es la principal tarea y objetivo de las políticas sanitarias enfocadas a erradicar el virus de la diarrea viral bovina ; asimismo la existencia y aparición de métodos diagnósticos modernos y los estudios epidemiológicos deberían servir para la elaboración y ejecución de un programa nacional de erradicación del virus de la diarrea viral bovina en nuestro país, considerando experiencias en otros países del mundo (Centeno, 2018).



El distrito de Macari cuenta con una población de 14, 611 vacunos de los cuales 10, 127 (69.31%) pertenecen a la raza Brown Swiss (Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2012)

Considerando esta problemática que afecta a los vacunos, especialmente a los animales dedicados a la producción lechera; siendo el distrito de Macari una zona donde la producción de leche está muy difundida; se viene trabajando en planes de mejoramiento de la ganadería vacuna lechera mediante la introducción de razas mejoradas, la masificación del uso de inseminación artificial; existiendo además un alta presentación de problemas reproductivos en vacas, nos vemos en la necesidad de plantear esta investigación con el fin de conocer la seroprevalencia frente al virus de la diarrea viral bovina en este distrito.

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en bovinos de la raza Brown Swiss del distrito de Macari.

1.1.2. Objetivos específicos

- a) Determinar seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en vacunos Brown Swiss según sexo (machos y hembras).
- b) Determinar seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacas Brown Swiss según estado productivo (vacas en producción y vacas en seca).
- c) Determinar seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (vacas vacías y vacas preñadas).



CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- MARCO TEÓRICO.

2.1.1.- Diarrea Viral Bovina

La Diarrea Viral Bovina (DVB) es una enfermedad viral ampliamente distribuida en el mundo, siendo endémica del ganado vacuno, ocasiona pérdidas económicas considerables e impacto significativo en el bienestar animal, presenta variadas presentaciones clínicas como abortos, nacidos muertos momificados, nacimiento de crías débiles, crías con malformaciones, etc (Wernike, 2017).

La diarrea viral bovina cursa con una morbilidad importante y baja mortalidad en el ganado vacuno de leche y carne; las pérdidas económicas no son tan cuantificables en su real dimensión, debido al carácter subclínico con el que cursa esta enfermedad en un gran número de casos (Lanyon, 2014).

La Diarrea Viral del ganado se describió en el año 1953 por primera vez en EEUU, con el paso de los años se hizo evidente que la enfermedad de las mucosas (EM) también fue causada por el virus BVD, resultando que ambos cuadros clínicos fueron causados por el mismo agente causal, desde allí se lo conoce como complejo diarrea viral bovina/ enfermedad de las mucosas (DVB/EM) (Moennig, 2018)

El virus de la Diarrea Viral Bovina se transmite fácilmente; el ganado infectado desarrolla múltiples manifestaciones clínicas que van desde cuadros subclínicos, diarrea, inmunosupresión, abortos, repetición de celos, anestro, defectos congénitos, inmunotolerancia e infecciones persistentes, etc (Soto, 2018).



2.1.2.- Etiología

El virus de la Diarrea Viral Bovina es uno de los patógenos más frecuentes en los vacunos a nivel mundial, pertenece al género Pestivirus, familia Flaviviridae. Actualmente, los Pestivirus están divididos en 4 especies distintas: el virus de la peste porcina clásica (vPPC), el virus de la enfermedad de la frontera en ovinos (vEF), y dos genotipos del vDVB (genotipo 1 y genotipo 2) (Gonzales, 2015).

El virus de la diarrea viral bovina es esférico, mide 40 a 60 nm de diámetro. Está compuesto por un ARN monocatenario, envuelto por una cápside proteica icosaédrica de naturaleza lipídica; en la envoltura lipídica se ubican las tres glicoproteínas estructurales, mientras que en la nucleocápside se localiza el ARN simple. Las proteínas estructurales incluyen la proteína nucleocápside (C) y las glicoproteínas de envoltura Erns, E1 y E2 de las cuales se ha demostrado que están asociadas a las membranas intracelulares (Falkenberg & Dassanayake, 2017).

2.1.3.-Características del virus

La principal característica del vDVB es su amplia variabilidad genética y antigénica. Por tratarse de un virus ARN tiene amplia plasticidad, generando cepas mutantes frecuentemente, las cuales desafían y burlan al sistema inmune del hospedador. La infección inter-especies abre la posibilidad para la diversificación, sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente (Soto, 2018).

Varios estudios han demostrado que nuevas cepas se originan durante la infección del virus en bovinos susceptibles que desarrollan una infección aguda. De esta forma se confirma así que los reservorios más importantes de la enfermedad son los animales persistentemente infectados; asimismo los animales con infección aguda son fundamentales para la generación y aparición de nuevas variantes antigénicas.



Esta diversidad antigénica está reflejada en la variedad de manifestaciones clínicas y lesiones, lo cual dificulta el diagnóstico y disminuye el efecto protector de las vacunas (Arauco, 2020).

2.1.4.- Clasificación del virus de la Diarrea Viral Bovina

La clasificación del vDVB debido a su variabilidad antigénica y genética es un tanto compleja. Las bases iniciales para su subdivisión fueron los hospedadores de los Pestivirus, así los virus que eran aislados del cerdo, ovino y bovino se los clasificaba como virus de la peste porcina clásica, virus de la enfermedad de la frontera y virus de la Diarrea Viral Bovina, respectivamente. A la fecha, este criterio de clasificación a perdido aplicación debido a que los Pestivirus cruzan fácilmente la barrera interespecie (Paredes, 2021).

El vDVB tiene como característica una amplia diversidad genética y se puede dividir en dos principales especies, vDVB-1 y vDVB-2, subdividido cada uno en subtipos. Conforme a su crecimiento en cultivo celular, los aislamientos de BVDV se clasifican en dos biotipos distintos citopáticos (cp) y no citopático (ncp). El contacto de bovinos no gestantes sin experiencia con el BVDV resulta, en la mayoría de los casos, en infecciones clínicamente inaparentes, o conduce a síntomas inespecíficos leves o moderados como diarrea, fiebre, disminución de la producción de leche, lesiones hemorrágicas o neumonía. La inmunosupresión inducida por el virus puede promover infecciones secundarias, que regularmente conducen a un deterioro de las condiciones generales de salud a nivel de hato. Ocasionalmente, ocurren formas agudas graves de BVD, que son caracterizados por síndromes hemorrágicos y lesiones similares a enfermedades de las mucosas, y se asocian principalmente con cepas virulentas de BVDV-2 (Wernike, 2017)



Las cepas de vDVB existentes en América del Norte son diversas con diferencias tanto en la genética del genoma viral como en las propiedades antigénicas. Durante varios años, los tres subgenotipos más reconocidos han sido BVDV1a, 1b y 2a siendo BVDV1b los más destacados. Sin embargo, los subgenotipos adicionales más recientes de BVDV BVDV2b y BVDV2c se han identificado en los Estados Unidos con genes y diferencias antigénicas de BVDV2a (Fulton, 2020)

Para comprender un poco mejor la etiología de la enfermedad es fundamental aclarar dos conceptos: el primero, existen dos biotipos del vDVB: el biotipo citopatogénico (cp) y el no citopatogénico (ncp); el segundo concepto, implica que existen dos grupos de poblaciones bovinas: los bovinos infectados persistentemente (PI) y, los bovinos "normales" o libres de la infección (Soto, 2018).

2.1.5.- Mecanismos de replicación viral.

El virus de la Diarrea Viral Bovina ingresa a la célula susceptible por un mecanismo de transporte dentro del lisosoma de la célula. El ARN genómico viral es liberado al interior del citoplasma celular donde ocurre la traducción de las proteínas virales. Se conoce que el ensamblaje de partículas virales se da en el retículo endoplásmico (RE) con modificaciones transcripcionales del tipo glicosilaciones durante la elongación final (Gonzales, 2015).

El vDVB se replica activamente en células con actividad mitótica tales como: linfocitos, fagocitos mononucleares y células epiteliales. Por cada célula infectada son liberados entre 100 a 1000 viriones mediante exocitosis, los cuales alcanzan el medio extracelular. Transcurridas unas 3 horas postinfección es posible detectar polipéptidos víricos en las células infectadas alcanzándose un nivel máximo detectable entre 12 a 16 horas postinfección (Quispe N. , 2018).



2.1.6.- Epidemiología

El vDVB está ampliamente distribuido en numerosos países del mundo, afectando principalmente a los rumiantes domésticos y silvestres; prevaleciendo diferentes genotipos según las distintas regiones geográficas del planeta estando presente en la mayoría de las poblaciones bovinas (Pecora, 2017).

La DVB es una de las enfermedades con mayor prevalencia en el hato bovino mundial, el grado de masificación es muy variable dependiente del tipo de ganado, tipo de explotación ganadera, densidad poblacional, tipo de manejo, manejo de las pasturas, tránsito de animales, prácticas comerciales y de transporte, etc. Se ha considerado una prevalencia mundial global estimada para vDVB de 60-85% y de 1-2% de animales PI; por otro lado, en los países escandinavos se determinó que la prevalencia viral estuvo asociada al tamaño de hatos, tránsito de animales y densidad poblacional de bovinos (Wernike, 2017)

Los Pestivirus infectan naturalmente solo a los ungulados del orden Artiodáctila que abarca porcinos, bovinos, ovinos caprinos y camélidos del Nuevo mundo, así como rumiantes silvestres; consideraciones que deben tomarse en cuenta al diseñar e implementar un programa de control ya que fácilmente atraviesan la barrera interespecie (Quispe N. , 2018).

2.1.7.- Fuentes de infección.

La principal fuente de transmisión del virus son los animales PI, que casi constantemente liberan al medio ambiente grandes cantidades de virus a través de sus secreciones nasales, materia fecal, saliva, semen, orina, leche, etc. Cantidades pequeñas del virus es excretado por los animales que presentan infección aguda y sólo dura unos pocos días mientras la infección este presente (Yavru, 2013).



Los virus aislados de otras especies de rumiantes como camélidos, ovinos, caprinos, rumiantes de vida silvestre y en cautiverio; tiene potencial infectivo, por lo tanto estas especies deben ser consideradas como fuente potencial de transmisión viral (Choquenaira, 2018).

