

**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 LA COMUNIDAD DE HUANCOLLUSCO DEL DISTRITO DE  
TARACO HUANCANE”**

TESIS

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

**Bach. M.V.Z. JAIME ORLANDO ESTOFANERO HALLASI**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PUNO – PERÚ

2015

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

SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA  
BOVINA EN LA COMUNIDAD DE HUANCOLLUSCO DEL DISTRITO DE  
TARACO HUANCANE

TESIS:

PRESENTADA A LA DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA COMO  
REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PRESIDENTE:

  
Mg. Sc. ROLANDO DANIEL ROJAS ESPINOZA

PRIMER MIEMBRO:

  
Mg. Sc. ALBERTO SOTO QUISPE

SEGUNDO MIEMBRO:

  
M.V.Z. HARNOLD S. PORTOCARRERO PRADO

DIRECTOR DE TESIS:

  
Dr. CIRIO MARINO TRAVERSO ARGUEDAS

ÁREA: Salud Animal

TEMA: Enfermedad viral

**DEDICATORIA**

Con todo mi cariño y mi amor para mis padres que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

**Paulino Estofanero y Luisa Hallasi**

A tu paciencia y comprensión, preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Por tu bondad y sacrificio me inspiraste a ser mejor cada día, y mucho más ahora que me diste la alegría más grande de ser padre, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti y nuestro hijo, gracias por estar siempre a mi lado.

**MARILU y JOSE CARLOS**

Dedico esta tesis a todos aquellos que no creyeron en mí, a aquellos que esperaban mi fracaso, a aquellos que nunca esperaban que lograra terminar la carrera, a todos ellos les dedico esta tesis.

**AGRADECIMIENTO**

A mi alma mater Universidad Nacional del Altiplano Puno a la Gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A mis maestros que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparada para los retos que pone la vida, a todos y cada uno de ellos les dedico cada una de estas páginas de mi tesis. Y en especial a mi director de tesis Dr. Ciro Traverso Arguedas, quien tuvo la confianza y me apoyó en todo, gracias.

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño esta tesis se va para ustedes:

Yodis B. Quispe Collantes (Q.E.P.D.)

Santa.

Caira.

Turtur.

Cuadritos.

***¡¡¡¡ BISTURI PINZA Y TIJERA .....***

***VETERINARIA PRIMERA !!!! .....***

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
	2.1. RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR).....	3
	2.2. ETIOLOGÍA .....	4
	2.3. GENOTIPOS DEL VHB-1.....	5
	2.4. REPLICACIÓN VIRAL.....	5
	2.5. PATOGÉNESIS .....	6
	2.5.1. Entrada y diseminación.....	6
	2.5.2. Infección restringida a áreas locales .....	6
	2.5.3. Difusión sistémica por viremia .....	7
	2.5.4. Difusión neuronal .....	7
	2.6. LATENCIA .....	7
	2.7. CUADRO CLÍNICO .....	8
	2.7.1. Enfermedad Respiratoria Aborto .....	8
	2.7.2. Enfermedad Genital .....	9
	2.7.3. Enfermedad Nerviosa .....	9
	2.7.4. Aspectos Inmunológicos .....	9
	2.8. DIAGNÓSTICO.....	10
	2.8.1. Aislamiento Viral .....	10
	2.8.2. Detección de Antígeno Viral .....	11
	2.8.3. Detección de ácido nucleico viral: .....	11
	2.8.4. Detección de anticuerpos .....	11
	2.9. CONTROL Y ERRADICACIÓN .....	12
	2.10. EPIDEMIOLOGÍA.....	13
	2.11. ANTECEDENTES .....	13
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
	3.1. Lugar de Estudio.....	16
	3.2. Animales .....	16
	3.3. METODOLOGÍA.....	17
	3.3.1. Fundamento de Elisa.....	17
	3.3.2. Obtención de muestras sanguíneas .....	17
	3.3.3. Metodología de la PRUEBA DE ELISA: .....	18
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION .....	23
	4.1. SEROPREVALENCIA DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE TARACO- HUANCANE .....	23
V.	CONCLUSIONES.....	33
VI.	RECOMENDACIONES .....	34
VII.	LITERATURA CITADA.....	35
VIII.	ANEXOS.....	40

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Comunidad de Huancollusco del Distrito de Taraco de la Provincia de Huancané - Región Puno. Los objetivos fueron determinar seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacunos según número de partos y condición de servicio. Las muestras utilizadas fueron de 78 vacunos Brown swiss. Las muestras de suero sanguíneo fueron procesados en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la UNA - Puno utilizando el TEST de ELISA (prueba de Inmunoabsorción Ligada a Enzima). Los datos han sido analizados a través de la prueba estadística de Ji – cuadrado, cuyos resultados de la prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos fue de 7.69% que representa 06 animales de un total de 78; mientras por condición de servicio las vacas por monta natural presentaron el 5.13% y con inseminación artificial que fue de 2.56% ( $P \geq 0.05$ ); se determinó la prevalencia de 0.00%, 1.28% y 6.41% para vacas de primer, segundo y tercer parto respectivamente ( $P \leq 0.05$ ); las vacas por monta natural de primer parto, segundo y tercer parto 0.00%, 1.28% y 3.85%; mientras las de inseminación artificial 0.00%, 0.00% y 2.56% de prevalencia para las vacas de primero, segundo y tercer parto, respectivamente ( $P \leq 0.05$ ).

Palabras claves: Seroprevalencia, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, ELISA.

## I. INTRODUCCIÓN

La Región Puno tiene una población de 617,163 vacunos representando una población primordial en relación al total del país. La provincia de Huancané tiene una población de 50,116 vacunos y el Distrito de Taraco posee una población de vacunos de 20,624 (MINAG, 2012). La crianza del ganado bovino es una actividad importante en la estructura económica y social de la región, ya que la industria pecuaria específicamente la crianza del bovino genera una gran cantidad de subproductos, ricos en proteína de alto valor nutritivo para satisfacer las necesidades del consumo humano dando origen a grandes cadenas de transformación. (Rojas, 2007).

Los problemas respiratorios son frecuentes sobre todo en animales jóvenes, muchos de estos problemas son causados por agentes bacterianos como la pasteurella y virales como el Virus herpes Bovino tipo-1 (VHB-1), agente causal de la Rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB) ampliamente distribuido en el mundo y es uno de los agentes importantes que causan afecciones respiratorias, reproductivas y neurales en los bovinos (Rivera *et al.*, 1994).

El bovino de cualquier raza y edad es susceptible al VHB-1; y también es el principal reservorio del virus (Rosadio *et al.*, 1993; Manchego *et al.*, 1998). La forma de transmisión 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; pero también 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 (Van Oirschot, 1995; Engels, y Ackermann, 1996).

