

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE
NUÑO A - MELGAR**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. FRANKLIN TEVEZ HUAMÁN

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO-PERÚ

2015

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

**“SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE
NUÑO-A-MELGAR”**

TESIS

Presentado a la dirección de investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - UNA - Puno, como requisito para optar el título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

APROBADO POR:

PRESIDENTE DE JURADO:



Mg. Sc. ROLANDO D. ROJAS ESPINOZA

PRIMER MIEMBRO

:



Mg. Sc. ALBERTO SOTO QUISPE

SEGUNDO MIEMBRO

:



MVZ WILBUR R. AYMA FLORES

DIRECTOR DE TESIS

:



Dr. ALBERTO CCAMA SULLCA

ÁREA : Salud animal

TEMA : Enfermedad infecciosa

DEDICATORIA

A mi señor, Jesús, quien me dio la Fe, la Fortaleza, la Salud y la esperanza para terminar mis estudios universitarios y el presente trabajo de investigación.

A mis padres: Pedro y Silveria, por haberme dado la vida, por brindarme su apoyo incondicional en base a sus esfuerzos y sacrificios.

A Mary mi esposa y mi pequeña Dámaris, porque este logro sin ustedes no sería lo mismo.

A mis hermanos: Mónica y Moisés, por haber fomentado en mí el deseo de superación y por todo lo que hemos compartido.

AGRADECIMIENTO

Estas primeras líneas de agradecimiento a Dios porque nunca me ha dejado solo. Ha sido mi guía y mi sustento. Gracias porque estás haciendo realidad todas las promesas que me diste.

A mi familia, por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de mi carrera. Gracias por darme lo necesario para llegar hasta donde estoy.

Al Dr. Alberto Ccama Sullca, por su amistad, conocimientos y paciencia para la realización de esta tesis.

Al Presidente y Miembros del Jurado Calificador, por sus valiosas observaciones en la realización de esta tesis.

A mis catedráticos, Gracias a cada uno de ustedes, por haber compartido conmigo sus conocimientos y experiencias.

Mi más sincera gratitud a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA – PUNO, lugar de grandes enseñanzas y maestros ilustres.

ÍNDICE

INDICE	i
RESUMEN	ii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Historia de la rinotraqueítis infecciosa bovina	3
2.2 Definición y sinonimias	3
2.3 Etiología y taxonomía	4
2.4 Latencia	6
2.5 Vías de transmisión	7
2.6 Patogénesis	8
2.7 Sintomatología	9
2.8 Diagnóstico	12
2.9 Control y erradicación	17
2.10 Tratamiento	19
2.11 Antecedentes	19
III. MATERIALES Y MÉTODO	22
3.1 MATERIALES	22
3.2 METODOLOGÍA	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1 Seroprevalencia de IBR en vacunos del distrito de Nuñoa	32
4.2 Seroprevalencia de IBR según zona de crianza	34
4.3 Seroprevalencia de IBR según clase animal	36
4.4 Seroprevalencia de IBR según tipo de servicio	38
V. CONCLUSIONES	40
VI. RECOMENDACIONES	41
VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	42
VIII. ANEXOS	48

RESUMEN

Los objetivos fueron determinar la seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos del distrito de Nuñoa – Melgar según zona de crianza, clase animal y tipo de servicio. Las muestras utilizadas fueron de 160 vacunos, provenientes de las zonas Urinsaya Q'ocha y Anansaya Q'ocha entre vaquillas y vacas, servidas con monta natural e inseminación artificial. Las muestras de suero sanguíneo fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA – Puno, utilizando la prueba de Inmunoadsorción Ligada a Enzima (ELISA). La seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos del distrito de Nuñoa fue 22.50%, en las zonas Urinsaya Q'ocha y Anansaya Q'ocha se encontraron el 23.66% y 20.90% respectivamente, no se encontró diferencia significativa ($P \geq 0.05$). Entre el grupo de las vaquillas y vacas se detectaron el 12.50% y 25.00%, sin embargo en vacunos servidas por inseminación artificial y monta natural 31.58% y 9.23% de seroprevalencia respectivamente, encontrando una diferencia significativa ($P \leq 0.05$) de esta enfermedad para las variables; clase animal y tipo de servicio.

PALABRAS CLAVES: Prueba ELISA, rinotraqueitis infecciosa bovina, seroprevalencia, virus herpes bovino tipo 1.

I. INTRODUCCIÓN

Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), se encuentra distribuida en todo el mundo y es una enfermedad infectocontagiosa, causada por un herpesvirus bovino tipo 1 (HVB-1) que afecta y genera grandes pérdidas económicas en la producción de ganado vacuno. Los hatos ganaderos de nuestro país y de nuestra región sur, aún se encuentran en desarrollo; los hatos bovinos se manejan con muchas deficiencias singularmente en planes de vacunación, y cuidados sanitarios. Esta enfermedad también puede cursar de forma asintomática, del cual no tiene conocimiento los productores, al que se suma la falta de asesoramiento técnico de las instituciones públicas y privadas competentes en el campo pecuario. Rivera *et al.* (1994) menciona que el herpesvirus bovino tipo 1 es uno de los agentes más importantes que causan afecciones respiratorias, reproductivas y neurales, vacunos de cualquier raza y edad son susceptibles y también es el principal reservorio.

La forma de transmisión más importante es el contacto directo entre bovinos sanos y enfermos o portadores, por medio de la secreción nasal, ocular y genital de los animales infectados, en forma indirecta a través del personal o equipos contaminados. El virus también puede ser transmitido por el semen durante la monta natural o inseminación artificial, e incluso durante la transferencia de embriones.

Mediante la prueba de neutralización viral para la detección de anticuerpos contra el VHB-1 en los nueve distritos de la provincia de Melgar, (Pariente y col., 2006) reportó 29 % de prevalencia y SENASA, en el distrito de Nuñoa ha tenido reportes de animales con signos de IBR, al analizar los resultados arrojaron ser

positivos, aunque la cantidad de muestras tomadas fueron pequeñas, por lo que era necesario realizar investigaciones con una cantidad de muestras adecuadas y determinar la prevalencia del HVB-1, para tomar las medidas de control y prevención por parte de los productores, entidades gubernamentales e instituciones que velan por la salud animal.

Los productores del distrito de Nuñoa en la actualidad vienen impulsando e invirtiendo fuertemente en la crianza de ganado vacuno lechero, prueba de ello es que en FEGASUR-2014 ocupó el primer lugar en el juzgamiento de ganado vacuno PPC. Por otro lado junto con el avance del mejoramiento ganadero, también se va enfrentando a diferentes nuevas enfermedades reproductivas para esta zona (la aparición de estas enfermedades se le atribuye al uso de la inseminación artificial) y con el presente trabajo de investigación se confirma el reporte de la prevalencia de IBR en el distrito de Nuñoa. Por lo que planteo objetivos como: Determinar la seroprevalencia contra BHV-1 en vacunos del distrito de Nuñoa según zona de crianza, clase animal y tipo de servicio, con un número de muestras adecuadas y estratificadas, generando información actualizada más detallada.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia de la rinotraqueítis infecciosa bovina

El primer reporte de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) lo realizó Richter en 1841, en Alemania, quien describió una enfermedad venérea en un toro y en varias vacas. Esta manifestación genital era conocida con el nombre de "Exantema Vesiculosum Coitale, En 1955, es designada con el nombre de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina en una reunión de la U.S Livestock Sanitary Association (Ruiz, 1977; Blood y Radostits, 1992).

La clasificación del virus de la Rinotraqueítis infecciosa bovina como virus herpes, se llevó a cabo en 1961, ya que las características del grupo en si fueron establecidas hasta 1960 por Wildy y sus colaboradores, en 1981 el virus fue incluido dentro de la subfamilia alphaviridae que agrupa a los virus herpes que causan infecciones agudas (Rivera et al., 1994).

2.2 Definición y sinonimias

La Rinotraqueítis infecciosa bovina (Infectious Bovine Rinotracheitis (IBR), es una enfermedad contagiosa que afecta a los bovinos, se caracteriza especialmente por la aparición de una rinotraqueitis exudativa que puede afectar a los bronquios mayores de los animales infectados, acompañado de complicaciones bacterianas que agravan el curso de la enfermedad (Ruiz, 1977).

La IBR también es conocida como Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, como Rinotraqueítis Infecciosa neurótica bovina, vulvovaginitis pústular infecciosa, exantema coital bovino, rinitis necrótica, enfermedad de la nariz roja, lloriqueo de los terneros (Vilchis et al., 1991).

2.3 Etiología y taxonomía

La etiología viral de esta enfermedad IBR del ganado bovino, fue establecida en 1928 por Reisinger y Reimann, quienes pudieron transmitir la enfermedad utilizando muestras de exudados genitales filtrados con filtros que retenían a las bacterias (Babiuk *et al.*, 1996).

El agente causal es el Herpesvirus bovino Tipo 1 (HVB-1). El microorganismo puede aislarse a partir de las secreciones nasales, oculares, vaginales, del semen y lavados prepuciales (Fenner y col., 1992).

El agente causal es el VHB-1, perteneciente a la familia Herpes viridae. No se han descrito variantes antigénicas (serotipos), pero existen cepas más patógenas, cuyas impresiones de ADN están asociadas a un modelo de restricción al tipo genital (Babiuk *et al.*, 1996).

Este virus tiene la característica de mantenerse en el bovino en forma activa, es decir, sin causar enfermedad después de una infección inicial. Pero por problemas de estrés puede reactivarse y ser nuevamente excretado. Hecho que sumado a los numerosos reservorios, mantiene la enfermedad en los rebaños (Vera y col., 2006).

Este herpesvirus es sumamente contagioso y se puede extender rápidamente por un grupo de terneros. Las secreciones de los terneros afectados son extremadamente infecciosas y parecen ejercer una atracción sobre los demás animales. Puede afectar a animales de cualquier edad. Con respecto a la neumonía, suelen estar involucrados otros dos virus: el virus respiratorio sincitial bovino y el virus parainfluenza 3 (Pidone *et al.*, 1999).

El VHB-1 pertenece a la familia Herpesviridae, sub-familia Alphaherpesviridae. Este virus, así como el virus herpes bovino tipo-2 (responsable de la mamilitis bovina), virus herpes bovino tipo-4, virus herpes bovino tipo-5 (recientemente relacionado con signos neurológicos) y otros alfaherpesvirus de rumiantes están estrechamente relacionados, lo que pudiera comprometer, en algún grado, la eficacia de los métodos de diagnóstico convencionales, por la ocurrencia de reacciones cruzadas. Algunos autores señalan tres subtipos diferentes de VHB-1: El respiratorio (VHB-1.1), el genital (VHB-1.2) y el neuropatogénico (VHB-1.3) aunque este último actualmente está clasificado como virus herpes bovino tipo 5 (VHB-5) (Jones *et al.*, 2000).

El VHB-1 se inactiva rápidamente con solventes orgánicos, hidróxido de sodio al 0,5%, bases de amonio al 1%, y solución de lugol al 10%. El virus es estable a pH entre 6,0 y 9,0. Puede mantenerse activo a 37°C por 10 días, pero se inactiva en 21 minutos a 56°C y se mantiene estable a temperatura de congelación de semen por años. El VHB-1 tiene la habilidad de multiplicarse en una amplia variedad de cultivos primarios de fetos bovinos, tales como riñón, cornete nasal, piel, testículos y pulmón, así como en líneas celulares estables como la Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), lo que facilita los trabajos de laboratorio con fines de diagnóstico (Jones *et al.*, 2000).

El virus de la IBR se estima que tiene un tamaño de sus partículas completas del Bovid herpesvirus 1 de aproximadamente 115-200 nm, constituido por un núcleo central que contiene al genoma ligado a ciertas proteínas. El núcleo está rodeado por una cápside icosaédrica de 108 nm de diámetro. Esta cápside se compone de 162 capsomeros que tienen un diámetro menor a los 10 nm. Estos capsomeros se encuentran atravesados en su eje longitudinal por un

canal de 3.5 a 4 nm de diámetro. La cápside está rodeada por una envoltura compuesta de dos capas concéntricas: el tegumento y la membrana externa; la cual presenta proyecciones hacia el inferior, es decir, hacia el tegumento (Vera y col., 2006).

Su composición química sugiere que se trata de un virus con ácido desoxirribonucleico (DNA). Es sensible al éter. Se le puede inactivar en 21' a 56°C en 10 días a 37°C y en 50 días a 22°C. Es muy estable cuando el pH es de 6 a 9 pero muy lábil cuando el pH es de 4.5 a 5 (Vilchis et al., 1991).