2.1.8.-Modos de transmisión de la Diarrea Viral Bovina

Existen diversas formas transmisión del vDVB pudiendo ser animal – animal o vertical, transplacentaria u horizontal, directa o indirecta. La transmisión directa ocurre por contacto físico entre animales viremicos transitorios o persistentemente infectados (PI) y animales susceptibles. Otra vía a ser considerada es el semen contaminado. La transmisión indirecta suele producirse por picaduras de insectos hematófagos, inadecuado manejo de material quirúrgico contaminado en prácticas ganaderas, tales como: atención de partos, inyecciones parenterales, identificaciones, castraciones, tatuajes, medicaciones orales o tacto rectal, realizados con deficientes medidas de bioseguridad (Nava, 2013).

2.1.8.1.- Transmisión vertical.

La infección transplacentaria o transmisión vertical ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. En caso que el feto sea infectado por biotipos ncp antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación) este desarrollará una infección persistente. Casi la mitad de los animales PI mueren en su primer año de vida, algunos alcanzan la madurez sexual y al reproducirse dan origen siempre a terneros PI. Otra forma de transmisión vertical ocurre luego de la transferencia embrionaria si la vaca receptora es PI, o en todo caso la vaca donante es PI y durante el proceso no se realiza el correcto lavado del embrión (Whates, 2020).



2.1.8.2.- Transmisión horizontal.

El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz–nariz, es la forma más frecuente de transmisión en campo abierto. Otra forma de transmisión del virus puede ocurrir por contacto directo con animales que cursan una infección aguda, aunque no son casos frecuentes (Huacasi, 2018).

Otra importante vía de transmisión horizontal es el semen, pues se han detectado toros seropositivos no viremicos que eliminan el virus por esta vía. Para que sea posible esta situación, la infección ocurre en la pubertad, en la formación de la barrera inmunológica hemato-testicular, permitiendo al virus replicarse dentro del testículo y evadiendo de esta forma la respuesta inmune (Gonzales, 2015).

El contenido seminal producido por toros PI a menudo contiene virus y siendo capaz de transmitir la infección por servicio natural o inseminación artificial (IA). Una forma que los toros adquieran la infección por vDVB es por contacto con compañeros de manada infectados, trayendo como consecuencia la posterior diseminación seminal del virus. Sin embargo, la excreción de vDVB en el semen es transitoria y la cantidad de virus es menor que en los toros PI. La detección oportuna y consecuente eliminación de toros PI son competencias esenciales de los programas de control del vDVB, especialmente en los centros de inseminación artificial (Yavru, 2013).

La transmisión vía indirecta del virus puede producirse por picaduras de insectos y animales hematófagos (murciélagos) o por manejo inadecuado con material contaminado, tales como: tatuajes, castraciones, identificaciones, inyecciones parenterales, medicaciones orales o tacto rectal, realizados con escasas medidas de bioseguridad, minutos después de haber estado en contacto con animales



PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva fácilmente. El virus de la diarrea viral bovina es inactivado por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergente, solvente orgánica y pH que exceda el rango de 5,7 a 9,3 (Nava, 2013 ; Martínez, 2018).

La adquisición y posterior introducción de animales PI, a un rebaño susceptible es la principal forma de introducir el virus. Debemos considerar otras vías de transmisión son: el uso de semen contaminado, uso de vacunas vivas, transferencia embrionaria y contacto con vacunos con infección aguda (Pecora, 2017).

La transmisión del virus de la diarrea viral bovina dentro de un rebaño depende en gran manera de la forma de introducción del virus. Al introducir un animal PI al rebaño, ocurre rápidamente la transmisión a los animales susceptibles y progresivamente a la mayoría del rebaño. Sin embargo, si la transmisión ha provenido de un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión abarca poco tiempo incluyendo un reducido porcentaje del rebaño antes que se detenga la transmisión. La virulencia de la cepa infectante y el sistema de producción son factores que participan en la transmisión de la enfermedad, por lo tanto, ocurre una diseminación más rápida en sistemas de producción que presentan hacinamiento, alta carga animal por unidad de superficie, y presencia de cepas virulentas en el medio circundante (Rondon, 2006 ; Huaylla, 2018).



2.1.9.- Patogenia y manifestaciones clínicas

El virus de la Diarrea Viral Bovina origina un amplio rango de lesiones y manifestaciones clínicas resultantes de la interacción de muchos factores como: estado inmune del animal, cepa y biotipo viral, edad del animal, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes (Arainga, 2012) ñp reproductivo produciendo abortos, infertilidad y defectos en los fetos y terneros nacidos. Ocasiona una viremia transitoria antes de la seroconversión, conduciendo a una disfunciones reproductivas y depresión del estado inmunológico favoreciendo aparición e incremento de otras enfermedades secundarias y oportunistas (Arauco, 2018).

Dentro de las principales características, producto de una infección con el vDVB, se pueden mencionar:

2.1.9.1.- Infección subclínica

La gran mayoría de las infecciones causadas por este virus son subclínicas o moderadas, esporádicamente el cuadro clínico cursa con fiebre, leucopenia transitoria, descarga oculonasal, elevada morbilidad y baja mortalidad. En estas infecciones, hay aparición de anticuerpos neutralizantes en un periodo de 14 a 28 días postinfección, ocurriendo la respuesta inmune contra reinfecciones por cepas homologas del virus (Lertora, 2003 ; Choquenaira, 2018).

2.1.9.2.- Trastornos reproductivos.

Fundamentalmente los perjuicios económicos de mayor impacto a causa de la infección con el vDVB en la ganadería vacuna son los trastornos reproductivos que padece el ganado, más visiblemente en las hembras. Los efectos directos y colaterales de la infección surgen antes y durante la gestación. En caso haya una infección aguda,



la función ovárica se verá alterada, se reduce la fertilidad, tasa de concepción, etc. El virus de la diarrea viral origina ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de oocitos y células de la granulosa. También se ha detectado el antígeno viral en células del estroma ovárico y macrófagos, a los 6 a 60 días post infección. Asimismo, las infecciones agudas causan retraso en la maduración folicular, anormalidades en la dinámica folicular, reducción de los niveles circulantes de estradiol y ausencia de los picos pre-ovulatorios de hormona luteinizante (Quispe N. , 2018).

Otras investigaciones realizadas al respecto han explicado parcialmente los mecanismos de acción del virus de la diarrea viral bovina en la fecundación y el desarrollo embrionario. Asimismo, diversos estudios experimentales han reportado resultados un tanto contradictorios referentes a infección derivada del uso de fluido folicular, semen, células del cúmulus, etc (Gonzales, 2015).

2.1.9.3.- Infección del tracto reproductivo y fetal.

Estos cuadros y manifestaciones clínicas aparecen según el tiempo de gestación. Si ocurre en los primeros días, la infección causa efectos negativos en la concepción e implantación del nuevo ser, reflejado en bajas tasas de preñez y un número creciente de repeticiones de celo. Si hay aborto, este suele ocurrir a causa de la infección viral con cepas cp y ncp en los días 45 y 175 de gestación. La aparición de malformaciones y defectos congénitos ocurren como resultado de la infección viral entre los días 100 y 150 de la gestación. Los posibles defectos son: hipoplasia cerebelar, microencefalia, hidrocefalia, hidroencefalia, poroencefalia, hipomielinización, cataratas, microftalmia, degeneración retinal, neuritis óptica, hipoplasia tímica, hipotricosis, osteogénesis alterada y retardo en el crecimiento (Berríos, 2015).



2.1.9.4.- Infección aguda.

Referida al cuadro clínico agudo que ocurre en bovinos seronegativos e inmunocompetentes, entre los 6 meses a 2 años de edad. Transcurrido un periodo de 5 a 7 días, se observa inapetencia, descarga oculonasal, lesiones orales en forma de erosiones o ulceraciones y diarrea. La morbilidad es alta, pero la mortalidad suele ser baja. (Arauco, 2018).

2.1.9.5.- Enfermedad de las mucosas.

La enfermedad de las mucosas presenta baja morbilidad y alta mortalidad, está asociada con superinfección del animal PI con el biotipo no citopático y citopático del vDVB, generalmente afecta a los animales entre 3 meses y 2 años. Presentan diarrea profusa, erosiones y úlceras en el aparato digestivo, lesiones en espacios interdigitales y epitelios, así como pérdida de condición corporal (Reichel, 2018)

La EM requiere una infección persistente congénita con virus biotipo ncp y una subsecuente infección aguda con virus biotipo cp. En vacunos la enfermedad se desarrolla cuando animales PI con una cepa ncp son superinfectados con una cepa cp de origen externo o caso contrario es generada a partir de cambios genéticos o recombinación del ARN de las cepas ncp originales, esto puede deberse a rearrreglos genómicos o inserción de secuencias celulares (Rondon, 2006 ; Berrios, 2015).

2.1.9.6.- Síndrome hemorrágico

El cuadro clínico conocido como síndrome hemorrágico abarca síntomas como: diarrea sanguinolenta, trombocitopenia, leucopenia, hemorragias en las mucosas, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia y muerte. La enfermedad es generalmente fatal y está causada por una cepa no citopática. (Berrios, 2015).



2.1.9.7.-Infeccion neonatal.

Fetos que fueron infectados con cepas ncp en el último periodo de gestación, desarrollan una severa enteritis, evidenciando de esta forma que el vDVB juegue un importante rol en la presentación de la forma entérica de la enfermedad en terneros recién nacidos. Los anticuerpos que el ternero recibe de la madre a través del calostro se agotan entre los días 105 a 230 de edad, tiempo después del cual el incremento del título de anticuerpos puede ser debido a una infección natural o a efectos de vacunación (Berrios, 2015).

2.1.10.- Diagnóstico de la Diarrea Viral Bovina

El diagnóstico presuntivo a través del examen clínico el examen de los registros reproductivos los signos clínicos y las lesiones macroscópicas y microscópicas son buenos indicativos, mucho más si existen lesiones orales que son especialmente indicativas de la enfermedad, aunque requieren de diagnósticos confirmatorios y pruebas complementarias en laboratorio (Arauco, 2020).

Las apariciones de nuevas pruebas diagnósticas son esenciales para dar el soporte a los planes de control y erradicación de la enfermedad. El hecho que la DVB sea erradicada de la población vacuna depende en gran manera de los progresos que realizados en las investigaciones recientes para detectar con seguridad animales que son fuentes de transmisión dentro del hato ganadero. Las acciones a realizar más importantes dentro de un plan de control y erradicación son: identificación y eliminación de animales PI, aumento de la respuesta inmune mediante vacunación e implementación de medidas de bioseguridad enfocadas en movimiento y tránsito de vacunos (Berrios, 2015).