Los problemas reproductivos, caracterizados por infertilidad, muerte embrionaria, abortos, malformaciones congénitas y nacidos débiles son prevalentes en el ganado bovino ocasionando serias pérdidas económicas. Los problemas reproductivos en el ganado bovino tienen múltiples etiologías; los agentes infecciosos, como los virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) y el virus herpes Bovino-1 (VHB-1), agente causal de la Rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB) (Brownlie, *et al.*, 1998)

Se señala que el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina se encuentra en el altiplano peruano, sin embargo no se conoce la cantidad de animales infectados por este virus, por lo que este estudio contribuye a conocer el comportamiento de la presencia de los anticuerpos virales a la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el distrito de Taraco, el mismo que ha de servir para tomar las medidas pertinentes en cuanto a su difusión y su control, por lo que se plantearon los siguientes objetivos: Determinar la seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina según número de partos. Determinar la seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina según condición de servicio.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR)

La Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), también conocida como enfermedad de las mucosas o nariz roja, es una enfermedad infecciosa, contagiosa, y es causada por el Herpes Virus Bovino Tipo-1, caracterizada por producir trastornos en las vías respiratorias superiores, además de problemas reproductivos como el aborto que se presenta después de desarrollar la enfermedad respiratoria y frecuentemente ocurre en el último tercio de gestación (Banks, 1999; Pidone et al., 1999). Esta enfermedad infecciosa es de distribución Mundial y se encuentra en la lista B de las enfermedades de declaración obligatoria, de la oficina Internacional de Epizootias (OIE) (Boelaert *et al.*, 2000)

El VHB - 1 tiene un diámetro de 150 a 200 nm, su material genético está conformado por una doble cadena lineal de ADN dentro de una nucleocápside icosaédrica compleja. El ADN viral codifica más de 69 diferentes proteínas, entre estructurales y no estructurales. Entre las proteínas estructurales por lo menos 9 son glicoproteínas presentes en la envoltura viral formando proyecciones y juegan un rol importante en las interacciones virus - célula, como adherencia, penetración, difusión célula - célula y salida. Las glicoproteínas además interactúan con el sistema inmune, como unión a componentes del complemento o inmunoglobulinas. Las glicoproteínas gB, gD y probablemente gH, gK y gL son esenciales en el proceso de replicación viral. Las glicoproteínas gC, gG, gI, y gE no son esenciales para la replicación viral, pero juegan un rol esencial en las interacciones virus - célula. (Kaashoek, *et al.*, 1994).

La gD induce anticuerpos neutralizantes, pero también es responsable de la penetración, adsorción viral y la fusión celular. Además mencionan que la gC participa en la unión

inicial del virus a receptores similares a la heparina la superficie de las células permisivas y que la gB interfería con proteínas celulares ocasionando los efectos citopáticos. Babiuk *et al.*, (1996) y Engels y M. Ackermann., (1996).

Esta enfermedad infecto-contagiosa que afecta principalmente a los bovinos, existe en Europa desde 1,841 y en la actualidad tiene una amplia distribución en el mundo (Obando, y M. Rodríguez 2005).

En el estudio realizado en la Provincia de Melgar, se demuestra que la infección por VHB-1 según la prueba de Neutralización Viral esta presente en los nueve distritos, donde se halló un prevalencia promedio de 29.0%, a la vez la prevalencia obtenida en el Distrito de Umachiri es de 32% (Pariente, 2006).

## 2.2. ETIOLOGÍA

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) es causada por el Virus Herpes Bovino-1 (VHB-1), el cual es un miembro de la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae, género Varicellovirus (Babiuk *et al.*, 1996).

El VHB - 1 tiene un diámetro de 150 a 200 nm, su material genético está conformado por una doble cadena lineal de ADN dentro de una nucleocápside icosaédrica compleja.

El ADN viral codifica más de 69 diferentes proteínas, entre estructurales y no estructurales. Entre las proteínas estructurales por lo menos 9 son glicoproteínas presentes en la envoltura viral formando proyecciones y juegan un rol importante en las interacciones virus - célula, como adherencia, penetración, difusión célula -célula y salida. Las glicoproteínas además interactúan con el sistema inmune, como unión a componentes del complemento o inmunoglobulinas. Las glicoproteínas gB, gD y probablemente gH, gK y gL son esenciales en el proceso de replicación viral. Las glicoproteínas gC, gG, gI, y gE no son esenciales para la replicación viral, pero juegan

un rol esencial en las interacciones virus - célula. (Kaashoek *et al.*, 1994).

La gD induce anticuerpos neutralizantes, pero también es responsable de la penetración, adsorción viral y la fusión celular. Además mencionan que la gC participa en la unión inicial del virus a receptores similares a la heparina sobre la superficie de las células permisivas y que la gB interferiría con proteínas celulares ocasionando los efectos citopáticos. Babiuk *et al.*, (1996) y Engels y M. Ackermann. (1996).

### **2.3. GENOTIPOS DEL VHB-1**

Mediante el uso de electroforesis en geles de poliacrilamida, uso de paneles de anticuerpos monoclonales y el análisis de restricción de ADN viral, se ha clasificado el VHB-1 en tres genotipos: VHB-1.1, VHB-1.2 y VHB-1.3, los cuales se asocian con la IBR, Vulvovaginitis pustular infecciosa/Balanopostitis pustular infecciosa (VPI/BPI) y enfermedad neurológica (encefalitis) respectivamente. Este último genotipo (VHB 1.3), ha sido reclasificado denominándose Virus herpes bovino tipo 5 (VHB-5), en base a estudios bioquímicos y genéticos (Wentink *et al.*, 1993).

### **2.4. REPLICACIÓN VIRAL**

La replicación del VHB-1, como en todos los virus herpes, es muy compleja. El VHB-1 se replica en células epiteliales del tracto respiratorio y reproductivo. El VHB-1 se adhiere a los receptores celulares, por medio de las glicoproteínas, la nucleocápside penetra en el citoplasma mediante la fusión de la envoltura con la membrana celular o a través de vacuolas fagocíticas. En ese momento se libera de la nucleocápside un complejo ADN proteína que pasa al núcleo. Aquí se realiza la transcripción en cascada de ARN mensajeros para la síntesis proteica y replicación del ADNm vírico de la progenie viral

(Fenner, 1995; Engels, M. Ackermann., 1996)

## **2.5. PATOGÉNESIS**

El VHB-1 se transmite en forma directa por aerosoles producto de estornudos o por contacto con animales infectados, a partir de secreciones respiratorias, oculares y del tracto reproductivo, o en forma indirecta a través de personas o equipos. El virus también puede ser transmitido por el semen durante la monta, natural o inseminación artificial (Van. Oirschot, 1995) e incluso durante la transferencia de embriones (Wentik *et al.*, 1993; Engels, M. Ackermann, 1996; Pidone *et al.*, 1999). Una vez en el organismo el virus se replica en células epiteliales en el sitio de entrada para luego diseminarse por vía sanguínea o vía nerviosa o por difusión entre célula a célula (Pidone *et al.*, 1999).

### **2.5.1. Entrada y diseminación**

Las entradas potenciales para el ingreso del VHB-1 son la cavidad nasal la orofaríngea, ojos y tracto genital. Usualmente una primera replicación ocurre en las células epiteliales de la puerta de entrada y al menos tres formas de difusión del virus deben ser consideradas (Engels *et al.*, 1996).

### **2.5.2. Infección restringida a áreas locales**

Pueden ocurrir infecciones del tracto respiratorio superior o del tracto genital. Los síntomas de la enfermedad pueden ser principalmente atribuidos a la destrucción de las células, epiteliales debido a la replicación viral con producción y excreción de altos títulos virales. Debido a que la respuesta inmune es eficiente, estas infecciones son usualmente autolimitantes y la recuperación del animal es dentro de 1 a 2 semanas. Las lesiones locales pueden facilitar las infecciones bacterianas secundarias, las cuales luego

causan daños. (Engels, M. Ackermann., 1996).