2.4 Latencia

El virus herpes bovino tipo-1 es un importante patógeno de los bovinos, aunque la IBR ataca básicamente a los bovinos, existen reportes que indican que otras especies son también receptivas como las cabras, ovinos, cerdos, equinos, conejo y ratón (Fenner y col., 1992).

Los bovinos de todas las razas son susceptibles a la infección experimental y la infección natural ocurre, por lo general, en animales mayores de seis meses de edad, posiblemente por estar más expuestos al agente viral. Después de la infección primaria el VHB-1 tiene la capacidad de permanecer en estado de latencia en el bovino infectado, lo que le permite persistir dentro del huésped sin ocasionarle enfermedad (Rosadio y col., 1993).

El virus latente puede ser reactivado y re excretado durante la vida del animal, ocasionando recurrencia de la enfermedad y la subsecuente transmisión del virus a animales susceptibles. Las infecciones recurrentes son más comunes y menos severas que las primarias y son la fuente de mantenimiento del virus en

los rebaños. La reactivación y excreción del VHB-1 en animales con infección latente están asociadas con la disminución de las defensas, como consecuencia de cambios de las condiciones de manejo, concentraciones altas de animales, celo, parto y transporte, lo que explicaría la aparición de la enfermedad donde la fuente de infección no es evidente (Vilchis et al., 1991).

2.5 Vías de transmisión

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

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

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

2.6 Patogénesis

La patogénesis de la IBR es sumamente importante no obstante que aún haya muchos aspectos que no han sido estudiados a fondo. Tanto el virus herpes simple, que afecta a la especie humana, como la del IBR, tienen predilección por

los tejidos derivados del ectodermo del embrión, producen lesiones en las membranas mucosas de la boca, ojos y tracto genital. El virus ha sido aislado a partir de exudados respiratorios, oculares, prepuciales, vaginales, semen, heces de bovinos enfermos, leche de una vaca con mastitis, y de tumores de algunos bovinos (Pidone *et al.*, 1999).

Al inocular en toros por vía intravenosa, el virus estuvo presente durante los días 3, 6, 9 y 10 después del experimento, en los tractos respiratorios anteriores y genitales en los ganglios linfáticos inguinales. A los 6, 9 y 10 días, se encontró en el tracto respiratorio posterior. A los 9 días en la cámara anterior del ojo. A los 14 días en la faringe y a los 15 días en el epitelio nasal y en el epidídimo (Chase *et al.*, 1995).

Para que se produzca aborto, la vaca gestante tiene que ser susceptible al virus, debe haber viremia (al menos que el virus sea introducido por medio del coito), y el virus debe cruzar la placenta hacia el feto, ya sea directamente a través de la circulación fetal o indirectamente a través de la placenta y del fluido amniótico. En los casos de aborto, en total pueden transcurrir de 18 días a 3 meses desde el momento de la infección hasta la expulsión del feto. En los cotiledones de la placenta pueden ocurrir infecciones latentes sin alteraciones microscópicas (Alvarado y col., 1993).

2.7 Sintomatología

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

El mecanismo por el cuál esta enfermedad viral, favorece la aparición de estas patologías, que radica fundamentalmente, en que provocan lesiones, que afectan la barrera mucosa, facilitando la penetración de microorganismos. Además, el efecto inmunodepresor, que provocan algunos de estos virus, favorece la multiplicación bacteriana lo describe (Alvarado y col., 1993; Chaparro, 2003).

2.7.1 En la Forma Respiratoria

El periodo de incubación es de 5 a 10 días, seguido por fiebre de 40.5 a 42°C descarga nasal serosa, conjuntivitis, salivación, tos, inapetencia, depresión y baja en la producción lechera de animales en producción y en pocos días la descarga nasal y ocular cambia a mucopurulenta. Las lesiones necróticas de la nariz pueden progresar a pústulas y úlceras cubiertas por una pseudomenbrana que obstruye las vías aéreas superiores, lo que conduce a una respiración bucal (Fenner y col., 1992).

Los animales se recuperan de 5 a 10 días después del inicio de los síntomas. Sin embargo, el efecto inmunosupresor de VHB-1 sobre los mecanismos de defensa antibacteriales de los pulmones resultan en complicaciones debido a las infecciones bacterianas secundarias. La más común y severa complicación es el complejo respiratorio bovino, en la que otros agentes como la Parainfluenza 3, Virus Respiratorio Sincitial, Virus de la Diarrea Viral Bovina, *Pasteurella haemolítica o multocida* usualmente están presentes en forma concomitante (Richey, 1994; Chase et al., 1995).

El daño epitelial por los agentes virales y el exudado tisular producto de la severa inflamación pulmonar son los que favorecen la adherencia y crecimiento

de las microcolonias bacteriales que son resistentes a la fagocitosis y efectos de anticuerpos y antibióticos permitiendo el rápido descenso al tracto respiratorio inferior (Zanabria et al., 2000).

Una frecuente complicación en la forma respiratoria es el aborto que puede ocurrir entre la tercera y sexta semana posterior a la infección principalmente en vacas de 5 a 8 meses pudiendo abortar hasta un 25% de las vacas preñadas (Gómez, 2003).

2.7.2 En la Forma Genital

La infección, producto del coito de un animal susceptible al VHB-1 con uno infectado con este virus, puede ocasionar en hembras vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV) o en machos balanopostitis (IPB), dentro de 1 a 3 días de la cópula. Este proceso no afecta la calidad del semen ni la capacidad reproductora del animal pero puede generar un estado de impotencia transitoria. El examen ocular revela edema, enrojecimiento y pequeñas pústulas en la mucosa de la vulva o pene, acompañadas en algunos casos con secreción mucopurulenta (Chase et al., 1995).

La fase aguda dura de 2 a 4 días y las lesiones curan en 10 a 14 días después del inicio de la enfermedad. Otra particularidad del VHB-1 es la capacidad de ocasionar endometritis aguda o crónica, ooforitis, folículos necróticos y focos de necrosis del cuerpo lúteo, que se traducen en fallas temporales de la concepción, usualmente después de la infección primaria, cuando se inoculan cantidades de virus en el útero a través de la monta natural (toro excretando VHB-1 en el semen) o de la inseminación (semen contaminado con VHB-1). En caso de preñez, puede ocasionar la muerte temprana del

embrión, lo cual es sospechado por la prolongación de los ciclos estrales (Blood y Radostits, 1992).

2.7.3 En la Enfermedad Ocular

Puede presentarse sola o acompañada de la forma respiratoria. Se observa inflamación y enrojecimiento de la conjuntiva, así como secreción ocular abundante, al principio clara y después mucopurulenta. Puede causar opacidad de la córnea y queratitis. El aborto en algunos casos es elevado (Blood y Radostits, 1992).

2.7.4 En la Enfermedad Nerviosa

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

Este neurogenico VHB-1 esta genéticamente y antigénicamente relacionado a VHB-1. Sin embargo a diferencias genéticas y clínicas se le ha denominado Virus Herpes Bovino 5 (Alvarado y col., 1993).

2.7.5 En la Enfermedad Digestiva

Afecta terneros de una a tres semanas, causando fiebre, dificultad respiratoria y diarrea, lesiones necróticas de color blanco aparecen en la mucosa del tracto digestivo. La enfermedad evoluciona en forma aguda con alta mortalidad (Martin y col., 1997).

2.8 Diagnóstico

Para el diagnóstico de la IBR es muy importante evaluar la historia clínica, estudiar los signos clínicos y observar las diferentes lesiones que se presente en los animales vivos, y en las necropsias en los animales muertos (Blood y Radostits, 1992).

Al momento de la recolección de la muestra debe ser la adecuada y la apropiada conservación para su envío al laboratorio. En forma general, podemos decir que para un diagnóstico eficiente de IBR existen tres tipos de pruebas (Palomino, 2004).

2.8.1 Diagnóstico de Laboratorio

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

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

Las técnicas de laboratorio son:

a) Pruebas directas

Se basan en el aislamiento del virus (cultivo celular), detección de antígenos virales (ELISA, Inmunofluorescencia o Inmunohistoquímica) o de material genómico del mismo (PCR). Para que estas pruebas tengan éxito es necesario recolectar, mediante hisopos estériles, preferiblemente durante los primeros tres días de iniciados los síntomas clínicos (fase aguda), muestras de secreciones nasales y/o oculares de animales que presenten enfermedad respiratoria y de secreciones vaginales, cuando se sospecha de la forma genital. Las muestras se introducen en tubos estériles cerrados herméticamente con 2 ml de solución salina buferada pH 7, adicionada de penicilina (100 unid/ml), estreptomycin (100 g/ml) y anfotericina-B (2,5 g/ml). De no conseguir el medio, utilizar solución fisiológica estéril. Es importante que las muestras sean conservadas en una cava con hielo y remitidas al laboratorio de inmediato, anexando la información referente a la finca (nombre, ubicación, propietario, teléfono), población y número de animales enfermos, síntomas observados, identificación de los bovinos muestreados, señalando fecha de inicio de la enfermedad y tipo de muestras. En caso de abortos, son de gran utilidad para el diagnóstico, trozos de hígado, bazo, riñón y pulmón de fetos abortados, así como de placenta. Estos tejidos se colecta en bolsitas plásticas o frascos herméticamente cerrados, lo más estéril posible y enviados al laboratorio (Rivera y col., 1993; OIE, 2000).

b) Pruebas indirectas

Tienen como fundamento la detección de anticuerpos específicos contra el VHB-1, usualmente mediante la Seroneutralización (SN), la cual es una prueba de referencia internacional; o ELISA, ambas de alta sensibilidad y especificidad,

por lo que son las más utilizadas en los laboratorios de diagnóstico. Estas pruebas pueden ser utilizadas con tres objetivos diferentes:

Para determinar si el VHB-1 está circulando en un rebaño se recolecta una muestra de sangre (sin anticoagulante) de un número representativo de animales entre 7 y 12 meses, no vacunados contra este virus (Prueba puntual), para determinar la presencia de anticuerpos específicos. Su detección confirmaría una infección natural por VHB-1, ya que los anticuerpos calostrales desaparecen a los seis meses de edad (Wellenberg et al., 1998; Mars et al., 2000).

2.8.2 Diagnóstico Confirmativo de IBR

En animales con signos clínicos compatibles con esta enfermedad se procesan muestras pareadas de suero (prueba de titulación con sueros pareados), recolectadas preferiblemente durante los primeros tres días de haber enfermado el animal y otra con tres o cuatro semanas de intervalo. La ocurrencia de seroconversión, en otras palabras, la detección de anticuerpos en la segunda muestra de un animal que resultó negativo a la primera o el incremento en cuatro veces de los niveles de anticuerpos en la segunda muestra con relación a la primera, constituirá un diagnóstico inequívoco de que VHB-1 es responsable de la enfermedad en curso. Podría ser de utilidad la detección de seroconversión para diagnóstico de aborto por VHB-1, al análisis de muestras de suero colectadas el momento del aborto y 4 semanas después (Ríos y Alberto, 2000).

Para medir la propagación del VHB-1 en una población bovina no vacunada se determina la proporción de bovinos seropositivos en una muestra aleatoria y representativa de dicha población, usualmente, alrededor del 10% (Babiuk *et al.*, 1996).

2.8.3 Diagnóstico Diferencial

En base a su limitación a las vías aéreas anteriores, IBR puede diferenciarse bien clínicamente de bronconeumonías enzoóticas y otras afecciones infecciosas de bronquios y pulmones, incluso cuando algunos integrantes del rebaño presentan complicaciones neumónicas. La diferenciación de la rinitis alérgica se basa en el curso y los estados acompañantes de esta última. Para asegurar el diagnóstico se recomienda aislar al agente etiológico (Blood y Radostits, 1992).

Para ello se extraen de animales recientemente enfermos, hisopados nasales, lavajes nasales, muestras de semen o tejido (linfonódulos retrofaríngeos, en terneros tejido hepático). Su examen se realiza por ELISA, IF o PCR. En los ganglios nerviosos el BHV1 se comprueba por análisis inmunohistoquímico. También es patognomónica la seroconversión, es decir un claro aumento del título de anticuerpos contra BHV mediante NT, ELISA, IIF PHA o GIEP de muestras de sueros pareados (extracción al comienzo de la enfermedad y 2-3 semanas después) (Richey, 1994).

En terneros abortados o natimortos a causa de primoinfección de la madre con BHV1 puede aislarse el agente desde placenta y cotiledones (Ríos y Alberto, 2000).