Los diagnósticos para detectar el virus de la diarrea viral bovina se llevan a cabo fundamentalmente por dos razones. La primera es para identificar la presencia del virus y determinar si es la causa o parte de un problema infeccioso identificado en un hato vacuno. Actualmente hay disponibilidad de una variedad de ensayos que permiten identificar al virus en muestras de sangre de animales enfermos o de muestras de tejido tomadas en necropsia. Adicionalmente, la detección de anticuerpos contra el vDVB en animales de una zona geográfica, indica respuesta inmune frente a la presencia del virus en esa área. La segunda razón del uso de los ensayos de diagnóstico de vDVB es para la identificación de vacunos persistentemente infectados. Esta identificación y eliminación de los animales persistentemente infectados reduce ampliamente el riesgo de transmisión de la enfermedad dentro y entre rebaños de ganado vacuno (Pecora, 2017).

El aislamiento viral (AV) en cultivo celular en muestras de tejidos, leucocitos, semen o suero sanguíneo se considera el método estándar para la detección del virus de la diarrea viral bovina, sus desventajas son el tiempo de realización, costo, poca practicidad para trabajar con un número grande de muestras, etc. Si bien su especificidad es casi de 100%, su sensibilidad depende del tipo de células de las cuales se efectúa el aislamiento (Lanyon, 2014).

2.1.10.1.- Detección de antígenos virales

Inmunofluorescencia.

Es una rápida prueba inmunohistoquímica basada en la detección del antígeno viral en muestras de tejidos mediante el uso de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina marcados con fluorocromos (Lertora, 2003 ; Choquenaira, 2018).



Inmunoperoxidasa (IP)

Esta prueba inmunohistoquímica está basada en la detección de antígenos virales en muestras de tejidos o fluidos corporales. Es muy parecida a la IF, en este caso el anticuerpo es marcado a una enzima como la peroxidasa. Adicionalmente, esta técnica no requiere el uso de microscopio de fluorescencia (Lertora, 2003 ; Choquenaira, 2018).

2.1.10.2.- Detección de anticuerpos.

Neutralización viral

La prueba de neutralización viral es muy usada a nivel mundial, tiene alta especificidad para detectar el virus de la diarrea viral bovina; el fundamento de esta prueba radica en la capacidad de los anticuerpos para neutralizar la citopatogenicidad o capacidad del virus de infectar a las células en vivo o in vitro. Es una técnica cualitativa que permite detectar y titular anticuerpos, la titulación de anticuerpos tiene gran importancia y utilidad, permitiendo evaluar la respuesta inmune post vacunación. Actualmente es la prueba de referencia en la mayoría de países de Europa. (Lanyon, 2014).

Captura de Anticuerpos mediante Inmunoabsorbancia ligada a Enzimas (ELISA).

El método más común es la detección de anticuerpos, aunque de menor utilidad en hatos donde esta implementada la vacunación contra diarrea viral bovina. Existe disponibilidad de múltiples kits diagnósticos comerciales de pruebas ELISA. Las pruebas ELISA son aplicables para la detección de anticuerpos específicos frente al virus de la diarrea viral bovina sirviendo como técnicas de tamizaje permitiendo



procesar un gran número de muestras, incluyendo suero sanguíneo, leche, además que puede detectarse anticuerpos calostrales en terneros lactantes (Lanyon, 2014).

La Inmunoabsorbancia ligada a enzimas o pruebas de ELISA pueden detectar casi cualquier molécula inmunorreactiva y siendo muy usadas en serología por varias razones: pueden ser fácilmente empleadas en pruebas masivas de tamizaje, no dependen de cultivos celulares, los resultados pueden obtenerse rápidamente, y en el caso del vDVB pueden obtenerse confiables resultados a partir de muestras de leche, por ejemplo. Los dos tipos principales de ELISA usados para la detección de anticuerpos son el indirecto y el de bloqueo. En la prueba indirecta, el color desarrollado por la unión enzima - sustrato guarda proporción a la cantidad de anticuerpos presentes en las muestras; en el tipo de bloqueo, los anticuerpos evitan la formación del color, por lo que una muestra tendrá más anticuerpos cuanto más inhiba la coloración (Soto, 2018).

2.1.10.3.- Reacción en Cadena de la Polimerasa - PCR.

Las modernas técnicas moleculares como las diferentes variedades de PCR vienen siendo usadas para el diagnóstico de la DVB. Se ha reportado que la PCR es uno de los métodos con más alta sensibilidad para la detección del vDVB, siendo capaz de detectar bajos niveles de diseminación de virus durante infecciones agudas (Lanyon, 2014).

La técnica de PCR en tiempo real se utiliza por su precisión y rapidez, tiene la ventaja de realizarse en un sistema cerrado evitando la contaminación de las muestras, además no requiere del análisis por electroforesis. Asimismo, el PCR está ampliamente utilizada en el análisis filogenético y la genotipificación del vDVB y otros pestivirus (Rivera, 2008 ; Centeno, 2018).



2.1.10.4.- Detección del virus en líneas celulares linfoides bovinas mediante el ensayo PrimeFlow RNA.

Aunque, el vDVB se puede identificar fácilmente mediante PCR en tiempo real y ELISA, la detección y cuantificación de la infección viral a nivel de una sola célula es extremadamente difícil. La detección a nivel de células linfoides individuales es importante debido a la inmunomodulación que acompaña a la infección. Se evaluó el nuevo ensayo de ARN PrimeFlow utilizando detección in situ de BVDV. El modelo utilizado para desarrollar esta técnica incluyó tres líneas celulares BL-3 con diferentes estados de infección, una no infectada con BVDV, una infectada con BVDV y una doble infectada con BVDV y virus de leucosis bovina. Usando sondas de ARN específicas para la región codificante de BVDV-2a Npro-Erns, el ARN de BVDV se detectó de ambas líneas celulares BL-3 contaminadas por flujo citometría y microscopía fluorescente. Siendo este el primer informe sobre la detección in situ de BVDV en el nivel celular (Falkenberg & Dassanayake, 2017).

2.1.11.- Prevención y control

La existencia y disponibilidad de multitud de herramientas diagnósticas ha permitido que la formulación e implementación de esquemas de control y erradicación del vDVB. Siendo los individuos PI la principal fuente de transmisión del virus, se convierten en animales objeto de erradicación inmediata. Prueba de ello es la aplicación exitosa de esquemas de tamizaje y eliminación en muchos países como Holanda, Alemania, Suecia, Noruega, Dinamarca, Suiza, Italia, Finlandia y Francia (Lanyon, 2014).



Actualmente, hay datos suficientes del agente causal, patogenia y epidemiología de la enfermedad, así como de herramientas diagnósticas suficientes para lograr la erradicación de la DVB amparándonos en la bioseguridad, detección y eliminación de animales PI, control riguroso del estatus sanitario en hatos lecheros y reducir al mínimo el riesgo de circulación del virus entre hatos ganaderos, minimizando el tránsito de vacunos al mínimo como lo demuestran los resultados de los programas de control exitosos efectuados en varios países de Europa (Van Duijn, 2019).

Según (Wernike, 2017), el principal objetivo es la reducción rápida y eficaz de la prevalencia de animales PI y el establecimiento de granjas con un estado certificado que indica “ Animales Libres de BVD”. El programa adoptó el enfoque de analizar todos los terneros recién nacidos para detectar la presencia del antígeno del BVDV. Al inicio del programa de control a nivel nacional, se definieron cuatro reglas básicas:

- (1) pruebas obligatorias de todos los terneros recién nacidos dentro de los primeros 6 meses de vida para el antígeno del BVDV o genoma
- (2) eliminación inmediata de todos los animales IP detectados
- (3) comerciar solo animales libres de DVB.
- (4) prevención de reinfecciones por parte de medidas, como la implementación de medidas de bioseguridad o vacunación.

La diarrea viral bovina (DVB) es una de las enfermedades infecciosas más importantes del ganado con respecto a la salud animal y el impacto económico. Su naturaleza sigilosa, infecciones transitorias prolongadas, y la presencia de animales persistentemente infectados (PI) como reservorios eficientes fueron responsables de su presencia ubicua en las poblaciones de ganado de todo el mundo. Mientras que inicialmente se pensó que la infección era imposible de controlar, han surgido



estrategias de control sistemático eficaces últimos 25 años. Los denominadores comunes de todos los programas de control exitosos fueron el control sistemático, eliminación de animales PI, controles de movimiento para rebaños infectados, bioseguridad estricta y vigilancia (Paredes, 2021).

Uno de los métodos preferidos para el control de enfermedades infecciosas es la vacunación, ya que es relativamente económico y eficaz. El propósito original de la vacunación contra la BVD era la prevención de enfermedades clínicas y transitorias. inmunosupresión causada por BVDV. No se evaluó la eficacia con respecto a la protección fetal. Por lo tanto, la vacunación no previno necesariamente la aparición de nuevos bovinos PI, el reservorio del virus fue se mantuvo y continuó la infección de animales susceptibles. Cuando la importancia de los animales PI para se reconoció la perpetuación de la infección, el objetivo de la vacunación se trasladó al objetivo principal de protección fetal (Moennig, 2018).

Las experiencias adquiridas en Europa sugieren que ambos enfoques básicos, es decir, el modelo escandinavo y la detección y eliminación de PI basada en la prueba de la muesca de la oreja, son adecuadas para lograr un considerable éxito. Estas opciones de control prometen ahorros considerables en comparación con los costos causados por infecciones a causa de la DVB. Experiencias en otras latitudes demuestran que un programa de erradicación en áreas de alta prevalencia tiene que ser respaldado por legislaciones y regulaciones oficiales que controlen efectivamente las vías de transmisión, coordinando la erradicación en todos los rebaños de un país (Wernike, 2017)



2.1.12.- Impactos económicos de la Diarrea Viral Bovina

Según el tipo de establecimiento, el vDVB impacta de distintas maneras en los rodeos, como se detalla a continuación:

2.1.12.1.- Establos lecheros

El virus de la diarrea viral bovina afecta los índices reproductivos, específicamente el principal problema no son los abortos, sino la reducción de la producción futura de leche. El año 2013, se estimó una pérdida de 156 dólares por vaca lechera en su campaña de producción lechera (Pecora, 2017).

Tomando en cuenta parámetros de producción láctea en hatos lecheros con alta prevalencia de vDVB en Suiza, se reporta que la infección durante los primeros 45 días de gestación no influyen en las tasas de preñez, sin embargo la infección en mitad de la gestación se asocia con aumento de abortos de 6.1% a 15,8% (Whates, 2020).