### **2.5.3. Difusión sistémica por viremia**

El VHB-1. Puede infectar monocitos con moderada replicación viral y también puede infectar macrófagos y linfocitos los cuales pueden servirle de vehículo a diferentes tejidos del animal. (Engels, M. Ackermann., 1996)

### **2.5.4. Difusión neuronal**

Durante la replicación inicial en las células epiteliales, el virus puede ingresar por los axones celulares de las terminaciones nerviosas. Luego, vía axonal, pueden alcanzar los cuerpos neuronales del ganglio trigémino donde el virus se establece en latencia. (Engels, M. Ackermann., 1996).

## **2.6. LATENCIA**

Como otros miembros de la subfamilia de los alfa herpesvirinae, el VHB-1 establece infección latente en neuronas de ganglios sensorios, primariamente en el ganglio trigémino, tonsilas y ganglio sacro en caso de infecciones en los genitales. El ADN viral puede persistir en estado latente de por vida en un hospedero infectado, pero puede reactivarse periódicamente y diseminarse a animales susceptibles (Winkler *et al.*, 2000 a,b; Jones, 1999).

La reactivación del virus puede ocurrir o ser inducida por numerosos factores estresantes, como: transporte (Thiry, et al., 1987), tratamientos con corticoides (Kaashoek, et al., 1994, 1998; Mars, et al., 2000 a,b), tratamiento con ciclofosfamida (Jones, 1999), superinfección con otros virus o microorganismos, radiación ultravioleta, etc (Pidone *et al.*, 1999).

## 2.7. CUADRO CLÍNICO

### 2.7.1. Enfermedad Respiratoria Aborto

El periodo de incubación de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB) es de 5 a 10 días, seguido por fiebre (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 en la nariz pueden progresar a pústulas y úlceras cubiertas por una pseudomembrana que obstruye las vías aéreas superiores, lo que conduce a una respiración bucal. (OIE, 2000; Chase *et al.*, 1995).

Los animales se recuperan 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 Paráinfluenza 3, Virus respiratorio sincitial, Virus de la diarrea viral bovina, *Pasteurella haemolytica* 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 microcolonias bacteriales. Una frecuente complicación de la forma respiratoria es el aborto que puede ocurrir entre la 3ra y 6ta semana posterior a la infección principalmente en vacas de 5 a 8 meses pudiendo abortar hasta un 25% de las vacas preñadas (Richey, 1994; Chase *et al.*, 1995).

Las microcolonias establecidas resisten a la fagocitosis y efectos de anticuerpos y antibióticos, permitiendo el rápido descenso al tracto respiratorio inferior (Zanabria *et al.*, 2000).

### 2.7.2. Enfermedad Genital

Ocurren 1 a 3 días después de la monta y resulta en una severa reacción inflamatoria de la mucosa genital, que incluye edema, hiperemia, pequeñas pústulas y descarga mucopurulenta, la enfermedad frecuentemente resulta en infecciones bacterianas secundarias. La fase aguda de la enfermedad dura de 2 a 4 días y la recuperación es de 10 a 14 días posteriores al inicio de los signos (Chase *et al.*, 1995).

### 2.7.3. 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, ataxia y ceguera que invariablemente conduce a la muerte. Este neurogénico VHB-1 está genéticamente y antigénicamente relacionado a VHB-1. Sin embargo, debido a diferencias genéticas y clínicas, se le ha denominado Virus herpes bovino 5 (Chase *et al.*, 1995).

### 2.7.4. Aspectos Inmunológicos

La cinética de la replicación del VHB-1 es muy rápida después de la adherencia y entrada a la célula. La expresión del antígeno sobre la superficie celular ocurre 3 a 4 horas post infección (p.i.), el ensamblaje viral 6 a 7 horas p.i., y la salida de la progenie media o una hora post ensamblaje (Babiuk *et al.* 1996).

Una vez establecida la infección primaria, las primeras respuestas son del tipo no específico, como la aparición de citocinas producidas por los macrófagos y el interferón, que es inducido rápidamente, alcanzando niveles altos en la secreción nasal y sangre 36 a 72 horas p.i. y permanece elevado hasta el cese de la replicación. La

respuesta de anticuerpos a VHB-1 se considera más importante en prevenir una infección que en la recuperación, debido a que los anticuerpos no previenen la difusión célula - célula (el virus se disemina por puentes intercelulares aun en presencia de anticuerpos) y la respuesta de anticuerpos es detectable cuando la recuperación de la infección ya está en curso. Los anticuerpos son críticos en neutralizar el virus extracelular previniendo la difusión de la infección. Es así que en animales con altos niveles de anticuerpos en pasajes nasales, aunque el virus este reactivado, los anticuerpos neutralizan al virus y previenen la diseminación a otros animales (Babiuk *et al.*, 1996).

## **2.8. DIAGNÓSTICO**

Se puede dar un diagnóstico presuntivo de IBR en base a los signos clínicos, patológicos y epidemiológicos, pero para realizar un diagnóstico definitivo se requiere de las Pruebas de Laboratorio (OIE, 2000; Rivera, 1993). Entre las principales se tiene:

### **2.8.1. Aislamiento Viral**

Esta prueba se realiza en cultivos celulares inoculados con, muestras de exudados nasales, oculares, genitales ó suspensiones de membranas mucosas del tracto respiratorio, tonsilas, pulmón, nódulos linfáticos bronquiales. El aislamiento viral es muy sensible y específico pero demora varios días o semanas. La identificación del agente es mediante pruebas inmunohistoquímicas como son inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa empleando anticuerpos monoclonales o policlonales (OIE, 2000; Rivera, 1993).



### **2.8.2. Detección de Antígeno Viral**

La técnica es rápida y puede estar disponible en muchos laboratorios. Esta técnica consiste en la detección del antígeno viral en tejidos frescos, muestras de fluidos nasales, oculares ó genitales a través del uso de anticuerpos policlonales o monoclonales, mediante la técnica de Inmunofluorescencia (IF), ó Inmunoperoxidasa (IP) (OIE, 2000; Rivera, 1993).

### **2.8.3. Detección de ácido nucleico viral:**

Consiste en la demostración del ADN del VHB-1 en muestras clínicas, estos incluyen hibridación de ADN y la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR). (OIE, 2000; Rivera, 1993).

### **2.8.4. Detección de anticuerpos**

La detección de anticuerpos es otra de las formas diagnósticas más empleadas. Entre estas las más utilizadas son: Neutralización Viral y ELISA (OIE, 2000; Rivera, 1993).

#### **2.8.4.1. Neutralización Viral**

Esta es una prueba altamente específica pero menos sensible en comparación a ELISA. Se basa en la capacidad que tiene el anticuerpo para neutralizar la citopatogenicidad ó la capacidad del virus de infectar a las células in vitro (OIE, 2000). La desventaja de la prueba es que requiere de un laboratorio que posea el sistema de cultivos celulares, de personal entrenado, es muy costosa y laboriosa. Esta prueba esta prescrita con propósitos para el comercio internacional y es utilizada como técnica de referencia en los programas de erradicación para confirmar los sueros dudosos. Como título

neutralizante de suero se define la recíproca dilución de suero, expresado en Log 10, que protege una monocapa celular como consecuencia de la neutralización de por lo menos 100 DI50 de virus (Rivera, 1993).