Las enfermedades provocadas por BHV-1 en terneros neonatos deben diferenciarse de diarrea neonatal, enfermedad de las mucosas, infecciones bacterianas septicémicas (*E. coli*, salmonelosis y difterioide de los terneros, lo que puede requerir estudios diagnósticos como necropsia e identificación del agente (Zanabria y col., 2000).

La latencia del BHV-1, clínicamente inaparente, cursa generalmente pero no siempre con títulos séricos específicos. Ante este dato en terneros surge el interrogante si se trata de inmunidad pasiva (materna) o activa (es decir adquirida por infección). La aclaración se logra por el test intracutáneo con BHV1 (reacción de hipersensibilidad de tipo retardado) que sólo resulta positivo en animales infectados en forma latente, en cambio resulta negativo en individuos no infectados, incluso en terneros provistos de anticuerpos maternos. Ante el resultado positivo de la prueba intradérmica subsiste el interrogante si el mismo se debe a la presencia de virus de campo o virus vacunal. Las dimensiones de la reacción cutánea de este test son un indicador del grado de inmunidad celular desarrollado por el individuo contra el BHV (Blood y Radostits, 1992).

La repetición del test cutáneo puede llevar al desarrollo de títulos (anticuerpos) a los menos pasajeros en animales antes BHV-1 negativos, con una reacción entonces positiva (Papich y col., 2003).

La diferenciación de los distintos tipos y subtipos de BHV se realiza mediante análisis de restricción y electroforesis en gel de poliacrilamida, lo que hasta ahora sólo es posible en laboratorios especialmente equipados. Las infecciones a campo o con vacuna marcadora del BHV1 pueden diferenciarse por ELISA o PCR hemático (Obando y Rodríguez, 2005).

2.9 Control y erradicación

Antes de establecer un programa de manejo sanitario en un hato, hay que considerar el beneficio económico que se va obtener (Zambrano, 2007).

2.9.1 Manejo Sanitario

Vacunar a todos los ternero mayores de cinco meses de edad. En hatos con problemas debe vacunarse a los terneros al mes de nacidos y nuevamente al cumplir los 4-5 meses (Papich y col., 2003).

Si los animales van hacer trasladados se recomienda la vacunación en su lugar de origen, 30 días antes del transporte. Vacunar al ganado de cría anualmente. Facilitar el acceso al calostro materno a los animales recién nacidos. Todos los animales que ingresen a un hato deben ser de procedencia conocida y venir acompañado de un perfil reproductivo o por lo menos con un certificado de vacunación para la IBR. Si no están vacunados, habrá que vacunarlos al momento de su arribo, además todo animal que entre al hato deberá ser puesto en cuarentena durante el período de dos semanas a partir de su arribo (Papich y col., 2003; Pidone, et al., 1999).

2.9.2 Profilaxis

Vacunar a todos los terneros mayores de 5 meses de edad. En un hato con problemas, debe vacunarse a los terneros al mes de nacidos y nuevamente al cumplir los 4-5 meses de edad. Si los animales van hacer trasladados, se recomienda la vacunación en su lugar de origen, 30 días antes del transporte. Vacunar a todo el ganado de cría anualmente. Todo animal que ingrese al hato debe ser de procedencia conocida e ingresar con un certificado de vacunación, si no está vacunado se la debe hacer al momento de su arribo y ser puesto en cuarentena por un periodo de dos semanas, evitar el estrés o tensiones prolongadas (Zambrano, 2007; Van Oirschot et al., 1996).

Controlar las infestaciones con *Dictiocaulus viviparus* en el hato, ya que se ha demostrado que este parasito puede reactivar al BHV-1; latente (Pidone et al., 1999).

2.9.3 Vacunación

2.9.3.1 Vacunas vivas modificadas

Producen signos respiratorios leves, protegen en 10 a 14 días después de la vacunación, estimando la producción de altos títulos de anticuerpos séricos. Pero si se presenta un brote, estos animales enfermarán, aunque en forma menos severa. No previenen la infección de las mucosas respiratorias. No previenen la infección latente por virus virulento de la IBR en el tracto genital, ni la reactivación de infecciones previamente existentes. Algunas están poco atenuadas, lo que puede ocasionar aborto, si se vacunan hembras susceptibles que estén en el último tercio de la gestación (Obando y Rodríguez, 2005; Van Oirschot et al., 1996).

2.9.3.2 Vacunas inactivadas

Tienen un valor muy relativo, puesto que estimulan muy poco o nada la secreción de IgA en los epitelios respiratorios. Una sola dosis produce títulos muy bajos de anticuerpos IgG, una segunda dosis producirá títulos elevados de IgG, pero se corre el riesgo de ocasionar reacciones secundarias. Se recomienda no usarlas juntamente con corticosteroides ya que habrá excreción del virus por varios periodos en los exudados genitales (Van Oirschot et al., 1996; Mars et al., 2000).

2.9.3.3 Vacunas marcadas vivas y muertas

Estas vacunas recientemente desarrolladas permiten no solo prevenir los signos clínicos después de una infección, además previenen la replicación y posterior excreción del virus y pueden ser usadas en presencia de brotes de IBR, disminuyendo la incidencia y transmisión del IBR. También permiten diferenciar animales vacunados de infectados. Consecuentemente el uso de vacunas marcadas ofrece buenas perspectivas para implementar programas de erradicación (Papich y col., 2003; Mars et al., 2000).

2.10 Tratamiento

Se recomienda el tratamiento para controlar infecciones secundarias. Se usan antibióticos, sulfas, sueros hiperinmunes, agentes enzimáticos directamente dentro de la tráquea y además, hay que compensar la deshidratación y la inanición. No está indicado vacunar en un brote de IBR (Papich y col., 2003).

2.11 Antecedentes

A nivel nacional la seroprevalencia del virus herpes bovino - 1 (VHB-1), en 12 hatos lecheros del valle de lima, el 36% de las muestras estudiadas tuvieron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1 (norte 46%, centro 13% y sur 50%) de acuerdo a la indicación de Sánchez existen prevalencias variables desde 2% a 90% de prevalencia, lo que indica que existen predios en los que puede ser por motivos de manejo, instalaciones, etc., no se presenten condiciones favorables para que se disemine la enfermedad (Sánchez, 2003).

Según reporte de (SENASA, 2010) al realizar la caracterización de la Rinotraqueitis infecciosa bovina, Diarrea viral bovina, y Neosporosis bovina en el Perú encontró positivo a nivel nacional y en el distrito de Nuñoa ha tenido reportes de animales con signos de IBR, al analizar los resultados arrojaron ser positivos.

El 67.6% (317/469) de los bovinos criollos de la provincia de Parinacochas, Ayacucho presentaron anticuerpos neutralizantes contra el VHB- 1, agente causal de la RIB, significando que estos animales fueron expuestos al virus en algún momento de sus vidas; informaciones proporcionadas por los ganaderos indican que no utilizan la vacunación contra la RIB por lo que los anticuerpos detectados fueron inducidos por el virus de campo. Los porcentajes de animales seroreactores al VHB-1 fueron similares en los 4 distritos de la provincia en estudio y el 100% de los hatos tuvieron animales seroreactores con variaciones entre 25 a 90.9% indicando que la RIB tiene amplia distribución en los bovinos de la provincia de Parinacochas (Zacarias, 2002).

Se recolectaron muestras de sangre de bovinos mayores menores a 6 meses de edad (n = 382) provenientes de nueve distritos de la provincia de Melgar, para la detección de anticuerpos contra el VHB-1 mediante la prueba de neutralización viral. La prevalencia del VHB-1 fue de $29.0 \pm 0.1\%$ (110/382), sin que hubiese diferencias entre animales jóvenes (<2 años) y adultos (2 años) (Pariente y col., 2006).

Los resultados de la prevalencia general de Rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos de la microcuenca Llallimayo, Provincia de Melgar fue de 11.88%; en las zonas arriba y abajo se encontró 11.76% y 11.95% respectivamente. En

vacunos menores de 2 años y mayores de 2 años se detectaron 11.29% y 12.24% de seroprevalencia respectivamente (Condori, 2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Lugar de estudio

El trabajo de investigación se realizó en el distrito de Nuñoa, situado al norte de la Provincia de Melgar, en la zona norte del departamento de Puno y en la parte sur del territorio peruano. Se encuentra ubicado en las coordenadas 14°13'18" latitud sur y 70°30'00" longitud oeste, a una altura de 4023 msnm. Con un clima seco frígido y precipitaciones pluviales estacionales variadas (Expediente técnico de proyecto vacunos Nuñoa, 2012).

Sus límites por el Este: Con los distritos de Antauta y Macusani, por el sur; con el distrito de Orurillo, por el Oeste; con el distrito de Santa Rosa y por el norte; con el distrito de Sicuani – Cusco y Macusani.

A nivel del distrito de Nuñoa, se cuenta con cuatro dinastías y/o sayas (Urinsaya Puna, Anansaya Puna, Urinsaya Ccocha y Anansaya Ccocha), estas están conformadas por comunidades campesinas, en ellas, también se ubican otras formas de organización campesina que aglutinan pequeños y medianos criadores, entre otros:

Urinsaya Puna y Anansaya Puna, también conocida como “zona alta”; Una zona netamente alpaquera, con un paisaje accidentado de difícil acceso y pastizales propios de la puna, donde la crianza de vacunos es insignificante.

Urinsaya Ccocha y Anansaya Ccocha, también conocida como “zona baja”; Una zona de crianza mixta (Vacunos, ovinos, camélidos sudamericanos, animales menores y otros), con praderas naturales, suelos mecanizables y en algunas comunidades con acceso a riego, donde en los últimos años se viene impulsando y orientando más a la crianza de ganado vacuno lechero (Expediente técnico de proyecto vacunos Nuñoa, 2012).

Las muestras de suero sanguíneo se analizaron en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA – Puno

3.1.2 Características de la Población

La población en el distrito de Nuñoa está constituida por 21060 vacunos (MINANG, 2013).

En la parte baja del distrito de Nuñoa (Urinsaya Ccocha y Anansaya Ccocha) los hatos se encuentran conformados por vacunos Criollos, Cruzados (Criollo-Brown Swiss) y Brown Swiss (PPC y PDP). Bajo un sistema de producción mixto y la alimentación de los vacunos consiste en pastoreo tanto en pastizales naturales y cultivados, en época de estiaje se complementa con heno de avena, ensilados y en algunos casos reciben suplementación con concentrado comercial. Referente al manejo en salud con ciertas deficiencias, los productores solicitan asistencia sanitaria al SENASA y/o Técnicos de la Municipalidad Distrital de Nuñoa. El manejo reproductivo en la zona es por monta natural y/o con la técnica de inseminación artificial, utilizando semen de procedencia Regional, Nacional y semen Importado, con precios subsidiados por Proyecto Vacunos de la Municipalidad de Nuñoa.

Para tratar de homogenizar el experimento solo se trabajó con vacunos de la zona baja, sin tomar en cuenta los vacunos Brown Swiss PDP, porque están en menor población y algunos están vacunados. No se tomó en cuenta el sexo, porque la población de toros es mínima debido a que la mayoría trabaja con inseminación artificial y los machos que nacen son destinados para cría.

El estado productivo se está obviando, porque son susceptibles vacunos de cualquier edad, raza, estado productivo etc. una vez que ingresa el Virus Herpes Bovino-1 (VHB-1) al organismo animal, se producirá anticuerpos contra este virus que permanecerá por largos periodos.

Los animales vacunados han sido descartados del experimento, por que presentan anticuerpos en la sangre contra el patógeno en cuestión y resultarían positivos a la prueba ELISA.

3.1.3 Muestra

La muestra está constituida por 160 vacunos de la zona baja del distrito de Nuñoa, provincia de Melgar. Cuya distribución se presenta en el siguiente cuadro.

CUADRO 1. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA PARA DETERMINAR, SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑOA

ZONA DE CRIANZA	CLASE ANIMAL				TOTAL
	VAQUILLA		VACA		
	MN	IA	MN	IA	
Urinsaya Ccocha	8	11	30	44	93
Anansaya Ccocha	5	8	22	32	67
TOTAL	32		128		160

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 Determinación del tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra, se determinó mediante el método de muestreo al azar estratificado, tomándose como referencia para el cálculo una prevalencia de 29 % (Pariente y col, 2006) con un nivel de confianza del 93% y un error de precisión de 7% mediante la siguiente formula (Thrusfield, 1990).