En los Estados Unidos, estimaciones publicadas de las pérdidas económicas de los brotes de BVD en el nivel de la manada varía ampliamente entre \$ 50 y \$ 400 por vaca en una manada y es razonable asumir que el costo excede \$ 1 B / año para lácteos y productores de carne de res combinados (Falkenberg & Dassanayake, 2017)



2.2.- ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

2.2.1.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina a nivel mundial.

La diarrea viral bovina (DVB) es una de las enfermedades infecciosas más importantes del ganado, causando importantes pérdidas económicas en todo el mundo. Por tanto, se han implementado programas de control en varios países. En Alemania, un programa de erradicación obligatorio a nivel nacional ha estado en vigor desde 2011. Su pieza central es la detección de animales persistentemente infectados (PI) con el virus BVD, principalmente basado en la prueba de muestras de tejido del oído de todos los terneros recién nacidos para el genoma o antígeno viral, y su eliminación de la población bovina. Hasta ahora se han detectado más de 48.000 animales PI. Entre el inicio del programa y finales de 2016, la prevalencia de estos animales entre todos los terneros recién nacidos disminuyó considerablemente, de 0,5% a menos de 0,03%. El número de las explotaciones de ganado con animales PI también disminuyeron del 3,44% en 2011 a solo el 0,16% en 2016. Un gran número de animales sanos y totalmente susceptibles se enfrentan ahora al virus de la BVD, que todavía es presente en la población ganadera alemana, el reto de los próximos años será la identificación de los animales PI restantes de la manera más rápida y eficiente posible, y la protección eficiente de granjas de reinfección (Wernike, 2017).

El programa suizo de control de BVD comenzó en 2008. Debido a la alta prevalencia de BVD (> 80% de ganado con anticuerpos positivos contra BVD) en la población bovina nacional, la estrategia difirió del enfoque escandinavo: en el primer año, todo el ganado suizo fue investigado virológicamente, y PI el ganado fue retirado. Durante los siguientes cuatro años (2009-2012), todos los terneros recién nacidos fueron examinados BVDV utilizando muestras de orejas. Estas



medidas redujeron la prevalencia de IP del 1,3% al 0,02% [49]. Desde 2013, existe un plan de vigilancia serológica. Los rebaños lecheros se controlan con leche a granel las muestras y grupos de animales en hatos no lecheros se controlan mediante serología sanguínea. Como en Escandinavia y Austria, se prohibió la vacunación contra la BVD. Al controlar la DVB sin vacunación, las fases finales del programa presentan una importante Problema: en las poblaciones bovinas con DVB endémica, la seroprevalencia suele ser alta y puede exceder 90% de los animales. Las nuevas infecciones de rebaños por BVDV no tienen consecuencias dramáticas, ya que hay relativamente pocos bovinos susceptibles. Con la eliminación sistemática de animales PI, las infecciones la presión se reduce considerablemente y la población de ganado se vuelve seronegativa. Reintroducción de BVDV en rebaños susceptibles da como resultado un daño máximo con respecto a la enfermedad clínica aguda y efectos sobre la fertilidad. Este efecto ha sido reportado en casi todos los países con control sistemático. programas sin vacunación (Moennig, 2018).

En este estudio realizado en Indonesia, se examinaron 46 muestras sanguíneas tomadas de toros destinados a ser donadores de semen en Centros de Inseminación Artificial. Las muestras se analizaron para detectar anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina. 17,3% (8/46) de muestras resultaron positivas (Yavru, 2013).

En un análisis de resultados y eficacia del programa voluntario de control de DVB en Holanda señalan “El programa se basó en una prueba y un enfoque de sacrificio a nivel de rebaño, controlando periódicamente el estado de vDVB mediante pruebas al ganado joven para anticuerpos contra el vDVB”. Se muestreo a 31 975 animales procedentes de 4857 hatos, reportando una seroprevalencia general del 24%, 23% y 16% en los años 2007, 2009 y 2011 (Van Duijn, 2019).



El objetivo del estudio fue investigar la infección persistente (IP) del virus de la diarrea viral bovina (BVDV) junto con su coexistencia entre el título del anticuerpo BVDV y el virus BVD en la sangre de vacas lecheras Holstein. Solo grandes granjas comerciales (cada contenían <1000–3000 vacas no vacunadas). En total, se muestrearon al azar 140 vacas; entre > 3 meses a casi 10 años de edad. Inmunoabsorbente ligado a enzimas indirecto ensayo (ELISA) y reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) se utilizaron para detectar anticuerpos y virus del BVDV, respectivamente. Simultáneamente, Se utilizaron muestras de sangre completa agrupadas en grupos de 10 animales para la detección molecular del BVDV. Los resultados revelaron que 138 (98,56%) fueron positivas para el anticuerpo BVDV, mientras que el antígeno BVDV se detectó solo en 2 (1,42%) vacas, que fueron negativos para el anticuerpo BVDV y por lo tanto se consideraron vacas con infección persistente (IP). También se volvieron a probar 3 semanas de diferencia. Dado que los resultados mostraron la fuerte coexistencia entre seropositividad y virus BVD, en el ganado lechero infectado rebaños, la combinación de ELISA simple y la estrategia de RT-PCR de sangre total combinada podría ser un enfoque alcanzable para detectar IP animales (Garoussi, 2019).

2.2.2.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en América del Sur.

Una investigación realizada en Barinas, Venezuela, se determinó la presencia de anticuerpos específicos contra el virus de la DVB en suero, mediante la prueba de ELISA indirecta; 353 sueros resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra el vDVB, indicando una prevalencia general de 63,2% (Nava, 2013).



Con el fin de determinar los factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de DVB en vacas y novillas no vacunadas en el estado Yaracuy, se realizó un muestreo sanguíneo a 460 animales provenientes de 42 predios. Usando la técnica de ELISA indirecto. La prevalencia de DVB fue de 55,43%. Se demostró además que el número de animales positivos se incrementó con la edad y el tamaño del rebaño (Corro, 2017).

En un trabajo de investigación en Guatemala, no se encontraron muestras positivas a la presencia de anticuerpos frente al vDVB, mediante la prueba serológica de ELISA indirecto (Santizo, 2019).

En una investigación en municipios del Cauca – Colombia, con vacunos de diferentes razas, usando el método diagnóstico de ELISA competitivo, se reportó una seroprevalencia general del 42.82% (Ordoñez, 2019).

2.2.3.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en Perú.

A nivel nacional, el SENASA realizó estudios de caracterización de DVB, NB y RIB en todo el territorio peruano, en ganado bovino criados preferentemente de manera extensiva. Se usó la técnica diagnóstica ELISA indirecta con el kit Herdcheck* BVDV Ag/Serum Plus. Se analizaron 4580 sueros de bovinos a nivel nacional. La prevalencia encontrada en el presente estudio a nivel nacional fue de $2.51\% \pm 0.45$; $20.33\% \pm 1.17$ y $27.40\% \pm 1.29$ para la DVB, NB y RIB, respectivamente. Para el departamento de Puno se reportó una prevalencia para Diarrea Viral Bovina de $2.80 \pm 1.50\%$, trabajándose con un total de 464 muestras, de las cuales 13 muestras resultaron positivas, mientras que la prevalencia predial reportada fue de $24.44 \pm 12.56\%$, encontrándose 11 predios positivos de un total de 45 predios muestreados (SENASA, 2011)



En una investigación con el objetivo de determinar la seroprevalencia del vDVB en bovinos en la provincia de Huamanga, y en la provincia de Cangallo, Ayacucho. Se obtuvieron 385 muestras sanguíneas de vacunos sin historial de vacunación. la prueba diagnóstica usada fue ELISA indirecto. El 75.3% de los animales presentaron anticuerpos contra el vDVB. El porcentaje de hembras seroreactoras fue de 75.3% mientras que en los machos el 75% resulto seropositivo. (Bautista, 2011).

En un estudio en Moquegua en el año 2014 se reporta una seroprevalencia general de 29.63% frente al virus de la Diarrea Viral Bovina. En la variable edad de los bovinos (menores de 2 años y mayores de 2 años) se encontró 9.68% y 42%, respectivamente. El factor sexo fue de 25% y 29.87% para machos y hembras, respectivamente. En estado reproductivo en vacas gestantes fue de 33.33% y en vacas vacías 45.45% (Suni, 2014).

En una investigación realizada en Yauri, Espinar – Cusco; con muestras sanguíneas de 119 vacunos, se reportó una seroprevalencia general frente al vDVB de 58.8%; según estado productivo 58.8% para vacas en seca y 71.2% para vacas en lactación; según sexo 50.0% para machos y 60.2% para hembras (Huacasi, 2018).

En un estudio con el objetivo de determinar la seroprevalencia del vDVB en hatos lecheros del Valle del Mantaro, Junín, mediante la técnica de ELISA. Se tomaron 425 muestras sanguíneas. La prevalencia muestral frente al vDVB fue 66.3% y la prevalencia/hato de 64.8%. Existió asociación positiva entre altas prevalencias de DVB con la presencia de vacas repetidoras, abortos y nacimientos anómalos (Arauco, 2018).



Una investigación para determinar el grado de relación entre la prevalencia de diarrea viral bovina con la producción láctea en vacas de la Provincia de Anta, muestras sanguíneas tomadas de 320 vacas en producción. Se encontró una seroprevalencia de diarrea viral bovina de 65.31%, la producción láctea de vacas negativas fue de 18.21 kilogramos por vaca/día y en las positivas fue de 11.64 kilogramos por vaca/día; existiendo una correlación negativa, disminuyendo la producción láctea en menos de 6.5 kg de leche (Cancio, 2019).

La investigación se realizó con el objetivo de determinar la dinámica de la seroconversión de diarrea viral bovina (DVB), así como la presencia de animales persistentemente infectados (PI) con el virus de DVB en fundos ganaderos de dos estaciones experimentales de la Universidad Nacional del Centro del Perú: Se utilizaron 111 bovinos Brown Swiss y 39 bovinos Holstein. Se realizaron tres evaluaciones (agosto de 2015, febrero y agosto de 2017) para detectar anticuerpos séricos contra vDVB mediante la prueba de ELISA. La prevalencia promedio de DVB en la EEA El Mantaro fue 73.5%. Para la GA Yauris, la prevalencia promedio de DVB fue 16.67% (Arauco, 2020).