#### **2.8.4.2. Prueba de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA)**

El fundamento de la prueba de ELISA indirecta es la determinación de anticuerpos contra el virus en el suero, leche u otro fluido mediante el uso de una anti-inmunoglobulina G dirigida contra la Ig G bovina marcada con una enzima como la peroxidasa que se une al complejo antígeno-anticuerpo, que la sensibilidad y la especificidad esta en relación a la casa productora, que por lo general se encuentra entre el 95% y 98% de especificidad y sensibilidad respectivamente. Recientemente, gE ELISA están siendo usados en asociación a vacunas marcadas para detectar animales infectados en poblaciones vacunadas, en países donde la RIB está en proceso de erradicación (Wellenberg, *et al.*, 1998a,b; Van Oirschot, *et al.*, 1999).

### **2.9. CONTROL Y ERRADICACIÓN**

Una de las principales características del VHB-1, que debe tenerse en cuenta para su control es su capacidad de persistir en el animal de por vida, ya que el VHB-1 permanece integrado por un periodo indefinido en células preferenciales. Es necesario definir la decisión de controlar la enfermedad clínica o eliminar la infección (Pidone *et al.*, 1999).

Un buen manejo sanitario debería ser el evitar el ingreso del virus en el hato, entre las medidas de control se recomienda supervisar el movimiento de ganado evitando el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado sanitario, realizar cuarentena y análisis serológicos anuales para evaluar el estado de la enfermedad en el hato con

eliminación de animales seropositivos (Pidone et al., 1999).

## **2.10. EPIDEMIOLOGÍA**

El virus herpes bovino tipo-1 es un patógeno de los bovinos, aunque otras especies como caprinos, venados y cerdos, también han sido infectados. 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. 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 (Obando, R 1999).

## **2.11. ANTECEDENTES**

En una investigación realizada en la Provincia de Melgar, manifiesta que la infección por Virus Herpes Bovino -1 (VHB-1) está presente en los nueve distritos, donde reportan una prevalencia de 29.0% analizadas mediante la técnica de Neutralización viral, así mismo la prevalencia encontrada en el distrito de Umachiri fue de 32% (Pariente, 2006).

En el estudio realizado para determinar la seroprevalencia del Virus Herpes Bovino tipo-1 (VHB-1) agente causal de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en 12 hatos lecheros del Valle de Lima; el 36% de las muestras estudiadas tuvieron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1. La prevalencia viral dentro de los 12 hatos estuvo entre 2% a 90%. La prevalencia por zonas se detectó anticuerpos contra el VHB-1 en las tres zonas tales como Norte 46%, Centro 13% y Sur 50% con variaciones de 13% a 50% de prevalencia. La prevalencia viral fue mayor en los establos con mayor tamaño poblacional siendo esta de 43%, así como en animales de más de dos años se halló la prevalencia de 40% a diferencia de los animales menores de 2 años que fue de 12% (Sanchez, 2003).

La prevalencia del Virus Herpes Bovino 1. (VHB-1) determinaron en bovinos de crianza extensiva, sin historia de vacunación, y mayormente cruzados, en tres distritos de la provincia de San Pablo Cajamarca. De un total de 48 muestras de sangre de bovino determinaron 0.6% de los animales presentaron anticuerpos contra VHB-1. Las vacas seroreactoras fueron los de la raza Holstein mayores de 6 años de edad y pertenecieron a un solo hato y presentaron títulos de anticuerpos de 1:64 y 1:32, los resultados indicaron que la enfermedad se encuentra poco difundida entre los animales de la zona de estudio. (Villacaqui *et al.*, 2006).

EL Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (VHB-1) está presente en bovinos criollos muestreados de los 4 distritos de Coracora, Chumpi, Puyusca y Pullo de la Provincia de Parinacochas presentaron una prevalencia promedio de 67.6% superior a lo reportado en bovinos de crianza intensiva en el país (Zacarías, 2002).

Investigadores como (Rosadio *et al.*, 1993) han documentado la presencia de anticuerpos contra el VHB-1 en bovinos lecheros, camélidos sudamericanos, ovejas y cabras de comunidades rurales de algunas áreas del Perú.

En el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla de la UNA Puno ubicado en el distrito de Umachiri, de la provincia de Melgar, la prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina fue de 0.0% según la prueba de Neutralización Viral. No hubo títulos de anticuerpos en las muestras evaluadas (Ordoñez, 2009).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El presente trabajo se realizó en la Comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco de la provincia de Huancané - Región Puno; que se ubica a 15° 17' 54" de latitud sur, y a 69° 48' 44" de longitud oeste; a una altitud de 3820 m. El clima es seco y frígido, la precipitación fluvial en épocas de lluvias fue 750 mm y con una temperatura que osciló entre los 0 a 16°C (SENAMHI, 2012). Es una zona cuya principal actividad económica es la ganadería de bovinos con crianza predominantemente mixto ya que los animales se encuentran confinados en horas de la mañana para luego ser pastoreados en pastos cultivados en forma controlada.

#### 3.2 ANIMALES

La población de vacunos fue de la raza Brown Swiss, su alimentación fue en base a heno de avena, cebada; pastos cultivados de la asociación alfalfa y *Dactylis glomerata*, también parte de la población de ésta comunidad les suplementa con alimento concentrado comercial por las mañanas; la mayoría cuenta con instalaciones como cobertizos, comederos que hacen posible un mejor manejo; los animales que se sometieron al presente estudio se muestra en la tabla 1.

**TABLA 1: Distribución de animales para la evaluación IBR-2013 en el distrito de Taraco Huancané**

CONDICION DE SERVICIO	N° DE PARTOS	N° DE ANIMALES
Monta natural	1	13
	2	13
	3	13
Inseminación artificial	1	13
	2	13
	3	13
Total		78

### 3.3. METODOLOGÍA

#### 3.3.1. Fundamento de Elisa.

El fundamento de esta prueba de ELISA indirecta es la determinación de anticuerpos contra el virus en el suero, leche u otro fluido mediante el uso de una anti-inmunoglobulina G dirigida contra la Ig G bovina marcada con una enzima como la peroxidasa que se une al complejo antígeno-anticuerpo Sensibilidad – especificidad – marca del kit Elisa

#### 3.3.2. Obtención de muestras sanguíneas

- Se elaboró un formato, donde constó el total de vacas muestreadas, las cuales fueron distribuidos según los grupos señalados en el cuadro 1.
- Las muestras obtenidas fueron de sangre sin anticoagulante en tubos vacutainer previamente rotulados.

- El sitio de punción elegido fue la vena yugular, con una aguja vacutainer de 1.5 x 21G, la muestra fue colectada en un tubo vacutainer, por ser un sistema cerrado que presta mayor garantía en cuanto a asepsia y preservación de las muestras.
- Se dejó los tubos a temperatura de ambiente en un Angulo de 30 grados hasta la formación del coágulo y luego se dejó en reposo por 24 horas.
- A las 24 horas siguientes se realizó la colección del suero sanguíneo con ayuda de una jeringa de tuberculina (1 por cada muestra) luego se traslado a un vial estéril (frasco para muestra) previamente identificado.
- Los viales fueron llevado a congelación y en una caja conservadora con hielo fueron trasladados al laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno .
- Las muestras al laboratorio fueron sometidos al método de diagnóstico de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA).

### **3.3.3. Metodología de la PRUEBA DE ELISA:**

#### **3.3.3.1. Procesamiento de ELISA**

##### **3.3.3.1.1. Procedimiento de lavado.**

-La solución de lavado concentrado se puso al medio ambiente (18 a 26 grados), se mezcla para disolver las sales posiblemente cristalizadas.

-La solución de lavado concentrado fue diluida 1:10 con agua destilada deshionizada.

##### **3.3.3.1.2. Preparación de las muestras.**

Las muestras de suero se pusieron a temperatura de ambiente hasta su descongelamiento total.