3.2.1.1 Cálculo de muestra inicial

$$n_i = \frac{Z^2 (pq)}{d^2}$$

Donde.

ni: Tamaño inicial de la muestra

z: Nivel de confianza de 93%

p: Proporción de la población objeto de estudio, prevalencia

q: Complemento 1-p

d: Precisión con lo que se generaliza los resultados, margen de error

(7%)

Resultado 161 animales como tamaño de muestra inicial.

3.2.1.2 Cálculo de muestra definitiva

$$n = \frac{n_i}{1 + \frac{n_i}{N}}$$

Donde:

n = Tamaño definitivo de la muestra

n_i = Tamaño inicial de la muestra

N = Tamaño de la población

El tamaño final de la muestra, resulta en 160

3.2.2 Estratificación de la muestra

La muestra se estratifica utilizando la distribución proporcional para cada estrato, mediante la siguiente formula (Ibáñez y Zea, 1997).

$$W_h = \frac{N_h}{N} (n)$$

Donde:

W_h = Tamaño de muestra de cada estrato

N_h = Población de cada estrato

N = Población total

n = Tamaño de muestra calculada

- La distribución de la población de animales en el distrito de Nuñoa, Según zona de crianza fue: Anansaya Ccocha 42% y Urinsaya Ccocha 58%.
- La distribución según vaca en edad reproductiva fue: Vaquillas 20% y vacas adultas 80% (Expediente técnico de proyecto vacunos Nuñoa, 2012).

3.2.3 Toma de muestras de suero sanguíneo

Se tomaron aproximadamente 5 ml. de muestras de sangre de la vena yugular, en tubo al vacío sin anticoagulante (vacutainer) a 160 vacunos. Con el fin de favorecer la formación de coágulos y suero sanguíneo, los tubos fueron colocados en posición inclinada a 45° durante 20 minutos, posteriormente los sueros sanguíneos se aislaron en viales y se mantuvo en congelación a -20 °C. hasta el momento de realizar la prueba inmunológica ELISA.

3.2.4 Metodología de ELISA por competencia

3.2.4.1 Preparación de la solución de lavado

La solución de lavado concentrado (10X) se dejó que adquiriera temperatura de ambiente y se agitó para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. Esta solución se diluyó 1/10 con agua destilada desionizada antes de emplearla (por ejemplo 30 ml de concentrado más 270 ml de agua). Preparándose en condiciones estériles, la solución de lavado puede almacenarse durante una semana entre 2-8 °C.

3.2.4.2 Preparación de las muestras

Todos los reactivos y las muestras de suero sanguíneo se pusieron a temperatura de ambiente hasta su descongelamiento.

3.2.4.3 Procedimiento de la prueba

Se tomaron las microplaca tapizadas para marcar la posición de las muestras en una hoja de trabajo y se continuó con el siguiente procedimiento:

1. Se añadió 50 μ l de solución de lavado reconstituida en cada pocillo
2. Se dispersó 50 μ l de control negativo en los pocillos A1 y A2
3. Se dispersó 50 μ l de control positivo en los pocillos B1 y B2
4. Se dispersó 50 μ l de suero problema en cada uno de los pocillos

restantes

5. Se homogenizó el contenido de los pocillos agitándolo con golpes leves
6. Se cubrió la microplaca (papel adhesivo) y fue incubado por 2 hora a 37 °C
7. Se Vacío el contenido líquido de los pocillos y se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 μ l de solución de lavado 5 veces. Se desechó el contenido líquido de todos los pocillos después de cada lavado. Tras quitar el líquido de lavado final, se eliminó el líquido residual de cada microplaca golpeándola firmemente sobre material absorbente. Evitando que las microplacas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente.
8. Se dispersó 100 μ l de conjugado de anticuerpos monoclonales específico gB en cada pocillo
9. Se cubrió la microplaca (papel Adhesivo) e incubó por 1 hora a 22 °C
10. Se repitió el paso n° 7.
11. Se dispersó 100 μ l de substrato TMB en cada pocillo.
12. Se incubó 10 minutos entre 22 °C protegido de la luz.
13. Se dispersó 100 μ l de solución de frenado n° 3 en cada pocillo para detener la reacción. Agitando suavemente para homogenizar el contenido de los pocillos.
14. Se calibró el lector en blanco con aire.

15. Se procedió a leer las densidades ópticas a 450 nm (DO 450).

16. Calcular los resultados.

Nota: Las lecturas pueden hacerse hasta 1 hora después de la solución de frenado n° 3 si las microplacas son mantenidas en oscuridad.

3.2.5 Criterio de validación

La reacción es considerada válida si la media del control negativo ($CN_{\bar{x}}$) es mayor o igual a 0.500 de DO. Además, la media del control positivo ($CP_{\bar{x}}$) debe tener un porcentaje de bloqueo superior al 80 %.

3.2.6 Cálculos

a. Cálculo de la media del control negativo.

$$CN_{\bar{x}} = \frac{CN1 A_{450} + CN2 A_{450}}{2}$$

Donde:

$CN_{\bar{x}}$ = Media del control negativo

$CN1 A_{450}$ = Control negativo 1 utilizando lector de ELISA con un lente de 450 nm.

$CN2 A_{450}$ = Control negativo 2 utilizando lector de ELISA con un lente de 450 nm.

b. Cálculo de la media del control positivo.

$$CP_{\bar{x}} = \frac{CP1 A_{450} + CP2 A_{450}}{2}$$

Donde:

$CP \bar{x}$ = Media del control positivo

$CP1 A_{450}$ = Control positivo 1 utilizando lector de ELISA con lente de 450 nm.

$CP2 A_{450}$ = Control positivo 2 utilizando lector de ELISA con lente de 450 nm.

c. Cálculo del porcentaje de bloqueo M/P de las muestras analizadas.

$$M/P (\%) = \frac{CN A_{450} - Muestra A_{450}}{CN \bar{x}} 100 \times$$

Donde:

M/P (%) = Porcentaje de bloqueo o Punto de corte

$CN A_{450}$ = Control negativo utilizando lector de ELISA con un lente de 450 nm.

Muestra A_{450} = Muestra utilizando lector de ELISA con un lente de 450 nm.

$CN \bar{x}$ = Media del control negativo

3.2.7 Interpretación de los resultados

- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo (M/P) inferior a 45% se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a IBR.
- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo (M/P) superior o igual al 45%, pero inferior al 55% se consideran sospechosas.

- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo del 55% y valores superiores se consideran positivas a la presencia de anticuerpos frente a IBR.

3.2.8 Fórmula de prevalencia

La seroprevalencia contra el VHB-1 se determinó mediante la siguiente fórmula (Thrusfield, 1990).

$$P = \frac{\text{Número de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} (100\%)$$

3.2.9 Análisis estadístico

Para analizar los resultados de la variable en estudio (Frecuencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina) se ha utilizado la prueba de Chi-cuadrado modificado, aplicando la corrección de Yates, por solo considerar dos categorías nominales, por lo que los grados de libertad para ir a la tabla es 1, lo que hace que se utilice esta corrección (Martinez, 2009), donde la fórmula es:

$$X_c^2 = \frac{\sum (|O_{ij} - E_{ij}| - 0.5)^2}{E_{ij}}$$

Donde:

O_{ij} = Valor observable de la variable IBR (z. crianza, clase animal y tipo de servicio)

E_{ij} = Valor esperado de la variable IBR (z. crianza, clase animal y tipo de servicio)

χ^2_c = Valor calculado de Chi-cuadrado

Σ = Sumatoria

0.5 = Factor de corrección de Yates



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS

INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO A - MELGAR

Las muestras de suero sanguíneo fueron analizadas mediante la prueba de Inmunoadsorción Ligada a Enzima (ELISA), obteniendo los siguientes resultados que se muestra en el cuadro siguiente:

**Cuadro 2: SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE
NUÑO A - MELGAR**

NUMERO DE ANIMALES	N° DE ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENCIA (%)
160	36	22.50

De un total de 160 muestras, 36 vacunos resultaron seropositivos, lo que representa el 22.50% (36/160) de seroprevalencia frente al Virus del IBR en vacunos del Distrito de Nuñoa.

En la provincia de Melgar (Pariente y col., 2006), en vacunos en edad reproductiva, demostró que la infección de bovinos por Virus del IBR, está presente en los 9 distritos de esta provincia, con una prevalencia del 29%; Reportando para el distrito de Nuñoa, también 29%. Estos valores son elevados en relación a nuestros resultados (22.50%). Estas diferencias son explicables debido a que el trabajo realizado por dicho autor, en la provincia de Melgar, incluyó sólo muestras de animales en edad reproductiva sin estratificar, además

en ese entonces en la zona no se realizaban vacunaciones contra esta enfermedad, actualmente algunos hatos son vacunados, razón por lo que la prevalencia de esta enfermedad ha disminuido, vale aclarar que en nuestro trabajo de investigación no se incluyen animales vacunados contra IBR.

Nuestros resultados del presente trabajo de investigación (22.50%) de seroprevalencia son superiores al reporte de (Villacaqui *et al*, 2006), quién estudió en bovinos de crianza extensiva, en tres distritos de la Provincia de San Pablo Cajamarca, donde, de 480 muestras de sangre, determinó que el 0.6% de los animales presentaban anticuerpos contra Virus del IBR. Esta diferencia se debe al tipo de manejo, en Cajamarca se practican programas de vacunaciones contra esta enfermedad, su sistema de crianza es extensiva, donde los factores de riesgo por contacto se minimizan, además los factores ambientales y su geografía es distinta al altiplano Puneño.

El 22.50% de animales detectados con anticuerpos contra Virus del IBR en el distrito de Nuñoa, es inferior al reporte de Rosadio *et al.*, (1993), quienes, en los establos de engorde de vacunos de la ciudad de Lima, encontraron el 36.5% de prevalencia. Así mismo, (Sánchez, 2003) estudio en vacunos del valle de Lima, reportando la presencia de anticuerpos contra Virus del IBR en el 36.0% de los animales. Esta diferencia se debería a que los vacunos en Lima son criados en forma intensiva que facilita la diseminación del agente viral, donde las condiciones ambientales son favorables, mientras que en Puno la crianza es extensiva y la diseminación de este agente viral es limitado,

Zacarias, (2002) reporta en la provincia de Parinacochas, Ayacucho, en bovinos criollos de crianza extensiva, se encontró una prevalencia de 68%, el

autor indica que los animales estaban sujetos a factores estresantes como: sequía, falta de pastos, desnutrición y parasitosis principalmente; estos factores podrían favorecer la reactivación del VHB-1 con presentación aguda del IBR con eliminación viral y transmisión a los animales susceptibles. Particularmente en nuestra opinión esta diferencia con nuestros resultados no solo se debería a los factores estresantes, más bien nos parece que en Ayacucho esta alta prevalencia de IBR se debería a que, en su afán de mejorar su ganado los productores de esta zona hayan introducido un toro portador del agente patógeno en cuestión.

4.2 SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO, SEGÚN ZONA DE CRIANZA.

En el cuadro 3, se observa la seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos del distrito de Nuñoa, según zona de crianza.

Cuadro 3: SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO, SEGÚN ZONA DE CRIANZA.

ZONA DE CRIANZA	Nº DE ANIMALES EVALUADOS	Nº DE ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENCIA (%)
Urinsaya q'ocha	93	22	23.66
Anansaya q'ocha	67	14	20.90
	160	36	22.50

($P \geq 0.05$)

$X^2_c = 1.3611$

$X^2_{t 0.05, 1} = 3.84$

De 93 animales procedentes de la zona denominada Urinsaya Q'ocha, 22 resultaron positivos a anticuerpos contra el Virus del IBR, lo que representa el 23.66% de seroprevalencia. Por otro lado, de 67 animales procedentes de la zona Anansaya Q'ocha, 14 resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra el patógeno en cuestión, que representa el 20.90% de seroprevalencia. Para esta variable estadísticamente no se encontró diferencia significativa ($P \geq 0.05$). La similitud de los resultados entre Urinsaya Q'ocha y Anansaya Q'ocha, se debería a que el manejo de vacunos en ambas zonas, son similares, es así que tienen la misma geografía, los factores climáticos son muy parecidas, deduciendo que los vacunos están uniformemente expuestos a los patógenos. Algunas diferencia entre ambas zonas, que supusimos que haría variar, sería que; Anansaya Q'ocha tiene acceso a riego, pastos cultivados, por lo tanto la proporción de vacunos mejorados es mayor, estos animales participan en eventos feriales y algunos productores de esta zona utilizan vacunación.

4.3 SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO A, SEGÚN CLASE ANIMAL.

En el cuadro 4, se muestra la seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos del distrito de Nuño a, según clase animal.