2.2.4.- Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en la región Puno.

La investigación tuvo por objetivo determinar la seroprevalencia del virus de la diarrea viral en bovinos criollos de Melgar, Puno. Se trabajó con 347 muestras de sangre de bovinos para la detección de anticuerpos mediante la prueba de neutralización viral. El 48.7% de los animales presentó anticuerpos contra el vDVB. Las altas tasas de prevalencias de anticuerpos indican intensa actividad viral; por lo tanto, sugieren la existencia de factores que favorecen la difusión viral como los eventos feriales ganaderos y la ineficiente falta de control en el tránsito interno de animales (Quispe R. , 2012).



En una investigación en Huacullani - Chucuito a fin de determinar los anticuerpos frente al vDVB; se evaluaron 92 animales entre jóvenes y adultos; además la condición de gestación (vacía y gestante). Los resultados reflejan una prevalencia general de 23.91%; para la variable edad se obtuvo el 12.50% para animales jóvenes y el 27.94% para animales adultos; referente a la condición gestación se obtuvo el 21.74% para los animales gestantes y el 24.64% para las vacías (Ramos, 2016)

Con el fin de determinar la seroprevalencia del vDVB en el CIP Chuquibambilla, se trabajó con 90 bovinos hembras de las razas Brown Swiss, Charoláis y Angus, las muestras de suero sanguíneo fueron sometidas al método de diagnóstico de ELISA. Los resultados muestran una seroprevalencia general del vDVB de 34,44 %; el % de seropositivos a DVB fue de 16,67%, 15,56% y 2,22% en bovinos Charolais, Brown Swiss y Aberdeen Angus, respectivamente; según edad, el % de seropositivos a DVB en crías fue de 12,22%, jóvenes del 0,00% y adultos de 22,22% (Soto, 2018).

El estudio de investigación fue realizado en el CIP Chuquibambilla UNA - Puno, con el objetivo de determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y diarrea viral bovino (BVD) en vacas Brown Swiss, Criollo, Charoláis y Aberdeen Angus, considerando las variables sexo y edad. Se trabajó con 79 muestras sanguíneas de vacas, utilizando la prueba de ELISA. Los resultados obtenidos de seroprevalencia general de anticuerpos frente al vDVB en vacas del CIP Chuquibambilla fue de 44.3 %. Según razas se encontró prevalencias en vacas Criollo 42.1%, Brown Swiss 23.1%, Aberdeen Angus 55.0% y Charoláis 71.4% (Yana, 2018).



En una investigación realizada en vacunos Brown Swiss de Paucarcolla – Puno; utilizando la prueba diagnóstica ELISA, la seroprevalencia general del vDVB fue de 60.44 %; según sexo fue de 33.33 % y 41.18%, para la edad fue de 37.93% y 70.97% para jóvenes y adultos, respectivamente; en estado reproductivo (preñadas y en vacías) fue de 75% y 73.33% y finalmente el estado productivo (vacas en producción y vacas en seca) fue de 75% y 60%. (Choquenaira, 2018).

En un estudio realizado en vacunos Brown Swiss de Taraco, mediante la prueba de ELISA; la seroprevalencia general fue de 68.89%, según edad se observó una seroprevalencia (83.60%) en adultos que en animales jóvenes (37.93%); para la característica sexo se observó una mayor seroprevalencia (70%) en machos que en hembras (21.05%); según estado productivo para vacas en seca fue de 93.33% y para vacas en producción de 86.67%, según estado reproductivo para vacas vacías fue de 87.50% y para vacas vacías de 66.67% (Quispe N. , 2018)

El estudio se realizó en Vilque- Puno, con el objetivo de determinar la seroprevalencia del vDVB, se trabajó con 90 muestras sanguíneas de vacunos Brown Swiss. El análisis fue mediante la prueba de ELISA indirecta. Los resultados indican una seroprevalencia general de 65.56%; según sexo en machos fue de 45.45% y en hembras 52.94%, según edad los animales menores de 2 años presentaron 50.00% y en mayores de 2 años de 72.58%; según estado reproductivo fue de 64.29% para las vacas preñadas y 83.33% para las vacas vacías; según estado productivo fue de 81.25% para vacas en lactación y 57.14% para las vacas en seca (Huaylla, 2018).



En un trabajo de investigación en Azángaro, Puno con el objetivo de determinar la seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacunos Brown Swiss se tomó 91 muestras sanguíneas, sometidas a prueba ELISA; se determinó una seroprevalencia general de 32.97 %; según sexo (machos y hembras) fue de 17.65 % y 14.28 % para la característica Edad (2 años) fue de 15.79 % y 45.28 %; para la característica estado reproductivo (vacas vacías y vacas preñadas) se obtuvo 35.29 % y 66.67 %; para la característica estado productivo (vacas en producción y vacas en seca) se obtuvo 52.94 % y 30.00 %. (Paredes, 2021)



CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- LUGAR DE ESTUDIO

En el estudio de investigación la toma de muestras sanguíneas para el análisis serológico se realizó en la cuenca lechera del distrito de Macari, provincia de Melgar, departamento Puno, ubicado entre las coordenadas 14° 54' 24" latitud Sur y 70° 11' 51" Longitud Oeste del meridiano de Greenwich, con una extensión superficie de 673.78 km²; se halla a una altitud de 3970 msnm. El procesamiento, análisis de muestras y prueba serológica fue llevado a cabo en el Laboratorio de Salud Animal de la Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el Centro Experimental Chuquibambilla – Universidad Nacional del Altiplano Puno situado en el distrito Umachiri, provincia Melgar, departamento Puno, ubicado en las coordenadas 14° 54' 35" latitud Sur y 70° 11' 50" Longitud Oeste, a una altitud de 3850 msnm (SENAMHI, 2017).

3.2.- MATERIAL BIOLÓGICO.

3.2.1.- Determinación del tamaño de muestra.

Para hallar el tamaño de muestra se utilizó usando el método de muestreo al azar estratificado, tomando una seroprevalencia referencial de 34% (Soto, 2018) con nivel de confianza de 90 % y error de precisión de 10 % mediante la fórmula siguiente (Thrusfield, 1991):

$$n = \frac{Z^2(p)(q)}{d^2} \quad n = \frac{(1.96)^2 (0.34)(0.66)}{(0.10)^2} = 85.31 \text{ animales}$$

= 85 Animales

Donde:

- n: número de animales (muestra)



- p: proporción de la población objeto de estudio, prevalencia

-q: Complemento (1-q)

- z: equivale al valor tabular de Z a un nivel de confianza del 90%

- d: Grado de precisión del muestreo al 90%

3.2.3.- Procedimiento de muestreo y clasificación de animales.

El método de muestreo utilizado fue una selección aleatoria al azar, la clasificación por sexo de cada animal fue realizada por inspección individual.

El estado reproductivo se determinó mediante información proporcionada por los propietarios, corroborado mediante diagnóstico de preñez vía palpación rectal, para determinar estado productivo empleamos la inspección visual e información proporcionada por los propietarios.

Las muestras de suero sanguíneo se tomaron de 85 vacunos Brown Swiss del distrito de Macari, Melgar, Puno, los cuales se distribuyeron de la siguiente manera:

Tabla 1: Distribucion de muestras para la prueba ELISA

	< 2 años		> 2 años			
Sexo	Macho	Hembra	Hembras			
Estado Reproductivo	-	-	Preñadas	Vacías	-	-
Estado Productivo	-	-	-	-	Producción	En seca
N° Animales	10	15	15	15	15	15
Subtotal	25		60			
Total	85					



3.3.- MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.

3.3.1. Materiales para la toma de muestras sanguíneas.

- Agujas hipodérmicas N° 18G. x 1 pulgadas
- Tubos vacutainer de 10 mL
- Torundas de algodón hidrofílico
- Alcohol medicinal al 70%
- Guantes de látex para exploración médica
- Lapiceros de tinta indeleble.

3.3.2.- Materiales para envío de muestras

- Cajas térmicas.
- Geles refrigerantes.

3.3.3.- Otros Materiales

- Jabón carbólico
- Papel toalla
- Cámara fotográfica.
- Sogas para sujeción de animales
- Formato de registro de animales

3.3.4.- Equipos

- Estufa incubadora a 37°C
- Refrigeradora convencional
- Congeladora a -20°C
- Lector de microplacas ELISA
- Agitador Vortex
- Cronometro de laboratorio

3.3.5.- Reactivos

El kit IDEXX BVDV p80 Ab es una prueba inmunoenzimática (ELISA) usada para detección de anticuerpos contra vDVB en muestras individuales de suero sanguíneo bovino.

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

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

Fuente: Laboratorio IDEXX Europe B.V.

3.4.- METODOLOGÍA

3.4.1.- Toma de muestras sanguíneas.

- Las muestras de sangre fueron colectadas a nivel de la vena yugular directamente al vacutainer sin anticoagulante entre 5 a 8 ml, previa desinfección del lugar de extracción con alcohol yodado al 3%.
- Luego se procedió a rotular los tubos con las muestras sanguíneas para su conservación.
- Los tubos fueron colocados en posición inclinada en una gradilla y a temperatura ambiente durante veinte minutos.



- Se transportaron al laboratorio y se efectuó la centrifugación de muestras.
- Los sueros sanguíneos se aislaron en viales criogénicos que fueron debidamente etiquetadas y se mantuvieron en congelación a -20°C .
- Posteriormente las muestras fueron analizadas en el laboratorio de Salud Animal de la F.M.V.Z. con sede en C.E. Chuquibambilla, UNA- PUNO.
- Durante el muestreo se registró los datos del productor y del animal (edad, sexo, estado reproductivo y productivo).

3.4.2.- Detección de anticuerpos específicos al vDVB mediante prueba ELISA.

Procedimiento de uso del test diagnóstico.

Previa lectura del manual de uso se procedió llevar a cabo los protocolos establecidos cumpliendo estrictamente cada uno de ellos, consistente en los siguientes pasos:

1. Tomar las placas tapizadas y marcar la posición de las muestras.
2. Dispensar la Solución Tampón de Dilución N° 9, los controles y las muestras individuales de suero sanguíneo bovino: incubar 1 h a $18-26^{\circ}\text{C}$.
3. Dispensar 50 ul de solución tampón de dilución N° 9 en cada pocillo
4. Dispensar 50 ul de Control Negativo (CN) en dos pocillos.
5. Dispensar 50 ul de Control Positivo (CP) en un pocillo.
6. Dispensar 50 ul de cada muestra a analizar (una muestra por pocillo)
7. Homogenizar el contenido de los pocillos con el agitador de microplacas
8. Cubrir la microplaca e incubar a $18 - 26^{\circ}\text{C}$ por espacio de una hora.