### 3.3.3.1.3. Procedimiento de la Prueba.

Todos los reactivos fueron mezclados mediante movimientos de rotación en forma circular.

- Se dispensó 50  $\mu$ l de la solución de lavado a cada micro pozo.
- Se dispensó 50  $\mu$ l de control negativo en los micro pozos A1 y A2.
- Se dispensó 50  $\mu$ l de control positivo en los micro pozos B1 y B2.
- Se dispensó 50  $\mu$ l de suero problema en cada uno de los micro pozos restantes, según esquema elaborada previamente.
- El contenido de los micropozos fueron mezclados mediante movimientos rotatorios suaves.
- Los micropozos fueron incubados a 37 grados/2 horas
- El contenido de los micropozos se eliminaron en un reservorio.
- Los micropozos fueron lavados por 5 veces utilizando solución de lavado, en una cantidad de 300  $\mu$ l.
- Se eliminó la solución restante con volteo y secado de la microplaca sobre un material papel absorbente.
- Se dispensó 100  $\mu$ l de conjugado en cada micropozo.
- Las microplacas fueron incubadas a 20° por el lapso de una hora.
- El contenido de los micropozos fue desechada y se lavaron por 5 veces utilizando 300  $\mu$ l de solución de lavado.
- Se dispensó 100  $\mu$ l del sustrato TMB en cada micropozo.
- Las microplacas fueron incubadas a 20° por 10 minutos.
- Se dispensaron 100  $\mu$ l de solución de stop o parada en cada micropozo.
- Las microplacas fueron sometidos a lectura utilizando un lector de ELISA con una absorbancia de 450 nm.

- Los resultados obtenidos fueron calculados con la siguiente fórmula.

$$x = \frac{CN \times A - Muestra \times 100}{CN \times A}$$

### 3.3.3.2. Interpretación

- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo inferior al 45% se clasifica como negativo para anticuerpo de IBR.
- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo superior o igual a 45%, pero inferior al 55% se considera sospechoso.
- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo de 55% y valores superiores se consideran positivos en anticuerpos de IBR.

### 3.3.3.3. Análisis Estadístico

#### 3.3.3.3.1. Tamaño inicial de la muestra

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

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

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%)

$$n_i = (1.96)^2(0.29 \times 0.71) / 0.01)^2$$

$$n_i = 3.8416(0.2175)/0.0001$$

$$n_i = 83.52 = 84$$

Resultado 84 animales como tamaño de muestra inicial.

### 3.3.3.3.2. Cálculo de muestra definitiva

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

Donde:

**n** = Tamaño definitivo de la muestra

**n<sub>i</sub>** = Tamaño inicial de la muestra

**N** = Tamaño de la población

Se obtuvo 78 bovinos, como tamaño de muestra definitiva y para obtener una mejor cobertura las muestras fueron distribuidas de acuerdo a la población de cada sector.

### 3.3.3.3.3. Prevalencia

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

$$P = \frac{\text{Numero de Muestras Positivas}}{\text{Total de Animales Sometidos a Estudio}} \times (100)$$

Los datos discretos relacionados a la variable en estudio (Frecuencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina) fueron procesados mediante la utilización de la prueba Chi cuadrada.

$$X_c^2 = \sum \sum \frac{(o_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

Donde:

$X_c^2$  = Valor calculado de ji-cuadrado.

$\sum \sum$  = Doble sumatoria (tabla de contingencia).

$O_i$  = Valor observado de la variable (Rinotraqueitis Infecciosa Bovina).

$E_{ij}$  = Valor esperado de la variable.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. SEROPREVALENCIA DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA EN VACUNOS DEL DISTRITO DE TARACO- HUANCANE

De las 78 vacas muestreadas, que fueron analizadas mediante la prueba de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA), se llegó a los siguientes resultados:

**Tabla 2: Seroprevalencia a los anticuerpos virales de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el distrito de Taraco - Huancané (2013)**

NUMERO DE MUESTRAS N	N° DE VACAS SEROPOSITIVOS.	PORCENTAJE (%)
78	06	7.69

La tabla 2, muestra que la prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en la comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco se encontró 06 animales seropositivos de un total de 78 vacunos, lo que representa 7.69%; esto indica que, de 100 animales 07 vacunos se encuentran con anticuerpos virales contra el virus de IBR, las mismas que no muestran síntomas o están aparentemente sanos, estos en algún momento de su vida, es probable que se encontraron expuestos al virus.

La prevalencia encontrada en el presente trabajo de investigación fue inferior a los reportes de Rosadio y col (1993), quien en los establos de engorde de vacunos de la ciudad de Lima reporta 36.5%; asimismo Sánchez T., (2003) investigaron en vacunos del valle de Lima, del cual reportan anticuerpos contra VHB-1 en 36.0%. Esta diferencia se debería a que los vacunos de Lima tienen una crianza intensiva, que consiste en confinamiento y practican inseminación artificial desde hace tres décadas;

mientras en el distrito de Taraco el tipo de crianza por lo general es mixta y la práctica de inseminación artificial está siendo aplicada en la mayoría de los productores, pero sin embargo los espacios donde se crían vacunos son pequeños el cual hace que se presente mayor contacto en forma directa de los animales y por ende los riesgos de transmisión horizontal que está referida a la transmisión del virus ya sea por contacto directo, el alimento, por inseminación artificial, monta natural o por fómites.

El valor encontrado fue inferior al comparar con el reporte de Ayacucho-Parinacochas; donde investigaron bovinos criollos de crianza extensiva, en el cual encontraron una prevalencia de 68% (Zacarías R. 2002), los mismos manifiestan que los animales están sujetos a factores estresantes como sequía, falta de pastos, desnutrición y parasitosis principalmente, que hacen que la respuesta inmune en los animales se encuentre disminuido el cual favorece la presentación al virus, por lo que se manifiesta la enfermedad en forma subclínica con respuesta inmune al virus de la IBR, que conlleva a la eliminación viral y transmisión a los animales susceptibles. La prevalencia frente a los anticuerpos al HVB-1 en Taraco, fue menor a la de Ayacucho; debido a que las condiciones medio ambientales como piso ecológico - clima, el manejo y la sanidad, son más propicias en esta parte de la región de Puno y como consecuencia la predisposición de los vacunos a la infección por el agente viral.

Es ampliamente conocido que en infecciones herpéticas, todo animal infectado debe ser considerado como tal de por vida, y que el virus puede persistir en estado de latencia en los ganglios trigémino y sacro (Pidone *et al.*, 1999). Este virus se puede reactivar ante situaciones de estrés ya que la presencia de catecolaminas hace que disminuya la respuesta inmune y se instaure la replicación viral en el organismo con o sin presencia de enfermedad aguda o subclínica; como las épocas de invierno con temperaturas bajas

y veranillos que se producen estacionalmente en esta parte de la región que hacen que el virus se difunda de los animales infectados a los susceptibles ya que las bajas temperaturas hacen que las reservas orgánicas en el organismo animal descendan y esto hace que sean más susceptibles a que el virus ingrese y se presente la enfermedad, asimismo la presencia de otros agentes infecciosos, deficiencias en el manejo, malas condiciones alimenticias, utilización de semen infectado o la monta natural con toros infectados ocasionan el ingreso del virus al organismo del animal y los animales infectados eliminan el virus al medio ambiente conjuntamente con las secreciones, que podrían infectar a otros bovinos susceptibles diseminándose de esta manera la enfermedad en los hatos, todas estas características se estarían presentando en los animales del distrito de Taraco.