Cuadro 4: SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO, SEGÚN CLASE ANIMAL

CLASE ANIMAL	N° DE ANIMALES EVALUADOS	N° DE ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENCIA (%)
Vaquillas	32	4	12.50 b
Vacas	128	32	25.00 a
	160	36	22.50

(P≤0.05)

 $\chi^2_c = 20.250$ $\chi^2_{t0.01, 1} = 6.635$ $\chi^2_{t0.05, 1} = 3.841$

De 32 animales catalogadas como vaquillas, 4 resultaron positivos a anticuerpos contra el Virus del IBR, lo que representa el 12.50% de seroprevalencia. Mientras que, del grupo de las vacas de un total de 128 animales, 32 resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra el patógeno en cuestión, que representa el 25.00%. Se encontró una diferencia altamente significativa (P≤0.05) entre el grupo de animales jóvenes y adultos. Lo que nos induce a atribuir, que los animales adultos estuvieron expuestos a varios factores de riesgo en mayor grado (periodo de tiempo, varias inseminaciones sin descartar IBR, situaciones estresantes, etc.)

Sánchez, (2003) en valle de Lima obtuvo una prevalencia de 43% y 12% en animales de más de dos años y menores de dos años de edad respectivamente. Así mismo (Condori, 2014) Reporta que en la microcuenca

Llallimayo, Provincia de Melgar, en vacunos menores de 2 años y mayores de 2 años se detectaron 11.29% y 12.24% de seroprevalencia, respectivamente. En ambos casos, los resultados son similares a nuestro hallazgo en el grupo de los animales jóvenes, esto se debería a que los animales jóvenes o menores de 2 años son contemporáneos y la exposición al patógeno es similar, en el factor periodo de tiempo. Es superior el resultado de Sánchez, en el grupo de vacas adultas, debido a que en Lima los animales se manejan bajo confinamiento, favoreciendo de esta manera la diseminación de los patógenos. Sin embargo, el resultado de seroprevalencia en vacas adultas, reportado por Condori es inferior al nuestro, esta diferencia es explicable debido a que en la Microcuenca Llallimayo la mayor parte de los animales son vacunados, por lo que la seroprevalencia de IBR ha disminuido notablemente, así mismo el autor indica que, los hatos ganaderos estaban conformados mayoritariamente por vacunos mejorados de la raza Brown Swiss. En cambio los productores del distrito de Nuñoa, en su gran mayoría cuenta con vacunos cruzados y criollos, por lo tanto el sistema de manejo sanitario es deficiente (medidas preventivas).

4.4 SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑOA, SEGÚN TIPO DE SERVICIO.

En el cuadro 5, se muestra la seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos del distrito de Nuñoa, según tipo de servicio.

Cuadro 5: SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO, SEGÚN TIPO DE SERVICIO.

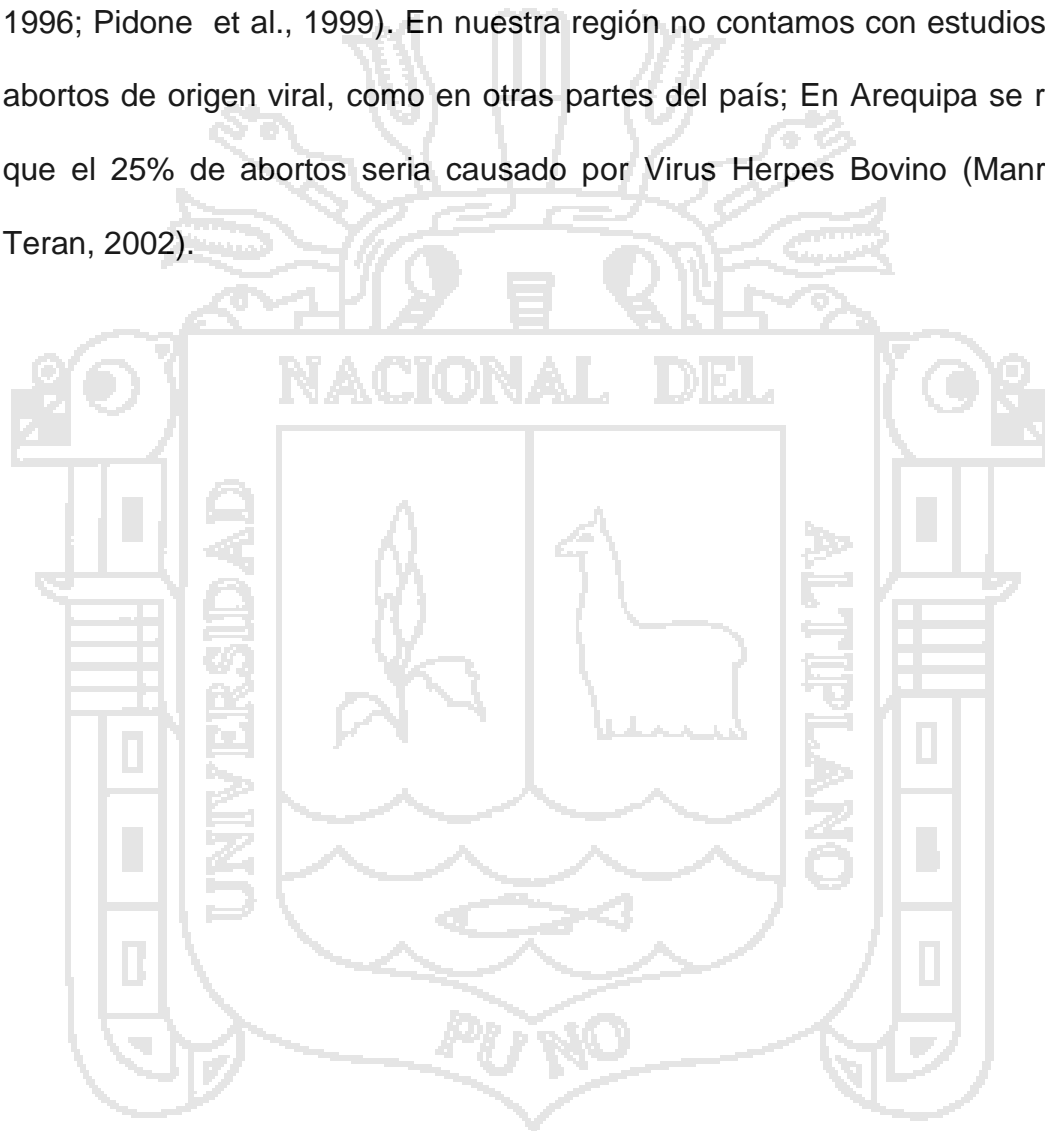
TIPO DE SERVICIO	Nº DE ANIMALES EVALUADOS	Nº DE ANIMALES SEROPOSITIVOS	SEROPREVALENCIA (%)
Monta natural	65	6	9.23 b
Inseminación artificial	95	30	31.58 a
	160	36	22.50

(P≤0.05)

 $X^2_c = 14.6944$ $X^2_{1, 0.01, 1} = 6.635$ $X^2_{1, 0.05, 1} = 3.841$

De 65 muestras de bovinos hembras servidas por monta natural, se obtuvo 6 reactivos seropositivos, lo que representa el 9.23%; sin embargo de 95 muestras de bovinos hembras servidas por inseminación artificial, 30 resultaron positivos a anticuerpos contra el Virus del IBR, lo que representa el 31.58% de seroprevalencia. Resultando con una diferencia altamente significativa ($P \leq 0.05$), entre vacunos servidas por monta natural e inseminación artificial. Lo cual indicaría que los animales servidas por inseminación artificial estarían más expuestos a los factores de riesgo, debido al uso de semen no certificado, pero también la transmisión puede darse en forma indirecta a través del personal y equipos contaminados, fetos abortados, de este modo favoreciendo la transmisión del agente viral. Mas en vacunos mejorados, por que reciben de alguna manera trato preferencial, es decir, generalmente duerme bajo techo, toma en bebederos, casi siempre es inseminada y por la docilidad es más

manipulada. En cambio las vacas no inseminadas sufren menos estrés por que viven más libres y menos expuestos a factores de riesgo. Es importante mencionar que el virus también puede ser transmitido por el semen durante la monta natural o inseminación artificial (Van Oirschot et al., 1996) e incluso durante la transferencia de embriones (Wentink et al., 1993; Engels y Ackermann, 1996; Pidone et al., 1999). En nuestra región no contamos con estudios sobre abortos de origen viral, como en otras partes del país; En Arequipa se reporta que el 25% de abortos sería causado por Virus Herpes Bovino (Manrique y Teran, 2002).

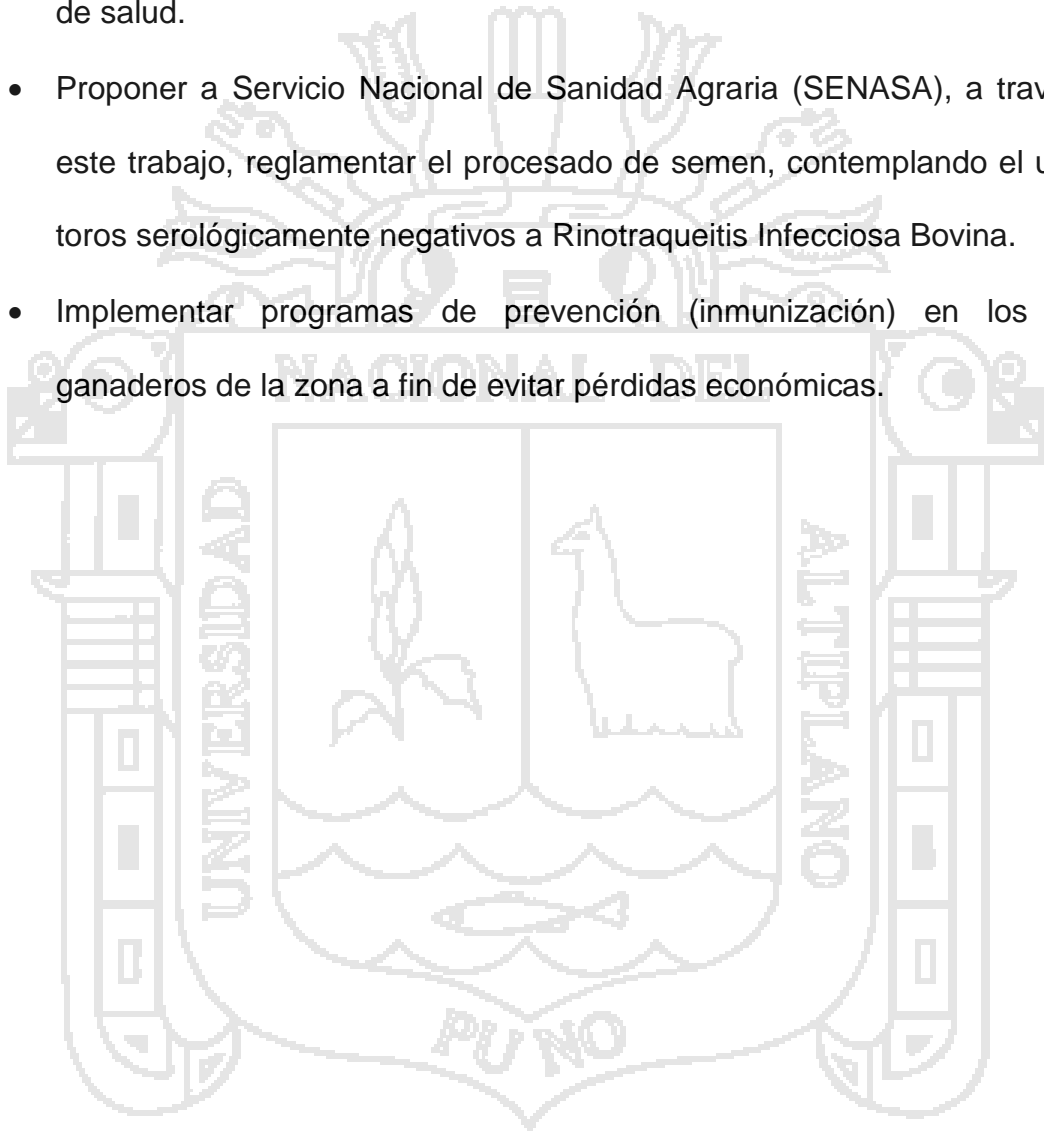


V. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa Bovina, en vacunos del distrito de Nuñoa fue 22.50%.
- La seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa Bovina en vacunos, de la zona Urinsaya Q'ocha, fue 23.66% y en Anansaya Q'ocha 20.90%, ($P \geq 0.05$).
- La seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa Bovina, en vaquillas fue 12.50% y vacas 25.00%, ($P \leq 0.05$).
- La seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa Bovina en vacunos servidas por inseminación artificial y monta natural fue 31.58% y 9.23%, respectivamente ($P \leq 0.05$).