9. Lavar Pocillos: Cumplido el tiempo de incubación, lavar cada pocillo con 300 µl de Solución Lavado.
10. Dispensar 100 ul de Conjugado diluido en cada pocillo, cubrir la microplaca e incubar por 30 minutos a 18- 26 °C
11. Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada uno con 300ul de Solución de Lavado por tres veces. Evitar que se sequen los pocillos entre los lavados y añadir el reactivo siguiente.
12. Adicionar Solución Sustrato: Adicionar 50 µl de Solución Sustrato a cada pocillo. Incubar a 23°C por 20 minutos.
13. Dispensar 100 ul de sustrato TMB n° 9 en cada pocillo.
14. Incubar a 18-26 °C por espacio de 20 minutos, lejos de la luz solar directa.
15. Dispensar 100 ul de Solución de Frenado n° 3 por cada pocillo.
16. Realizar la lectura de las densidades ópticas a 450 nm en lectora de placas ELISA.

3.4.3.- Seroprevalencia

La seroprevalencia fue determinada empleando la formula (Arauco, 2018):

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ de Muestras Positivas}}{N^{\circ} \text{ Total de Muestras}} \times 100$$

Donde.

P: prevalencia (expresada en %)

Este resultado se obtiene dividiendo el número de las muestras positivas entre el total de las muestras, se multiplica por 100 y se expresa en porcentaje (%).



3.4.4.- Método estadístico

Los datos fueron procesados y analizados mediante la prueba de Chi-cuadrado, usando el software estadístico IBM SPSS Statistics versión 22.0 y bajo la fórmula siguiente:

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

Donde:

X_c^2 = Valor de ji-cuadrado.

Σ = Sumatoria.

O_i = frecuencia de valor observado.

E_j = frecuencia de valor esperado.



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA.

Tabla 3: Seroprevalencia general para anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss en el distrito de Macari.

Especie	N° Muestras	N° Positivos	Seroprevalencia (%)
Vacunos	85	36	42.35

Los resultados que se observan en la tabla 3 sobre la seroprevalencia general frente al virus de la diarrea viral bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Macari, determinan que 36 animales que representa el 42.35 % son seropositivos.

Los datos de seroprevalencia frente al vDVB encontrada en vacunos Brown Swiss en el distrito de Macari corrobora lo afirmado por Centeno, (2018) quien plantea que “ la DVB está ampliamente difundida en la población vacuna del país y del mundo, con prevalencias que están entre 40% a 70%”; la seroprevalencia que determinamos en esta investigación que se halla dentro de ese rango; este hecho tal vez sea porque en los vacunos Brown Swiss del distrito de Macari no se realiza control alguno de la enfermedad y tampoco se lleva a cabo programas de vacunación contra la DVB.

Yavrú, (2013) reporta una seroprevalencia de 17.3% para DVB en toros destinados a donadores de semen en Turquía. Van Duijn, (2019) en Holanda, reporta una seroprevalencia decreciente de 24, 23 y 16% para los años 2007, 2009 y 2011, respectivamente. Sánchez, (2012) en Hidalgo, México reporta una seroprevalencia de 33.6%. En Venezuela, Nava, (2013) reporta una seroprevalencia de 63.2% en el estado



de Barinas, evidenciando variaciones de seroprevalencia dentro de diferentes regiones dentro del país. Haciendo una comparación que los datos obtenidos en nuestra investigación con los reportes encontrados concluimos que hay % de seroprevalencia altos en algunos países europeos, también hay % muy similares de seroprevalencia en algunos países de América del Sur; los resultados obtenidos en nuestra investigación se encuentran en el rango de resultados reportados internacionalmente y están sujetos a la variación de seroprevalencia entre regiones de un mismo país.

En Perú, Bautista, (2011) en Ayacucho reporta que 75.3% de muestras presentaron anticuerpos contra vDVB; al igual que Arauco, (2018) trabajando con 425 vacas en producción del Valle del Mantaro, encuentra una seroprevalencia general de 66.33%. Asimismo, Huacasi, (2018) en Espinar- Cusco encontró una seroprevalencia de 58.85 % de un total de 119 muestras. Estos resultados son superiores a los encontrados en el presente trabajo de investigación, esta variación puede atribuirse al hecho de haberse realizado en otras regiones geográficas, en otras razas vacunas y bajo otras condiciones de manejo ganadero y reproductivo un poco diferentes a las prácticas ganaderas realizadas en la región Puno.

El SENASA en un estudio de caracterización a nivel nacional el año 2011, reporta una seroprevalencia general de DVB para la región Puno de 2.51%. Esta cifra es inferior al obtenido en el presente trabajo de investigación; una de las razones que pueden explicar la variación puede ser el año de realización de la investigación, otra causa puede ser el tipo de muestreo y la cantidad de muestras por zona de estudio, puesto que el estudio que realizamos es más focalizado en un área geográfica, a diferencia del estudio del SENASA que abarco vacunos de crianza extensiva preferentemente.



A nivel de la Región Puno podemos afirmar que los resultados encontrados en este trabajo, en superior comparado con los resultados de Paredes, (2021) que reporta una seroprevalencia general de 32.97% en la cuenca lechera del distrito de Azángaro - Puno. Esta diferencia también refleja los diferentes rangos de seroprevalencia existentes entre diferentes áreas geográficas de una misma región, puede deberse al hecho que se aplica algunas prácticas de manejo ganadero un tanto diferentes, en el rubro reproductivo y sanitario.

Los datos obtenidos en esta investigación son inferiores a los reportes de Choquenaira, (2018) que indica seroprevalencia general de 60.44% en vacunos Brown Swiss en Paucarcolla – Puno; del mismo modo Quispe, N. (2018) indica una seroprevalencia general de 68.89% en vacunos Brown Swiss de tres comunidades del distrito de Taraco – Puno. Asimismo, Huaylla, (2018) informa una seroprevalencia de 65.56% en vacunos Brown Swiss del distrito de Vilque – Puno. Esta diferencia lo atribuimos a la zona geográfica en la que se llevó el estudio. Adicionalmente en estas zonas encontramos un mayor uso de pajillas de semen proveniente de algunos toros con certificación sanitaria dudosa, además en estas zonas existe una gran densidad poblacional vacuna que facilita el contagio horizontal en establos, ferias ganaderas, remates de ganado y transito interno de ganado entre plazas ganaderas existentes en la región, etc.

4.2. SEROPREVALENCIA DEL VDVB, SEGÚN SEXO

Tabla 4: Seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacunos Brown Swiss según sexo(machos y hembras < de 2 años) en el distrito de Macari.

Variable	N° Muestras	N° Positivos	Seroprevalencia (%)
Machos	10	03	30.00
Hembras	15	04	26.67

En la tabla N° 4 se muestra los resultados de la seroprevalencia a los anticuerpos de vDVB según sexo del animal, se trabajó exclusivamente con animales menores a 2 años de edad, en el cual los machos son los que presentan mayor prevalencia que las hembras con valores de 30.00 % y 26.67 % respectivamente. Al análisis estadístico de la prueba de Chi Cuadrado, se obtuvo que no existe diferencia significativa ($p \geq 0.05$) para la variable sexo.

Estos datos difieren con los reportes de Quispe N., (2018) quien indica una seroprevalencia de 70.0% y 21.05% para machos y hembras respectivamente en Taraco - Puno. Básicamente puede deberse al hecho que las crías hembras generalmente permanecen hasta la edad adulta en su hato de origen, teniendo mayor tiempo de exposición al vDVB circulante existente en esa zona. En relación al hallazgo de 70% de machos seropositivos en la zona de Taraco cifra muy diferente, puede estar influenciado al hecho que tal vez las muestras sanguíneas fueron tomadas de toretes comprados de otro lugar para ser dedicados al proceso de engorde en Taraco, dado que es una zona ubicada cerca del anillo cincunlacustre dedicado también al engorde de ganado procedente de otras zonas y cuencas ganaderas.

Los datos encontrados en la presente investigación difieren con los resultados encontrados por Suni, (2014) reportando 25.0% y 29.87% para machos y hembras respectivamente en el valle de Moquegua; atribuyéndose esta diferencia sustancial al factor racial, diferente área geográfica, manejo sanitario distinto.

Los resultados encontrados también difieren considerablemente con los reportes de Choquenaira (2018) que reporta 33.33 % y 41.18% para machos y hembras respectivamente en Paucarcolla – Puno. También hay diferencia con los reportes de Huaylla, (2018) que reporta 45.45 % y 52.94 % para machos y hembras respectivamente en Vilque; Estas diferencias se atribuyen al diferente manejo ganadero y condiciones climáticas propias de cada zona, asimismo al nivel de tecnificación de las explotaciones bovinas.

4.4. SEROPREVALENCIA DEL VDVB, SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO

Tabla 5: Seroprevalencia de anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss según estado reproductivo (vacas vacías y preñadas) en el distrito de Macari.

Variable	N° Muestras	N° Positivos	Seroprevalencia (%)
Vacías	15	05	33.33
Preñada	15	10	66.67

La tabla N° 5 indica una seroprevalencia para anticuerpos al vDVB en vacas del distrito de Macari según estado reproductivo, en el cual se evidencia que el 33.33 % de las vacas vacías y el 66.67 % de vacas preñadas presentan anticuerpos frente al virus.; en el análisis estadístico nos muestra que no existe diferencia significativa ($p \geq 0.05$), esto indica que los animales pueden ser infectados en cualquier etapa de su vida sin influencia del estado reproductivo en el que se encuentren.



Los datos de seroprevalencia obtenidos son superiores a los reportes de Suni, (2014) quien indica una seroprevalencia de 33.33% y 45.45% para vacas gestantes y vacías de la raza Holstein respectivamente en el valle de Moquegua – Moquegua. Un factor determinante en esta diferencia sería la raza, en la que se realizó el estudio en mención.

Hay diferencia con los reportes de Ramos, (2016) que indica una seroprevalencia de 21.74% y 24.64% para vacas gestantes y vacías en Huacullani – Puno, siendo nuestros hallazgos comparativamente muy superiores, en parte porque los animales utilizados en su trabajo pertenecían a un solo hato, no había mezclas de animales, disminuyendo el riesgo de transmisión horizontal. Además, la zona tiene baja densidad poblacional vacuna, menor tránsito de semovientes, etc.