El reporte de Pariente (2006) en la provincia de Melgar, en vacunos en edad reproductiva demostró que la infección por VHB-1 está presente en los 9 distritos reportando el 29% de prevalencia y específicamente en el distrito de Umachiri con una prevalencia general de 32%, que se tomó muestras de vacunos en edad reproductiva, estos valores son muy superiores en relación a lo encontrado en la comunidad de Huancollusco, que esto se debe a las condiciones de manejo y el sistema de crianza; pero sin embargo hay que tener presente que si se tomara muestras de animales vacunados contra la IBR, esta muestras pueden dar resultados positivos (Pariente, 2006), frente a este punto en la comunidad de Huacollusco no se realiza vacunación alguna contra enfermedades virales, por lo que los títulos de anticuerpos virales obtenidos en los animales positivos se debe a que el virus está presente en los animales que se crían en esta zona, considerando que la infección viral se debe a factores como manejo, alimentación.

La prevalencia encontrada en el presente trabajo de investigación fue superior al reporte de Villacaqui *et al.*,(2006), quién estudió en bovinos de crianza extensiva, en tres distritos de la Provincia de San Pablo Cajamarca, que de un total 480 muestras de sangre determinó 0.6% de los animales que presentaron anticuerpos contra VHB-1, las vacas seroreactoras fueron de raza Holstein, mayores a 6 años de edad; esta diferencia se debería al factor manejo que está referido a las actividades ganaderas que se realiza durante un año calendario ganadero y en Cajamarca posiblemente practiquen programas de vacunaciones contra esta enfermedad, ya que es una cuenca lechera potencial, a diferencia de la comunidad de Huancollusco no se realiza vacunación alguna contra enfermedades virales para esta especie animal.

**TABLA 3. Seroprevalencia a los anticuerpos virales de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el distrito de Taraco Huancané según condición de servicio (2013)**

CONDICION DE SERVICIO	NUMERO DE MUESTRA	N° DE VACAS SEROPOSITIVOS	PORCENTAJE (%)
MONTA NATURAL	39	04	5.13
INSEMINACION ARTIFICIAL	39	02	2.56
<b>TOTAL</b>	78	06	7.69

$$X^2_c = 0.67$$

$$X^2_1 0.05, 1 = 3.84 \quad (P \geq 0.05)$$

En la tabla 3, se observa la prevalencia a los anticuerpos virales de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, según condición de servicio; donde, los vacunos con monta natural mostraron una prevalencia de 5.13% comparados a las con inseminación artificial que fue de 2.56%; los mismos analizados a la prueba estadística de Ji-cuadrada reflejaron que no existe diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ); lo que indica que la variación de las prevalencias de los anticuerpos para este virus, se puede presentar tanto en los animales con inseminación artificial o por monta natural, sin que ninguna de ellas influya para la



infección viral, por lo tanto no influye la condición de servicio para la positividad a estos anticuerpos.

De lo anterior se deduce que la infección viral se puede presentar en el proceso de inseminación artificial cuando las pajillas están infectadas con este virus o cuando se presenta el contrabando de dichas pajillas las mismas que no cuentan con control sanitario, asimismo durante la inseminación artificial no se cuenta con las medidas asépticas de las fundas y pistolas de inseminación artificial, que serían los factores principales para la diseminación del virus de animales portadores a sanos, referente a la monta natural, los toros portadores del virus en forma subclínica, son los que diseminan la enfermedad y el libre tránsito de los reproductores sin control por parte de las instituciones como SENASA, constituyen la fuente principal de diseminación viral.

El VHB-1 es conocido por sus efectos abortogénicos, donde las vacas abortan debido a una secuela del problema respiratorio; aunque también por efecto directo del virus indican Rivera y col. (1993) y Richey (1994). Según información sanitaria declarada por los criadores y reportada en las fichas de formato de Vigilancia Activa del Servicio Nacional de Sanidad Agraria, indican que algunas de sus vacas presentaron repetición de celo a los 25 días aproximadamente después de ser servidas por monta natural e inseminación artificial esto podría deberse a la presencia del virus herpes bovino tipo 2 (VHB-2), que ocasiona muerte embrionaria y como consecuencia infertilidad transitoria (Pidone *et al.*, 1999), en la comunidad de Huancollusco se han reportado casos de abortos pero no se llegó a determinar la causa específica de estos abortos, es probable que se deba la presencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa en los vacunos de los criadores de esta zona.

**TABLA 4. Seroprevalencia a los anticuerpos virales de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el distrito de Taraco Huancané según número de partos (2013)**

NUMERO DE PARTO	NUMERO DE MUESTRA	N° DE VACAS SEROPOSITIVOS	PORCENTAJE (%)
<b>PRIMER</b>	26	0	0.00
<b>SEGUNDO</b>	26	1	1.28
<b>TERCER</b>	26	5	6.41
<b>TOTAL</b>	78	06	7.69

$$X^2_c = 7.0 \quad X^2_{t, 0.05, 2} = 5.99 \quad (P \leq 0.05)$$

La tabla 4, muestra la seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco Huancané, por efecto del número de parto se observa que los vacunos primero, segundo y tercer parto mostraron prevalencias de 0.00, 1.28 y 6.41%, respectivamente; estos analizados a la prueba estadística de Ji-cuadrada reflejaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); lo que indica que el número de partos influye en la prevalencia frente a los anticuerpos virales al virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina; esto se debería a que los animales con mayor número de partos es mayor el riesgo de los animales a la presentación de la enfermedad.

De esto se deduce, que de los resultados obtenidos en el presente trabajo uno de los factores predisponentes para la presentación de IBR es la edad del animal referida al mayor número de partos, ya que se obtuvieron mayor cantidad de animales seropositivos en vacas de tercer parto, debido a que estuvieron expuestos a diversos factores de riesgo como la inseminación artificial y monta natural infectados con el virus de la rinotraqueitis infecciosa.

El estudio realizado para determinar la seroprevalencia del Virus Herpes Bovino tipo-1 (VHB-1) agente causal de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en 12 hatos lecheros del

Valle de Lima, el 36% de las muestras estudiadas tuvieron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1. La prevalencia viral dentro de los 12 hatos estuvo entre 2% a 90%; determinando la prevalencia por zonas se detectó anticuerpos contra el VHB-1 en las tres zonas de muestreo (Norte 46%, Centro 13%, Sur 50%) con una prevalencia que varió entre 13% a 50%, reporta Sánchez (2003). La variación de porcentajes, 2% a 90%; 13% a 50% no solo estaría relacionado a las zonas de muestreo sino que también a la edad de los animales muestreados, que esto reflejaría el número de partos, que a mayor edad se presenta mayor número de partos, esta misma característica se observó en la comunidad de Huancollusco, que la mayor seroprevalencia se dio en los animales con tercer parto que reflejo una prevalencia de 6.41%.

El virus herpes bovino tipo 5 (VHB-5), es el genotipo responsable de la encefalitis que es mortal en terneros, indican Wentink y col. (1993) y, Pidone y col. (1999), que este sería el responsable de que nascan terneros con problemas neurológicos o bien en ella se presente abortos, que si bien es cierto que a mayor número de partos es probable que los factores de riesgo como la inseminación artificial con semen infectado o la monta natural con animales infectados, constituyen el riesgo mayor a la infección viral, sin dejar de lado que otros factores como las transmisión horizontal serían los responsables para que se muestren animales seropositivos pero sin manifestaciones clínicas.