VI. RECOMENDACIONES

- Implementar medidas preventivas en el hatu, supervisar el movimiento de ganado, restringiendo el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado de salud.
- Proponer a Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), a través de este trabajo, reglamentar el procesado de semen, contemplando el uso de toros serológicamente negativos a Rinotraqueitis Infecciosa Bovina.
- Implementar programas de prevención (inmunización) en los hatos ganaderos de la zona a fin de evitar pérdidas económicas.



VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Acosta A., M. Fernández, y A. Lora. 1967. Investigación de anticuerpos contra Rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado nativo del Perú. Rev. Cient. Nac. Pat. Anim. 7:51-56
- Alvarado A., A. Aguilar, P. Mejia, y C. Vilchis. 1993. Aislamiento y tipificación de una cepa de Herpes Virus Bovino 1, del tipo vulbovaginitis pustular infecciosa. Técnica Pecuaria del México. 31: 73-83.
- Babiuk L., S. van Drunen Littel-van den Hurk, and S. Tikoo. 1996. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. Vet Microbiol. 53: 31-42.
- Betancur C., M. Gonzales, L. Reza. 2006. Seroepidemiología de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Córdoba-Colombia Vol. 11. No. 2.
- Blood D. y O. Radostits. 1992. Enfermedades de animales domésticos. Medicina veterinaria. Séptima edición Mcgraw Gill.
- Chaparro J. 2003. Evaluación de la capacidad infectiva de una cepa de campo del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en terneros. Tesis M Sc. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNC Bogota.
- Chase C., L. Braun, J. Jessen, and D. Hurley. 1995. Studying virus cell interactions: finding new ways to prevent infectious bovine rhinotracheitis in cattle. Departments of Veterinary Science and Biology/Microbiology.
- Condori D. 2014. Seroprevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en la Microcuenca Llallimayo, Provincia de Melgar. Tesis. Universidad Nacional del Altiplano Puno

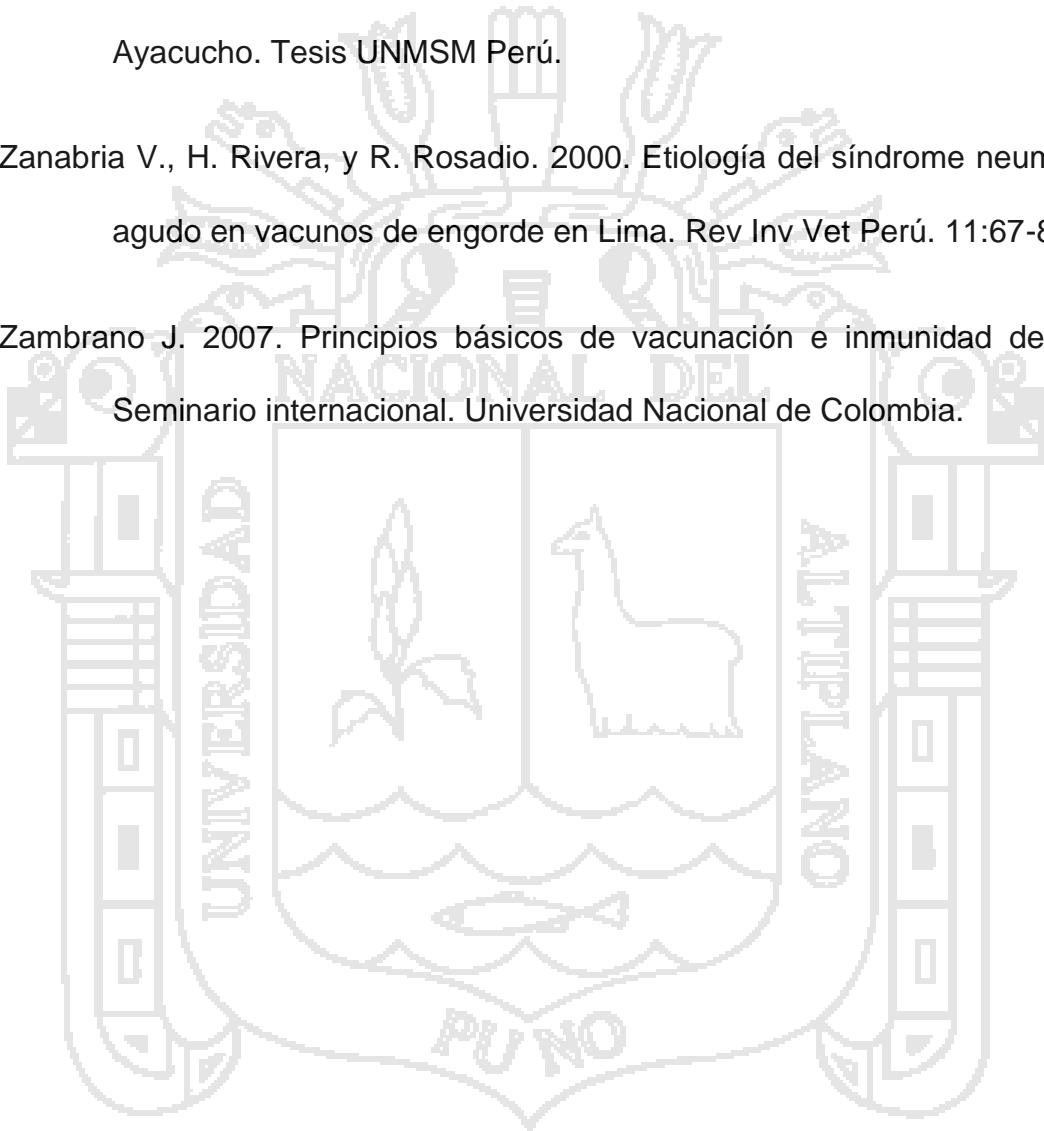
- Curro F. 2004 Estadística Básica. Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Engels M., and M. Ackermann. 1996. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet Microbiol.* 53: 3-15.
- Expediente técnico de proyecto vacunos Nuñoa. 2012. “Mejoramiento de capacidades competitivas en la crianza de ganado vacuno de leche, en comunidades de zona baja del distrito de Nuñoa, Melgar – Puno”
- Fenner F., P. Bachman, P. Gibbs, F. Murphy, M. Studdert y D. White. 1992. Herpesvirus. En: *Virología Veterinaria*. Ed Acribia. Zaragoza - España.
- Gomez N. 2003. *Epidemiología Veterinaria*. 2da Edición. CIP – Chuquibambilla. Universidad Nacional del altiplano Puno.
- Ibáñez V.Q. y W. F. Zea. 1997. Muestreo. Facultad de Ingeniería Estadística e Informática Pág. 111.
- Jones C., T. Newby, T. Holt, A. Doster, M. Stone, J. Ciacci-Zanella, C. Webster, y M. Jackwood. 2000. Analysis of latency in cattle after inoculation with a temperature sensitive mutant of bovine herpesvirus 1 (RLB106). *Vaccine*. 18: 3185-3195.
- Manrique, J., y M. Teran, 2002. Medicina de la Produccion. LAVETSUR, Arequipa. Rev. 1: 3-18.
- Mars M., M. de Jong, and J. Van Oirschot. 2000. A gE-negative bovine herpesvirus 1 vaccine strain is not re-excreted nor transmitted in an experimental cattle population after corticosteroid treatments. *Vaccine*. 18: 1975 – 81.

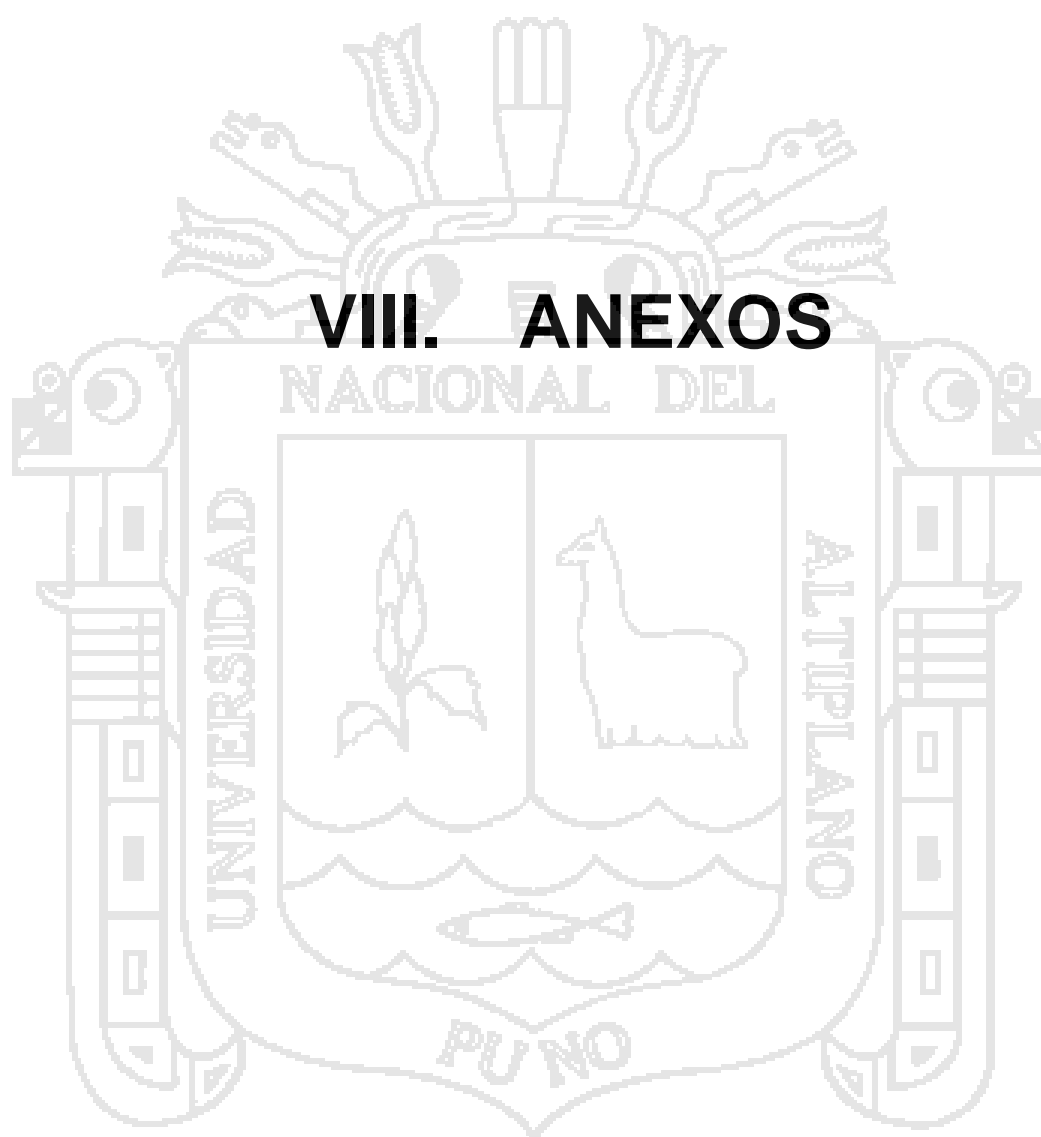
- Martin S., A. Mekk, P. Willeberg y P. Tarazona. 1997. Epidemiología Veterinaria. Principios y Métodos. Zaragoza-España. Editorial Acribia.
- Martinez M. 2009. Bioestadística Amigable. 2° Edición. Ediciones Díaz de Santos. España
- Miller J., C. Whetstone, and M. Van der Maaten. 1991. Abortifacient potential of bovine herpesvirus tipo 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. Am J Vet Res. 52: 458-461.
- MINANG. 2013. Ministerio de Agricultura. Dirección Regional Puno. Archivos de producción pecuaria, preliminares Puno 2013.
- Obando A. y M. Rodríguez. 2005. Manual de Ganadería Doble Propósito Rinotraqueitis Infecciosa Bovina y Diarrea Viral Bovina. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INIA-Maracay-Venezuela.
- OIE. 2000. Office International of Epizooties. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Infectious Bovine Rhinotracheitis / Infectious Vulvovaginitis. Ch. 2.3.5. O.I.E. Paris.
- Palomino N. 2004. Pasantía Centro de diagnóstico de ICA. Universidad Nacional de Colombia.
- Papich M., M. Heit, y J. Rivieri 2003. Fármacos Antifúngicos y Antivíricos. Farmacología y terapéutica veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza – España. p. 996-997

- Pariente E., A. Ccama, H. Rivera 2006. Anticuerpos contra el virus causante de la rinotraqueitis infecciosa en vacunos de la provincia de Melgar, Puno. Tesis de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNA Puno.
- Pidone C., M. Galosi, y M. Etcheverrigaray. 1999. Herpesvirus Bovinos 1 y Analecta Veterinaria (Argentina). 19: 40-50.
- Richey E. 1994. IBR in beef cattle (Infectious bovine rhinotracheitis/rednose). VM-55. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences.
- Ríos Z., y E. Alberto. 2000. Seroprevalencia del virus de renotraqueitis infecciosa bovina en Bovinos Criollos de crianza extensiva de la Provincia de Parinacocha- Perú
- Rivera H., A. Manchego, N. Sandoval, A. Vargas, A. Araujo, A. Gonzáles, y R. Rosadio. 1993. Aborto infeccioso en bovinos de leche del valle de Lima. Rev Inv Pec IVITA (Perú). 6: 31-37.
- Rivera H., A. Manchego, N. Sandoval, C. Morales, y E. Flores. 1994. Complejo respiratorio bovino en terneros del valle de Lima. Rev Inv Pec IVITA (Perú). 7: 35-38.
- Rosadio R., H. Rivera, and A. Manchego. 1993. Prevalence of neutralizing antibodies to bovine herpesvirus - 1 in Peruvian livestock. Vet Rec. 132: 611- 612.
- Ruiz, A. 1977. Complejo Rinotraqueitis infecciosa bovina, Vulvovaginitis postular infecciosa. Enfermedades de los Bovinos República Dominicana.