Los datos de seroprevalencia obtenidos son inferiores a los reportados por Choquenaira, (2018) que indica una seroprevalencia de 75.0% y 73.33% para vacas gestantes y vacías respectivamente en Paucarcolla- Puno. Asimismo, Quispe, N., (2018) reporta una seroprevalencia de 93.30% y 86.67% para vacas gestantes y vacías respectivamente en tres comunidades del distrito de Taraco – Puno. También Huaylla, (2018) reporta una seroprevalencia de 64.29 y 83.33% para vacas gestantes y vacías. Esto puede deberse a que las zonas estudiadas en estos trabajos de investigación presentan mayor población vacuna, mayor densidad poblacional y mayor tiempo de aplicación de técnicas reproductivas como la inseminación artificial.

Cabe resaltar que la relación de seroprevalencia es mayor en vacas preñadas que en vacas vacías; deduciendo que la fuente de infección primeramente podría tratarse de una transmisión horizontal mediante semen proveniente de machos portadores.



Además, hay que valorizar las pérdidas económicas, en vacas preñadas cuyas crías pueden nacer PI siendo la principal fuente de infección dentro del hato, o en vacas vacías próximas a preñarse que tendrán problemas de fertilidad.

4.5. SEROPREVALENCIA DEL VDVB, SEGÚN ESTADO PRODUCTIVO.

Tabla 6: Seroprevalencia de anticuerpos al vDVB en vacas Brown Swiss según estado productivo (vacas en producción y en seca) en el distrito de Macari.

Variable	N° Muestras	N° Positivos	Seroprevalencia (%)
Vacas en producción	15	09	60.00
Vacas en seca	15	05	26.67

En la Tabla N° 6, se muestra los valores de seroprevalencias obtenidos en vacas según el estado reproductivo, encontrándose un 60.00 % y 26.67 % para vacas en producción y vacas en seca, respectivamente. Estos valores según el análisis estadístico muestran que no hay diferencia significativa ($P \geq 0.05$), lo cual indica que los animales pueden infectarse con el virus sin que haya influencia del estado productivo.

Los datos obtenidos en el presente estudio para vacas en producción y vacas en seca respectivamente, son inferiores a los reportados por Huacasi, (2018) que indica una seroprevalencia de 71.20 % y 58.80% para vacas en producción y vacas en seca respectivamente en Espinar - Cusco. Atribuimos esta diferencia al hecho que los estudios fueron realizados en diferentes zonas geográficas, aunque en la misma raza, hay factores que varían como alimentación, disponibilidad de alimento, manejo sanitario, etc. además existe tránsito de ganado adquirido de otras zonas ganaderas,



estos pudieron ser portadores del virus de la Diarrea Viral Bovina que contribuyeron a la masificación de la enfermedad en la zona de Espinar.

Los datos obtenidos en el presente estudio son inferiores a los reportados por Choquenaira, (2018) reporta una seroprevalencia de 75.0% y 60.0% para vacas en producción y vacas en seca respectivamente en Paucarcolla - Puno. También Martínez, (2018) indica una seroprevalencia de 87.50% y 66.67% para vacas en producción y vacas en seca respectivamente en tres comunidades del distrito de Taraco – Puno. Asimismo, Huaylla, (2018) señala una seroprevalencia de 81.25% y 57.14% para vacas en lactación y vacas en seca, respectivamente. Los valores de seroprevalencia encontrados en vacas del distrito de Macari difieren de estos reportes fundamentalmente por la existencia de gran movimiento de ganado existente en las plazas de ganado de Taraco, Paucarcolla y Vilque, produciéndose de esta manera la transmisión horizontal del virus de la Diarrea Viral Bovina. Asimismo, hay mayor uso de inseminación artificial con pajillas de toros presumiblemente infectados o portadores del virus, esto sumado a ciertos factores derivados de la producción de leche podrían incrementar la susceptibilidad de infectarse con el virus por parte de las vacas en producción.



V. CONCLUSIONES

- a) La seroprevalencia general del virus de la Diarrea Viral Bovina en los vacunos Brown Swiss del distrito de Macari es de 42.35 %.
- b) La seroprevalencia del vDVB en vacunos Brown Swiss del distrito de Macari, según sexo, en vacunos jóvenes menores de 2 años; es 30.00% en machos y 26.67 % en hembras.
- c) La seroprevalencia del vDVB en vacunos Brown Swiss del distrito de Macari, según estado reproductivo es 66.67 % en vacas preñadas y 33.33 % en vacas vacías.
- d) La seroprevalencia del vDVB en vacunos Brown Swiss del distrito de Macari, según estado productivo; es 60.00 % en vacas en producción y 26.67 % en vacas en seca.



VI. RECOMENDACIONES

- a) Implementar estrategias y ejecutar programas de sensibilización por parte de gobiernos locales en coordinación con SENASA, difundiendo los resultados obtenidos en los estudios de seroprevalencia a los propietarios de ganado y demás involucrados en la cadena productiva del ganado vacuno del distrito de Macari.
- b) Establecer un programa de vigilancia estricta del tránsito de ganado vacuno (puestos de control en las carreteras) a cargo del SENASA, a fin de fortalecer las labores de prevención, control y erradicación de la Diarrea Viral Bovina en la Región Puno y el país.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arainga, M. (2012). Fenotipo y genotipo del Virus de la Diarrea Viral aislado de bovinos en el Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 192 - 203.
- Arauco, F. (2020). Dinamica de seroconversion de Diarrea viral bovina y neosporosis en hatos lecheros de la sierra central del Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias Peru*, 1 - 11.
- Arbulú, C. (2020). Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Diarrea viral bovina en bovinos de crianza extensiva en los distritos de Chumpi, Coracora y Pullo de la provincia de Parinacochas, Ayacucho – 2018. (*Tesis para optar el titulo de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Científica del Sur, Lima.
- Avila, J. (2010). *Diarrea Viral Bovina*. Mexico DF: Editorial Universitaria, UNAM.
- Bautista, F. (2011). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina en las cuencas ganaderas de cinco distritos de Ayacucho. (*Tesis para optar el titulo de Medico Veterinario*. Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga, Huamanga - Ayacucho.
- Berrios, P. (2015). Diarrea Viral Bovina: Enfermedad de las mil caras. *Journal Article*, 231 - 237.
- Cancio, J. (2019). Diarrea viral bovina y su relacion con la produccion lactea en la provinvia de Anta, 2016. "*Tesis para optar el grado academico de Doctor*". Universidad Andina del Cusco, Cusco.
- Centeno, M. (2018). Identificacion del genotipo del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacas de la pampa de Anta - Cusco. (*Tesis para optar el grado de Ing. Zootecnista*). Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco.
- Choquenaira, A. (2018). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina en la raza Brown Swiss del distrito de Paucarcolla. (*Tesis para optar el titulo de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Nacional del Altiplano Puno, Puno.



- Corro, A. (2017). Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina en vacas y novillas no vacunadas en el Municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. . *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 27 - 32.
- Falkenberg, S., & Dassanayake, R. (2017). Improved detection of bovine viral diarrhoea virus in bovine lymphoid cell. *Virology*, 260 - 265.
- Fulton, R. (2020). Immune response to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) vaccines detecting antibodies to BVDV subtypes 1a, 1b, 2a, and 2c. *Vaccine*, 4032 - 4037.
- Garoussi, M. (2019). Investigation of persistent infection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in Holstein dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, 853 - 858.
- Gonzales, A. (2015). El rol de las biotecnias de reproduccion asistida en la transmision del virus de la Diarrea viral bovina. *Investigacion Veterinaria*, 35 -45.
- Huacasi, B. (2018). Seroprevalencia frente a la Diarrea viral bovina y la Rinotraqueitis infecciosa bovina en Huisacollana, Espinar , Cusco. (*Tesis para optar el grado de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Huaylla, J. (2018). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en la cuenca lechera del distrito de Vilque. (*Tesis para optar el titulo de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Nacional del Altiplano Puno, Puno.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2012). *IV Censo Nacional Agropecuario 2012: Sistema de Consulta de Resultados Censales*. Lima - Peru: Publicaciones INEI. Recuperado el 13 de Septiembre de 2020, de <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>
- Lanyon, S. (2014). Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *Veterinary Journal*, 201 - 209.
- Laura, E. (2010). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados al virus de la Diarrea viral bovina (vDVB) y Neospora caninum en tres cuencas lecheras de la region Puno. (*Tesis para optar el grado academico de Magister Scientiae*). Universidad Nacional del Altiplano Puno - Escuela de Posgrado., Puno.
- Moennig, V. (2018). Control of Bovine Viral Diarrhoea. *Pathogens*, 56 - 68.



- Nava, Z. (2013). Seroprevalencia de la Diarrea viral bovina en rebaños lecheros de dos municipios del estado Barinas, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 162 - 168.
- Ordoñez, J. (2019). Seroprevalencia de la Diarrea viral bovina en los municipios de Patia y Mercaderes, Cauca - Colombia. (*Tesis para optar el título de Ingeniero Agropecuario*). Universidad del Cauca, Cauca - Colombia.
- Paredes, J. (2021). Seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en vacunos Brown Swiss de la cuenca lechera del distrito de Azangaro. (*Tesis para obtener el título de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Pecora, A. (2017). Actualización en diarrea viral bovina , herramientas diagnósticas y estrategias de prevención. *Revista Argentina de Produccion Animal - Publicaciones INTA*, 4 - 24.
- Quispe, N. (2018). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina en vacunos Brown Swiss en tres comunidades del distrito de Taraco. (*Tesis para optar el título de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Nacional del Altiplano Puno, Puno.
- Quispe, R. (2012). El Virus De La Diarrea Viral En Bovinos Criollos De La Provincia De Melgar, Puno. *Revista de Investigaciones Veterinarias Peru*, 176 - 182.
- Ramos, D. (2016). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina en vacunos del distrito de Huacullani - Puno. (*Tesis para optar el título de Medico Veterinario Zootecnista*). Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Reichel, M. (2018). Review of diagnostic procedures and approaches to infectious causes of reproductive failures of cattle in Australia and New Zealand. *Frontiers in Veterinary Science*, 1 - 15.
- Santizo, A. (2019). Determinación de la prevalencia de diarrea viral bovina (vDVB) y su relación con los problemas reproductivos en bovinos de carne pertenecientes a finca Medio Monte, Escuintla durante el período de mayo a julio 2018- Guatemala. (*Trabajo de Graduacion para optar el grado de Licenciado*). Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.