**TABLA 5. Seroprevalencia a los anticuerpos virales de la rinotraqueitis infecciosa bovina en el distrito de Taraco Huancané según condición de servicio y número de parto (2013)**

CONDICION DE SERVICIO	NUMERO DE PARTO	NUMERO DE MUESTRA	N° DE VACAS SEROPOSITIVOS	PORCENTAJE (%)
MONTA NATURAL	PRIMER	13	0	0.00 a
	SEGUNDO	13	1	1.28 b
	TERCER	13	3	3.85 c
INSEMINACION ARTIFICIAL	PRIMER	13	0	0.00 a
	SEGUNDO	13	0	0.00 a
	TERCER	13	2	2.56 b
<b>TOTAL</b>		<b>78</b>	<b>6</b>	<b>7.69</b>

$$X^2_c = 34.0$$

$$X^2_{1,0.05, 5} = 11.07$$

$$(P \leq 0.05)$$

En la tabla 5, se observa la seroprevalencia al virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en vacas de la comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco Huancané; donde las vacas de primer parto, segundo y tercer parto con monta natural mostraron 0.00, %1.28% y 3.85% de prevalencia respectivamente; comparado a las vacas de primer parto, segundo y tercer parto, servidas por inseminación artificial que mostraron 0.00%, 0.00% y 2.56% de prevalencia, respectivamente ( $P \leq 0.05$ ). Las vacas del tercer parto tanto por monta natural y por inseminación artificial mostraron la mayor prevalencia, esto probablemente se deba a que los reproductores (toros) estén infectados con este virus pero sin que presenten manifestaciones clínicas, el cual se considera como enfermedad subclínica y sean los principales transmisores de la enfermedad a las hembras, y asimismo la otra condición de servicio por el uso de semen infectado estaría transmitiendo el agente causal.

En cuanto al número de partos en los vacunos, se deben tomar en cuenta situaciones locales que se refieren a manejo, medio ambiente, comercialización y transporte, además de aspectos puntuales sobre epidemiología, inmunidad y características peculiares del virus que inciden en la transmisión y persistencia de la enfermedad; que estas características se están dando en la comunidad de Huancollusco, para ello es fundamental considerar la disponibilidad de vacunas preparadas con virus inactivado o con virus vivo modificado para analizar sus ventajas y desventajas que influyan en su aplicación práctica.

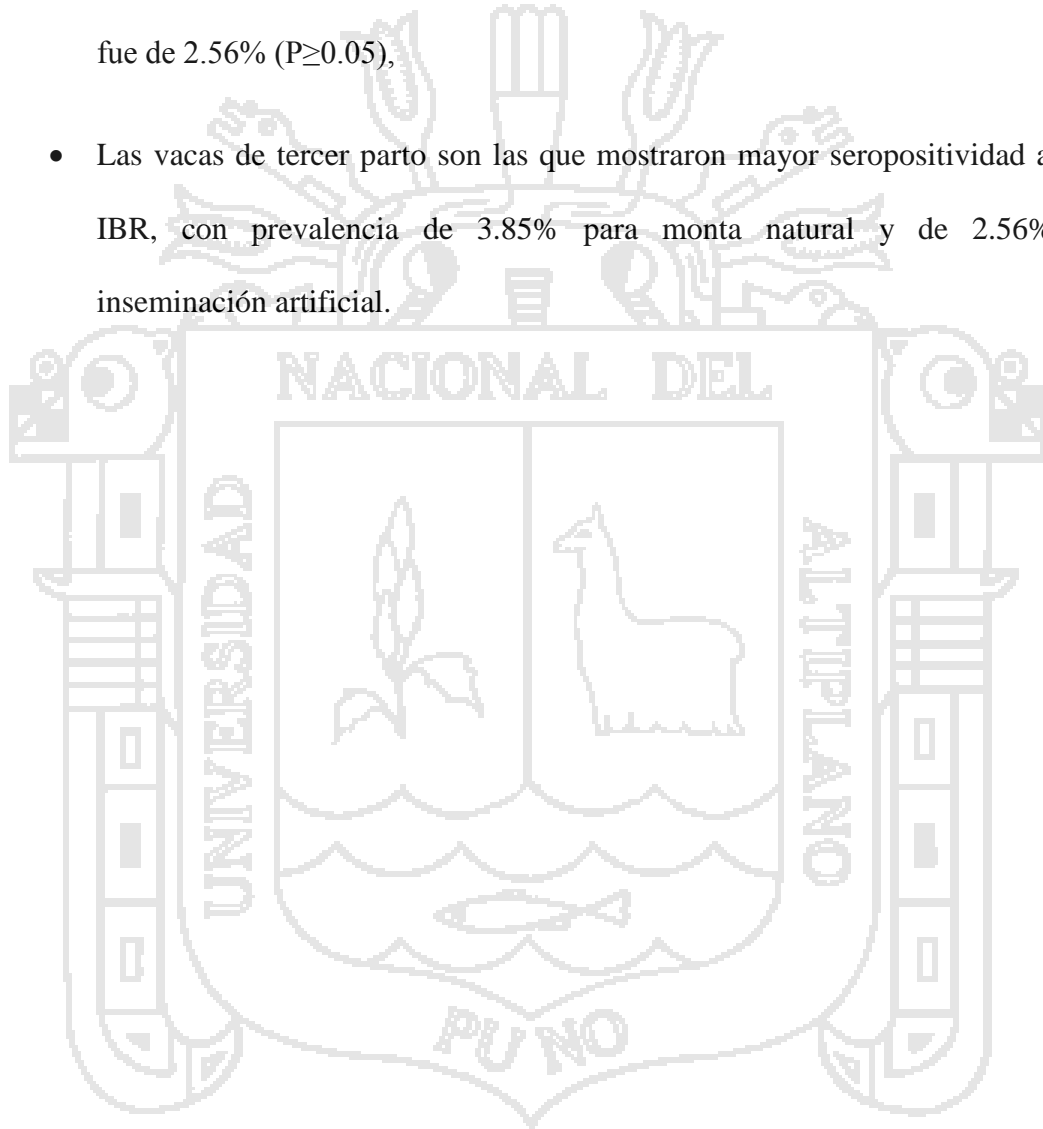
Al respecto cabe mencionar algunas características de la IBR para entender la dinámica de la enfermedad en vacunos en condiciones de servicio y número de partos, ya que el período de incubación es variable pudiendo durar entre 2 y 6 días, tiempo que va a depender de la vía de infección, cantidad de virus infectante y en último término del estado inmunológico del animal. La transmisión del virus es facilitada por las grandes cantidades de virus que se eliminan desde los animales enfermos a través de secreciones respiratorias, oculares y genitales. Desde un punto de vista epidemiológico se acepta que el virus se perpetúa en una población de bovinos por el contacto directo entre animales enfermos y susceptibles, existiendo ciertas evidencias que indicarían que el virus latente puede ser reactivado por factores estresantes indeterminados. Se considera que el ganado bovino es el principal reservorio del VHB-1. La IBR se presenta en forma más severa en el ganado lechero y de doble propósito, probablemente debido al hacinamiento, problemas en el transporte, clima y mayor posibilidad de infecciones con múltiples patógenos; estos factores serían importantes en la determinación de una mayor susceptibilidad a la infección por VHB-1, tal como se obtuvo en los animales con tercer parto en condiciones de inseminación y monta natural de la comunidad de Huancollusco.