- Sánchez T. 2003. Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en Ganado lechero del valle de Lima. Tesis. UNMSM. Perú.
- SENASA. 2010. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Bolitin informativo.
- Thrusfield, M. 1990. Epidemiologia Veterinaria. P. 42. Editorial Acribia. España
- Van Oirschot, J., F. Rijsewijk, and M. Kaashoek. 1996. Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. *Vet Microbiol.* 53:43-54.
- Vera V., C. Ramirez, L. Villamil, M. Moreno y J. Jaime. 2006. Biología molecular, epidemiología y control de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina y de la Diarrea Viral Bovina. Edición Nacional Universal de Colombia. Instituto de Genética. Facultad de medicina Veterinaria y zootecnia. Colombia.
- Vilchis M., I. Alvarado y S. Aguilar. 1991. Evaluación de la vacuna TSB-2 de IBR-P13 en bovinos nacionales productores de leche. *Técnica Pecuaria México.* 29, 1.
- Villacaqui A., T. Eglinton, S. Manchego, O. Alberto y R. Bazán. 2006. Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en bovinos de crianza extensiva en la zona de Cajamarca. *Rev. Investig, Vet Perú,* Jul. Dic 2006, Vol.17, No.2, P.144-147. Issn 1609-9117.
- Wentink, G., J. Van Oirschot and J. Verhoeff. 1993. Risk of infection with bovine herpes virus 1 (BHV-1): a review. *Veterinary Quartely.* 15: 30-33.

- Wellenberg G., E. Verstraten, M. Mars, and F. Van Oirschot. 1998. ELISA detection of antibodies to glycoprotein E of bovine herpesvirus 1 in bulk milk samples. *Vet Rec.* 142: 219-220.
- Zacarias R. 2002. Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Bovinos criollos de crianza extensiva de la Provincia de Parinacochas Ayacucho. Tesis UNMSM Perú.
- Zanabria V., H. Rivera, y R. Rosadio. 2000. Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima. *Rev Inv Vet Perú.* 11:67-85.
- Zambrano J. 2007. Principios básicos de vacunación e inmunidad de hato. Seminario internacional. Universidad Nacional de Colombia.





ANEXO I

PRINCIPIOS DE LA TÉCNICA – INDEXX- IBR –ELISA GB X2

IDEXX IBR gB X2 es un ensayo inmunoenzimático para detectar la presencia de anticuerpos frente a IBR/IPV en suero o leche bovino. Esta técnica detecta también las respuestas de anticuerpos inducidas por vacunas, las cuales contienen la glicoproteína B (gB) de VHB-1. La prueba es una Inmunoadsorción ligada a enzima (ELISA) de bloqueo, con micros placas tapizadas con antígenos virales de IBR. Las muestras a analizar se diluyen y se incuban en los pocillos donde cualquier anticuerpo específico presente en la muestra frente a VHB-1 forma un complejo antígeno-anticuerpo en la superficie del pocillo. Tras el primer lavado, se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales específicos para gB, que no se unirá al antígeno de VHB-1 cuando el determinante antigénico haya sido bloqueado anteriormente por anticuerpos de la muestra a analizar. Después de otro lavado se añade a los pocillos el enzima substrato/cromógeno. En presencia del enzima, el substrato se oxida generando una coloración azul, que vira a amarillo al añadir la solución de frenado. La absorbancia se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda única de 450 nm [A (450)] o doble de 450 nm y 650 nm [A (450/650)]. El porcentaje de bloque de las muestras se calcula usando la absorbancia [A (450)] o (450/650) obtenida con la muestra analizada y un suero negativo que contiene anticuerpos no específicos (Suero de control Negativo).

ANEXO II

EQUIPOS Y MATERIALES

a. Equipos

- Estufa incubadora a 37°C
- Refrigeradora convencional
- Congeladora a -20°C
- Cronómetro
- Lector de ELISA
- Micro pipeta canal simple 20 a 200 µl.
- Micro pipeta canal simple 100 a 1000 µl
- Erlenmeyer de diferentes capacidades.
- Gradillas.
- Vasos de precipitado de diferentes capacidades
- Probetas de 100mL, 200mL.
- Bandejas para depósito de reactivos.
- Papel toalla.
- Tips.
- Aguja vacutainer N° 21G. x 2 pulgadas.

- Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL
- Tubos vacutainer de 5mL
- Pipetas automáticas o manuales
- Algodón.
- Alcohol yodado.
- Lapiceros de tinta indeleble
- Registro de bovinos

b. Reactivos

Se conservaron todos los reactivos entre 2-8 °C.

- Placas tapizadas con antígeno VHB-1
- Control positivo
- Control negativo
- Conjugado
- Substrato TMB N°12
- Solución de frenado N°3
- Solución de lavado concentrado (10X)

ANEXO III

ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON LA PRUEBA DE CHI CUADRADO

CUADRO 1. PRUEBA DE JI-CUADRADA PARA SEROPREVALENCIA DE IBR EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO A SEGÚN ZONA DE CRIANZA

ZONA DE CRIANZA	N° DE ANIMALES EVALUADOS	FRECUENCIAS		$\frac{\sum(O_i - E_i / -0.5)^2}{E_i}$
		O _i	E _i	
URINSAYA Q'OCHA	93	22	18	0.6806
ANANSAYA Q'OCHA	67	14	18	0.6806
	160	36		1.3611

(P≥0.05)

 $X^2_c = 1.3611$ $X^2_{t 0.05, 1} = 3.84$

CUADRO 2. PRUEBA DE JI-CUADRADA PARA SEROPREVALENCIA DE IBR EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO A SEGÚN CLASE ANIMAL

CLASE ANIMAL	N° DE ANIMALES EVALUADOS	FRECUENCIAS		$\frac{\sum(O_j - E_j / -0.5)^2}{E_j}$
		O _i	E _i	
VAQUILLA	32	4	18	10.125
VACAS	128	32	18	10.125
	160	36		20.250

(P≤0.05)

 $X^2_c = 20.250$ $X^2_{t 0.01, 1} = 6.635$ $X^2_{t 0.05, 1} =$

3.841

CUADRO 3. PRUEBA DE JI-CUADRADA PARA SEROPREVALENCIA DE IBR EN VACUNOS DEL DISTRITO DE NUÑO A SEGÚN TIPO DE SERVISIO

TIPO DE SERVISIO	N° DE ANIMALES EVALUADOS	FRECUENCIAS		$\frac{\sum(O_k - E_k / -0.5)^2}{E_k}$
		O _i	E _i	
MONTA NATURAL	65	6	18	7.3472
INS. ARTIFICIAL	95	30	18	7.3472
	160	36		14.6944

(P≤0.05)

 $X^2_c = 14.6944$ $X^2_{t 0.01, 1} = 6.635$ $X^2_{t 0.05, 1} = 3.841$

ANEXO IV

**CUADRO 4. BASE DE DATOS DE VACUNOS MUESTREADOS EN EL
DISTRITO DE NUÑO, PARA DETERMINAR LA
SEPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA (IBR)**

	DENSID OPTICA	% BLOQUEO	NOMBRE VACUNO	ZONA ESTUDIO	COMUNID	CLASE ANIMAL	TIPO DE SERVICIO	NOMBRE PRODUCTOR
1	0.11	93.45	Mamá de Dinaro	U. Q.	Ticuyo	A	IA	Francisco Huaman H.
2	0.2	87.63	Mamá Prometius	U. Q.	Ticuyo	A	IA	Francisco Huaman H.
3	0.99	39.54	Chata	U. Q.	Ticuyo	J	MN	Francisco Huaman H.
5	0.25	84.56	Pilar	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huaman H.
6	0.09	94.24	Mamá Don Jass	U. Q.	Ticuyo	A	IA	Francisco Huaman H.
7	1.13	30.84	Negra I	U. Q.	Ticuyo	J	MN	Francisco Huaman H.
8	1.15	29.80	Maricarmen	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huaman H.
9	0.97	40.70	Ratera	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huaman H.
11	1.03	37.09	Huerfana	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huaman H.
13	0.99	39.23	Gorda	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huaman H.
14	0.31	80.77	Mamá Pitágora	U. Q.	Ticuyo	A	IA	Francisco Huaman H.
86	1.03	44.30	Rosita	U. Q.	Santa Elena	J	IA	Martín Quenta
87	1.24	33.15	Ruth	U. Q.	Santa Elena	J	IA	Martín Quenta
88	0.1	94.37	Maltona	U. Q.	Santa Elena	A	IA	Martín Quenta
89	1.49	19.30	Lela	U. Q.	Santa Elena	A	IA	Martín Quenta
90	1.09	41.16	Copacha	U. Q.	Santa Elena	A	IA	Martín Quenta
91	1.01	45.17	Flora	U. Q.	Paracca	J	MN	Remigio Tapara
92	1.24	32.67	Nancy	U. Q.	Paracca	J	MN	Julián Gutierrez
93	1.14	38.40	Mari	U. Q.	Paracca	A	MN	Julián Gutierrez
94	1.16	37.37	Mónica	U. Q.	Paracca	A	MN	Julián Gutierrez
95	1.04	36.36	Sonia	U. Q.	Paracca	A	MN	Julián Gutierrez
96	1.07	42.03	Rosa	U. Q.	Paracca	A	IA	Hipólito Palomino
97	0.97	47.71	Ana	U. Q.	Paracca	A	MN	Hipólito Palomino
98	1.23	33.53	Malta Norma	U. Q.	Paracca	J	MN	Julia Acuña
99	1.16	37.37	K'ello	U. Q.	Paracca	A	MN	Julia Acuña
100	1.03	36.72	Rosita	U. Q.	Paracca	A	MN	Domitila Mescco
101	1.14	38.51	Florcita	U. Q.	Paracca	A	IA	Domitila Mescco
102	1.12	39.65	Dina	U. Q.	Paracca	A	IA	Gabriel Mescco
103	1.16	28.76	Rosita	U. Q.	Paracca	A	IA	Gabriel Mescco
104	0.16	91.50	Yola	U. Q.	Paracca	J	IA	Celso Vasquez
105	0.11	93.14	Rosa	U. Q.	Paracca	A	IA	Celso Vasquez
106	1.07	42.35	Mari	U. Q.	Paracca	A	IA	Celso Vasquez
107	1.18	36.08	Flor	U. Q.	Paracca	A	IA	Herminia Huamán
108	1.07	34.21	Bety	U. Q.	Paracca	A	IA	Herminia Huamán
109	1.18	27.60	Malta	U. Q.	Paracca	J	IA	Herminia Huamán
110	0.11	94.10	Lucero	U. Q.	Paracca	A	IA	Herminia Huamán