- SENASA. (2011). *Caracterizacion de la Diarrea viral bovina, Neosporosi bovina y Rinotraqueitis infecciosa bovina en el Peru*. Lima: Publicaciones Programa de Desarrollo de la Sanidad Agraria.
- Soto, A. (2018). Seroprevalencia de la Diarrea viral bovina en el Centro de Investigacion y Produccion de Chuquibambilla- Puno. (*Tesis para obtener el grado academico de Doctoris Scientiae*). Universidad Nacional del Altiplano - Puno, Puno.
- Suni, A. (2014). Seroprevalencia frente a la Diarrea viral bovina en vacunos de la cuenca lechera de Moquegua. (*Tesis para optar el titulo de Medico Vterinario Zootechnista*). Universidad Nacional del Altiplano - Puno, Puno.
- Thrusfield, M. (1991). *Veterinary Epidemiolgy*. Edimburgo: Mac Grill.
- Van Duijn, L. (2019). Efficacy of a voluntary BVDV control programme: Experiences from the Netherlands. *Veterinary Journal*, 55 - 60.
- Wernike, K. (2017). Six Years (2011–2016) of Mandatory Nationwide Bovine Viral Diarrhea Control in Germany - A Sucess Story. *Journal Pathogens*, 42 - 50.
- Whates, D. (2020). Importance of Viral Disease in Dairy Cow Fertility. *Engineering*, 26 - 33.
- Yana, M. (2018). Seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina y la Rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos del Centro de Investigacion y Produccion Chuquibambilla, UNA PUNO. (*Tesis para optar el grado de Medico Veterinario Zootechnista*). Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Yavru, S. (2013). Serological and Virological Investigation of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) infection in Candidate Bulls before taken in Artificial Insemination Centers by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Mehmet Akif Ersoy University Saglik Bilimleri Enstitusu Dergisi*, 56 - 63.



ANEXOS

Anexo A

Tabla 7: Resultados de la lectura ELISA a una DO a 540 nm

RESULTADOS DE DVB - MACARI - EDEL MAMANI LIMACHI												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.442	2.494	2.017	0.554	0.558	2.033	0.536	1.762	2.441	0.393	1.990	0.065
B	0.468	0.476	0.365	0.506	0.553	0.347	2.010	0.460	1.931	0.369	0.312	0.085
C	1.713	0.477	1.935	2.115	0.367	2.006	1.000	2.449	1.878	0.392	0.529	0.076
D	1.688	1.782	0.291	0.384	1.892	0.735	0.473	2.129	0.650	1.832	0.384	0.111
E	0.315	0.432	1.835	1.267	0.450	0.898	0.682	0.453	1.737	0.343	0.359	0.088
F	0.375	0.360	0.311	2.199	0.362	0.812	0.409	0.358	0.619	0.397	0.129	0.083
G	2.058	0.673	0.353	0.484	0.352	0.527	1.128	2.286	2.452	0.507	0.078	0.072
H	1.216	0.846	2.629	2.299	0.460	0.500	1.608	1.250	1.809	0.413	0.081	0.076

A	-0.01	1.637	1.25	0.08	0.08	1.27	0.07	1.05	1.59	-0.05	1.23	-0.31
B	0.01	0.02	-0.07	0.04	0.08	-0.09	1.25	0.00	1.19	-0.07	-0.11	-0.30
C	1.01	0.02	1.19	1.33	-0.07	1.25	0.44	1.60	1.14	-0.05	0.06	-0.30
D	0.99	1.07	-0.13	-0.06	1.15	0.22	0.01	1.34	0.16	1.11	-0.06	-0.28
E	-0.11	-0.02	1.11	0.65	-0.00	0.36	0.18	-0.00	1.03	-0.09	-0.08	-0.29
F	-0.06	-0.08	-0.12	1.40	-0.07	0.29	-0.04	-0.08	0.13	-0.05	-0.26	-0.30
G	1.29	0.18	-0.08	0.02	-0.08	0.06	0.54	1.47	1.60	0.04	-0.30	-0.31
H	0.61	0.31	1.75	1.48	0.00	0.04	0.93	0.64	1.09	-0.03	-0.30	-0.30

Tabla 8: Resultados a la densidad óptica y el M/P en porcentaje.

N° Muestra	Densidad Óptica	M/P %	Resultado
1	0.044	-0.33	Negativo
2	0.468	0.01	Negativo
3	1.713	1.01	Positivo
4	1.688	0.99	Positivo
5	0.315	-0.11	Negativo
6	0.375	-0.06	Negativo
7	2.058	1.29	Positivo
8	1.216	0.61	Positivo
9	2.494	1.64	Positivo
10	0.476	0.02	Negativo
11	0.477	0.02	Negativo
12	1.782	1.07	Positivo
13	0.432	-0.02	Negativo
14	0.360	-0.08	Negativo
15	0.673	0.18	Negativo
16	0.846	0.31	Positivo
17	2.017	1.25	Positivo
18	0.365	-0.07	Negativo
19	1.935	1.19	Positivo
20	0.291	-0.13	Negativo
21	1.835	1.11	Positivo
22	0.311	-0.12	Negativo
23	0.353	-0.08	Negativo



24	2.629	1.75	Positivo
25	0.554	0.08	Negativo
26	0.506	0.04	Negativo
27	2.115	1.33	Positivo
28	0.384	-0.06	Negativo
29	1.267	0.65	Positivo
30	2.199	1.40	Positivo
31	0.484	0.02	Negativo
32	2.299	1.48	Positivo
33	0.558	0.08	Negativo
34	0.553	0.08	Negativo
35	0.367	-0.07	Negativo
36	1.892	1.15	Positivo
37	0.450	-0.00	Negativo
38	0.362	-0.07	Negativo
39	0.352	-0.08	Negativo
40	0.460	0.00	Negativo
41	2.033	1.27	Positivo
42	0.347	-0.09	Negativo
43	2.006	1.25	Positivo
44	0.735	0.22	Positivo
45	0.898	0.36	Positivo
46	0.812	0.29	Positivo
47	0.527	0.06	Negativo
48	0.500	0.04	Negativo
49	0.536	0.07	Negativo
50	2.010	1.25	Positivo
51	1.000	0.44	Positivo
52	0.473	0.01	Negativo
53	0.688	0.19	Negativo
54	0.409	-0.04	Negativo
55	1.128	0.54	Positivo
56	1.608	0.93	Positivo
57	1.762	1.05	Positivo
58	0.460	0.00	Negativo
59	2.449	1.60	Positivo
60	2.129	1.34	Positivo
61	0.453	-0.00	Negativo
62	0.358	-0.08	Negativo
63	2.286	1.47	Positivo
64	1.250	0.64	Positivo
65	2.441	1.59	Positivo
66	1.931	1.19	Positivo



67	1.878	1.14	Positivo
68	0.650	0.16	Negativo
69	1.737	1.03	Positivo
70	0.619	0.13	Negativo
71	2.452	1.60	Positivo
72	1.809	1.09	Positivo
73	0.393	-0.05	Negativo
74	0.369	-0.07	Negativo
75	0.392	-0.05	Negativo
76	1.832	1.11	Positivo
77	0.343	-0.09	Negativo
78	0.397	-0.05	Negativo
79	0.507	0.04	Negativo
80	0.413	-0.03	Negativo
81	1.990	1.23	Positivo
82	0.312	-0.11	Negativo
83	0.529	0.06	Negativo
84	0.384	-0.06	Negativo
85	0.359	-0.08	Negativo
86	0.129	-0.26	Negativo
87	0.078	-0.30	Negativo
88	0.081	-0.30	Negativo
89	0.065	-0.31	Negativo

Tabla 9: Prueba de Chi Cuadrado según sexo

Sexo*Seroprevalencia DVB tabulación cruzada					
		Seroprevalencia DVB		Total	
		Negativo	positivo		
Sexo	Macho	Recuento	7	3	10
		% dentro de Sexo	70.0%	30.0%	100.0%
	Hembra	Recuento	11	4	15
		% dentro de Sexo	73.3%	26.7%	100.0%
Total		Recuento	18	7	25
		% dentro de Sexo	72.0%	28.0%	100.0%
Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	.964 ^a	1	.326		
Corrección de continuidad ^b	.412	1	.521		
Razón de verosimilitud	.996	1	.318		
Prueba exacta de Fisher				.499	.263
Asociación lineal por lineal	.952	1	.329		
N de casos válidos	25				



Tabla 10: Prueba de Chi Cuadrado según estado reproductivo.

Estado reproductivo*Seroprevalencia DVB tabulación cruzada					
			Seroprevalencia DVB		Total
				positivo	
Estado reproductivo	Vacía	Recuento	10	5	15
		% dentro de Estado reproductivo	66.7%	33.3%	100.0%
	Preñada	Recuento	5	10	15
		% dentro de Estado reproductivo	33.3%	66.7%	100.0%
Total		Recuento	15	15	30
		% dentro de Estado reproductivo	50.0%	50.0%	100.0%
Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	3,773 ^a	1	.052		
Corrección de continuidad ^b	2.396	1	.122		
Razón de verosimilitud	3.862	1	.049		
Prueba exacta de Fisher				.113	.060
Asociación lineal por lineal	3.628	1	.057		
N de casos válidos	30				

Tabla 11: Prueba de Chi Cuadrado según estado productivo.

Estado productivo*Seroprevalencia DVB tabulación cruzada					
			Seroprevalencia DVB		Total
			Negativo	positivo	
Estado productivo	seca	Recuento	10	5	15
		% dentro de Estado productivo	66.7%	33.3%	100.0%
	Producción	Recuento	6	9	15
		% dentro de Estado productivo	40.0%	60.0%	100.0%
Total		Recuento	16	14	30
		% dentro de Estado productivo	53.3%	46.7%	100.0%
Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	1,222 ^a	1	.269		
Corrección de continuidad ^b	.543	1	.461		
Razón de verosimilitud	1.231	1	.267		
Prueba exacta de Fisher				.462	.231
Asociación lineal por lineal	1.181	1	.277		
N de casos válidos	30				

Anexo B

Ilustración 1: Reactivos del Kit diagnóstico ELISA para vDVB



Ilustración 2: Identificación de animales y toma de muestras



Ilustración 3: Análisis de muestras serológicas.