111	0.91	50.69	Délia	U. Q.	Paracca	A	IA	Herminia Huamán
112	1.08	41.60	Kelly	U. Q.	Paracca	A	IA	Manuela Choquepata
113	1.06	42.73	Malta	U. Q.	Paracca	A	IA	Manuela Choquepata
114	1.11	39.70	Sandra	U. Q.	Paracca	A	IA	Julio Vilca
115	1.06	42.90	Charisma	U. Q.	Paracca	A	IA	Julio Vilca
116	1.17	28.27	Gringa	U. Q.	Paracca	A	IA	Julio Vilca
117	1.1	40.73	Dalli	U. Q.	Paracca	A	IA	Hugo Puma
118	1.12	39.22	Kindra	U. Q.	Paracca	A	IA	Hugo Puma
133	1.03	44.03	Yeni	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huayhua
135	1.11	39.92	Blanca	U. Q.	Ticuyo	A	MN	Francisco Huayhua
136	1.03	44.25	Sara (Blanca)	U. Q.	La Libertad	J	IA	Marcelino Tevez
137	0.79	57.46	shirly	U. Q.	La Libertad	J	IA	Marcelino Tevez
138	0.12	93.45	Xina	U. Q.	La Libertad	A	IA	Marcelino Tevez
139	1.06	42.84	Lila	U. Q.	La Libertad	A	IA	Marcelino Tevez
140	1.23	33.69	Sonia I	U. Q.	La Libertad	J	MN	Saturnino Monrroy
141	1.12	39.32	Sonia II	U. Q.	La Libertad	A	MN	Saturnino Monrroy
142	0.98	47.12	Ana	U. Q.	La Libertad	A	IA	Jorge Huamán
143	0.88	52.58	Luzma	U. Q.	La Libertad	A	MN	Jorge Huamán
144	0.92	50.04	juanita	U. Q.	La Libertad	J	IA	Saturnino Condori T.
145	1.16	37.00	Sara	U. Q.	La Libertad	A	MN	Saturnino Condori T.
146	0.99	46.58	Yaneli	U. Q.	La Libertad	A	IA	Saturnino Condori T.
147	1.07	42.19	Rosa	U. Q.	La Libertad	A	MN	Francisco Monrroy M
148	0.12	93.34	Belinda	U. Q.	La Libertad	A	IA	Ignacia Jove H.
149	0.07	95.99	Andy	U. Q.	La Libertad	A	IA	Matiás Tevez
150	0.25	86.36	Dina	U. Q.	La Libertad	A	IA	Matiás Tevez
151	0.12	93.45	karen	U. Q.	La Libertad	A	MN	Alicia Arenas C
152	0.97	47.55	Sonia	U. Q.	La Libertad	A	IA	Alicia Arenas
153	1.2	34.94	Linda	U. Q.	La Libertad	A	MN	Alicia Arenas
154	0.95	48.42	Gaby	U. Q.	La Libertad	A	MN	Meliton Condori
155	0.08	95.72	Sabina	U. Q.	América	J	IA	Cesario Huanca
156	0.1	94.42	Zamba	U. Q.	América	A	MN	Cesario Huanca
157	0.09	95.13	Elsa	U. Q.	Cauchiri	A	MN	Felipe Palomino
158	0.12	93.56	Belinda	U. Q.	Cauchiri	A	IA	Felipe Palomino
159	1.04	43.60	Gaby	U. Q.	Nasapalla	J	IA	Vilber Palomino
160	0.84	54.59	Lidais	U. Q.	Nasapalla	A	IA	Vilber Palomino
161	0.13	93.23	Guisela	U. Q.	Nasapalla	A	IA	Vilber Palomino
162	0.05	97.13	Famosa	U. Q.	Nasapalla	A	IA	Vilber Palomino
163	0.93	49.77	Laura	U. Q.	Nasapalla	J	IA	Vidal Cornejo
164	1.18	35.97	Nuri	U. Q.	Nasapalla	A	IA	Vidal Cornejo C
165	1.22	33.91	Vilma	U. Q.	Pucacunca	J	MN	Luis Cornejo C
166	1.05	43.44	Inés	U. Q.	Anavinquilla	A	MN	Sixto Ccasa C.
167	0.86	53.40	Rosi	U. Q.	Anavinquilla	A	MN	Sixto Ccasa C.
168	0.98	46.96	Sara	U. Q.	La Libertad	A	MN	Emerzon Tevez
169	0.87	52.91	Rosa	U. Q.	La Libertad	A	IA	Pedro Tevez C.
173	1.13	39.11	Linda	U. Q.	La Libertad	A	IA	Pedro Tevez C.
174	0.95	48.47	Negra	U. Q.	La Libertad	A	MN	Pedro Tevez C.



175	1.09	41.22	Sally	U. Q.	La Libertad	A	IA	Roxana Tevez
176	1.11	39.86	Malú	U. Q.	La Libertad	A	MN	Pedro Tevez C.
178	1.25	32.12	Luna	U. Q.	La Libertad	J	MN	Pedro Tevez C.
179	1.17	36.67	Blanca	U. Q.	La Libertad	A	IA	Pedro Tevez C.
180	1.15	37.97	Fany	U. Q.	La Libertad	A	IA	Moises Tevez
181	0.1	94.86	Josefina	U. Q.	La Libertad	A	IA	Pedro Tevez C.
182	1.2	34.83	Vela	U. Q.	La Libertad	J	IA	Pedro Tevez C.
183	0.97	47.28	Dorka	U. Q.	La Libertad	A	MN	Pedro Tevez C.
184	1.1	40.68	Bella	U. Q.	La Libertad	A	MN	Pedro Tevez C.
185	1.15	37.81	Rosita	U. Q.	La Libertad	A	MN	Pedro Tevez C.
186	1.02	44.74	Chila	U. Q.	La Libertad	A	IA	Pedro Tevez C.
16	0.95	41.62	Liset	A. Q.	Torolira	A	MN	Ciriaco Aguilar
17	1.12	31.21	Blanca	A. Q.	Torolira	A	MN	Ciriaco Aguilar
18	1.01	37.89	Dora	A. Q.	Torolira	J	MN	Ciriaco Aguilar
19	1.07	34.27	Meri	A. Q.	Torolira	A	MN	Ciriaco Aguilar
21	1.2	26.80	Lucero	A. Q.	Torolira	J	IA	Mario Huamán
22	1.18	27.66	Princesa	A. Q.	Torolira	A	IA	Mario Huamán
23	1.03	36.72	Paola	A. Q.	Torolira	A	MN	Mario Huamán
24	0.93	43.34	Eva	A. Q.	Torolira	J	IA	Gregorio Huamán
25	1.03	36.91	Axi	A. Q.	Torolira	A	IA	Gregorio Huamán
26	0.44	73.17	Sarina	A. Q.	Torolira	A	IA	Victor Huamán
27	1.15	29.62	Juvita	A. Q.	Torolira	A	IA	Victor Huamán
30	1.01	38.19	Yesi	A. Q.	Torolira	J	MN	Victor Huamán
31	1.12	31.45	Pamela	A. Q.	Torolira	A	MN	Alfonso Zamata
32	0.12	92.40	Aldana	A. Q.	Torolira	A	IA	Alfonso Zamata
33	1.49	8.79	Kimili	A. Q.	Torolira	A	MN	Alfonso Zamata
34	1.1	32.92	Liset	A. Q.	Torolira	J	MN	Alfonso Zamata
37	1.06	34.89	Magaly	A. Q.	Torolira	J	IA	Filomeno De La Cruz
38	1.18	27.96	Luzma	A. Q.	Torolira	J	IA	Filomeno De La Cruz
43	1.1	32.74	Blanca	A. Q.	Torolira	A	MN	Victor Huanca
44	0.11	93.14	Ruby	A. Q.	Torolira	A	MN	Victor Huanca
45	1.02	37.27	Katy	A. Q.	Torolira	A	MN	Victor Huanca
47	1.23	24.53	Aceituna	A. Q.	Torolira	A	MN	Victor Huanca
48	0.13	92.04	Blanca	A. Q.	Mercedes	A	IA	Leon de La Cruz
49	1.02	37.83	Melitona	A. Q.	Mercedes	J	IA	Leon de La Cruz
50	1.08	33.91	Pitágora	A. Q.	Mercedes	A	IA	Leon de La Cruz
51	1.02	37.40	Esmeralda	A. Q.	Mercedes	A	MN	Leon de La Cruz
52	1.24	24.04	Sara	A. Q.	Mercedes	A	MN	Leon de La Cruz
53	0.06	96.32	Núria	A. Q.	Mercedes	A	IA	Fernando De La Cruz
54	0.87	46.46	Mabel	A. Q.	Mercedes	A	IA	Fernando De La Cruz
55	0.32	80.34	Mery	A. Q.	Mercedes	A	IA	Fernando De La Cruz
57	0.97	40.64	Fely	A. Q.	Mercedes	J	IA	Fernando De La Cruz
58	1.03	36.91	Ccolla	A. Q.	Mercedes	A	IA	Rolando Ccori
61	1.1	32.62	Luisa	A. Q.	Mercedes	J	MN	Pedro Diaz C.
62	1.05	35.87	Lis Flaca	A. Q.	Mercedes	A	MN	Pedro Diaz C.
63	1.11	31.94	Andy	A. Q.	Mercedes	A	MN	Pedro Diaz C.

64	1.1	32.56	Loli	A. Q.	Mercedes	A	IA	Julio Tacca
65	1.02	37.46	Layla	A. Q.	Mercedes	A	IA	Wildo Ccanahuirí
66	1.13	30.96	Lucero	A. Q.	Mercedes	A	IA	Wildo Ccanahuirí
67	0.23	85.85	Rosi	A. Q.	Mercedes	J	IA	José A. Tacca
68	1.08	33.91	Irma	A. Q.	Mercedes	A	MN	José A. Tacca
71	1.07	34.21	Ediht	A. Q.	Mercedes	A	MN	Teofilo Sarcco
72	1.13	30.84	Verónica	A. Q.	Mercedes	A	IA	Teofilo Sarcco
73	1.08	33.84	Mari	A. Q.	Mercedes	A	IA	Teofilo Sarcco
74	1.05	35.62	Cíntia	A. Q.	Mercedes	A	IA	Nicacio Sarcco
75	0.17	89.77	Dina	A. Q.	Mercedes	A	IA	Nicacio Sarcco
76	1.13	30.96	Lidais	A. Q.	Mercedes	A	IA	Nicacio Sarcco
77	1.06	35.07	Antártida	A. Q.	Mercedes	A	IA	Nicacio Sarcco
79	0.94	42.54	irma	A. Q.	Mercedes	A	IA	Nicacio Sarcco
80	0.57	64.84	Keyko	A. Q.	Mercedes	A	IA	Santos Llampi
81	1.105	32.31	Fresia	A. Q.	Mercedes	A	IA	Jaime Llampi
82	1.14	29.92	Rocio	A. Q.	Mercedes	A	IA	Jaime Llampi
83	1.08	34.15	Meli	A. Q.	Mercedes	A	MN	Toribio Llampi
84	0.96	41.13	Paty	A. Q.	Mercedes	A	MN	Eugenio Huamán
85	1	38.56	Aldana	A. Q.	Mercedes	A	IA	Eugenio Huamán
119	1.13	39.11	Marta	A. Q.	Villa Hermosa	A	IA	Moises Sarcco
120	0.1	94.70	Berta	A. Q.	Villa Hermosa	A	IA	Moises Sarcco
121	1.25	32.40	Mamis T'ika	A. Q.	Villa Hermosa	A	IA	Justiniana Zamata
122	0.1	94.64	Manco	A. Q.	Villa Hermosa	A	IA	Justiniana Zamata
123	1.11	32.01	Yeni	A. Q.	Villa Hermosa	A	IA	Oswaldo Sarcco
124	1.18	36.29	Rosalía	A. Q.	Villa Hermosa	J	IA	Oswaldo Sarcco
125	0.63	66.01	Mili	A. Q.	Villa Hermosa	A	IA	Roberto Llampi
126	1.12	39.59	Flor	A. Q.	Mercedes	A	MN	Tomás Mamani
127	0.07	95.99	Ana	A. Q.	Mercedes	A	IA	Tomás Mamani
128	0.09	95.24	Broncela	A. Q.	Ccontayani	A	MN	Jesús Canahuirí
129	1.14	38.24	Karla	A. Q.	Ccontayani	A	MN	Jesús Canahuirí
131	1.11	39.86	Sayaca	A. Q.	Ccontayani	J	MN	Jesús Canahuirí
132	1.06	42.68	Charo	A. Q.	Ccontayani	A	MN	Jesús Canahuirí