Infecciones latentes pueden presentarse después de una infección natural, que pueden ser reactivadas mediante tratamientos con corticosteroides, que conducen a la multiplicación y eliminación de virus aunque los signos clínicos no sean tan graves como en la infección original. La reactivación de infecciones virales latentes en el ganado bovino ha sido demostrada lo que ocurre varios años después de la infección primaria, aceptándose que puede suceder en cualquier época de la vida del animal o cuando el animal muestra mayor número de partos, lo que explica la persistencia de reactores seropositivos de anticuerpos anti VHB-1 durante toda la vida de algunos animales, esta misma característica es probable que se esté presentando en los bovinos de la zona de estudio.



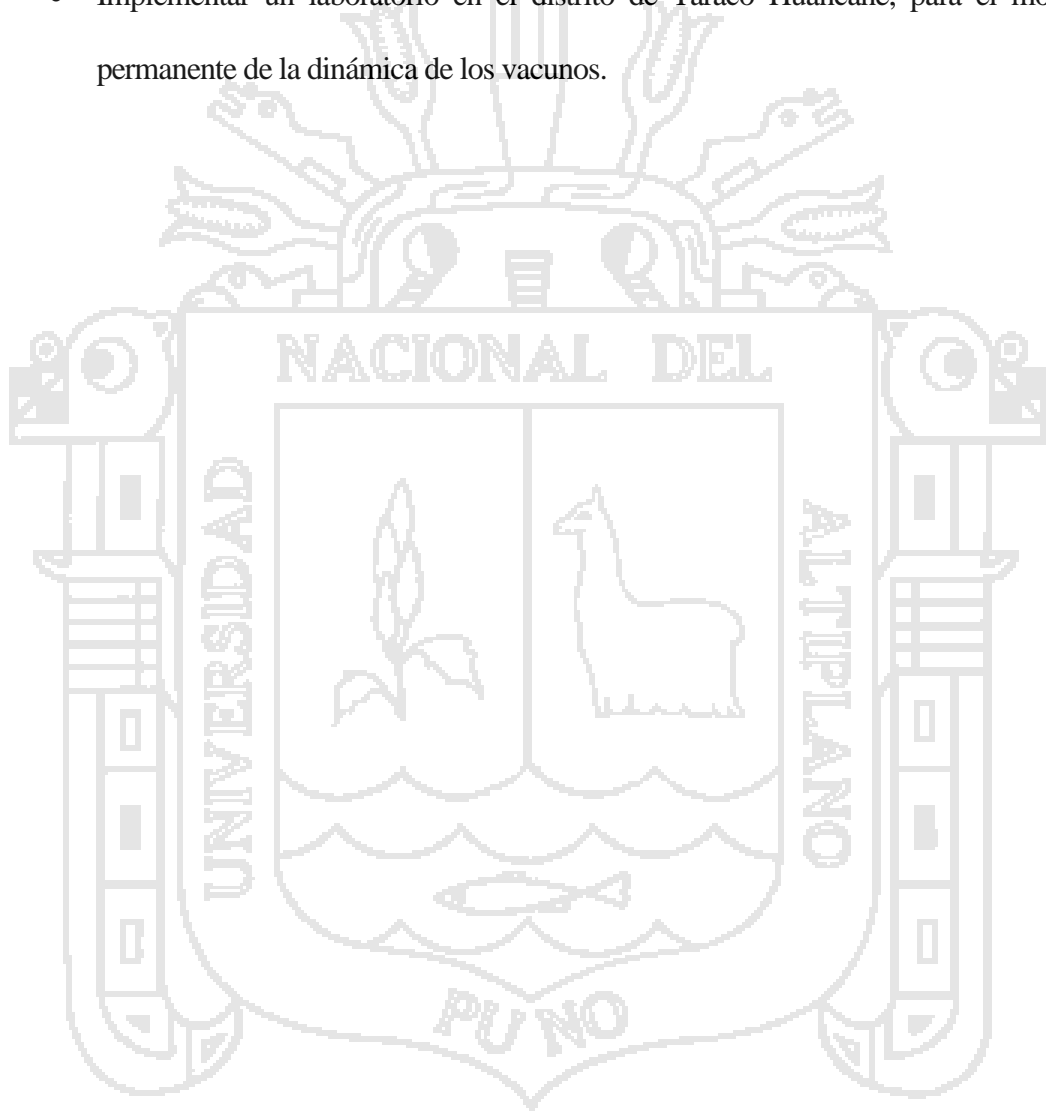
## V. CONCLUSIONES

- La prevalencia general de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos de la comunidad de Huancollusco del distrito de Taraco Huancané fue de 7.69% al virus herpes bovino tipo. La prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos con monta natural fue de 5.13%, y por inseminación artificial fue de 2.56% ( $P \geq 0.05$ ),
- Las vacas de tercer parto son las que mostraron mayor seropositividad al virus IBR, con prevalencia de 3.85% para monta natural y de 2.56% para inseminación artificial.



## VI. RECOMENDACIONES

- Los criadores deben prevenir el ingreso del semen importado y/o nacional obtenidos por contrabando ya que estos no cuentan con control sanitario respectivo.
- Implementar un laboratorio en el distrito de Taraco Huancané, para el monitoreo permanente de la dinámica de los vacunos.





**VII. LITERATURA CITADA**

- Babiuk, L, Van Drunen Lrttel-Van Den Hurk, S.. Y Tikoo, S. 1996. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Vet Microbiol.* 53: 31-42.
- Banks, M 1999 Lining With IBR. *Holstein Journal* 3:84-87.
- Baker, J. 1987. Bovine Viral Diarrhea Virus: A Review. *Javma* 190 (11): 1449-1458.
- Boelaert, F., P. Borona.; B. Soumare., M. Dispas., E. Vanopdenbosch., J. Vermeersch., A Raskin 2000. prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Preventive Veterinary medicine.* 45: 285-295.
- Brownlie, J., LB. Hooper, I. Thompson y M.E. Collins. 1998. Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (bvdv)-the bovine pestivirus. *Clin And Diag Virol* 10:141-150.
- Chase, C.,L. Braun, J. Jessen, Y D. Hurley, 1995. Studying virus cell interactions: finding new ways to prevent infectious bovine rhinotracheitis in Cattle. *Departments Of Veterinary Science And Biology/yicrobiology.*
- Engels, M. y M. Ackermann, 1996. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet Microbiol.* 53: 3-15.
- Fenner, B. 1995. Herpesvirus. En: *Virología Veterinaria.* Ed Acribia. Zaragoza.
- Jones, C. 1999. Alphaherpesvirus latency: its role in disease and survial of the virus in nature. *Adv Virus Res.* 51: 81-133.
- Jones, C, Newby, T., Holt, T., Doster, A., Stone, M., Ciacci-Zanella, J., Webster, C. Y Jackwood, M. 2000. Analysis of latency in cattle'after inoculation with a temperature sensitive mutant of bovine herpesvirus 1 (rib106). *Vaccine.* 18: 3185-3195.
- Kaashoek, M., A. Moerman, J. Madic, F. Rijsewijk, J. Quak, A. Gielkens, y J. Van

- Oirschot, 1994. A conventionally attenuated glycoprotein e-negative strain of bovine herpesvirus type 1 is an efficacious and safe vaccine. *Vaccine*. 12: 439-444.
- Kaashoek, M., Rijsewijk, F., Ruuls, R., Keil, G., Thiry, E., Pastoret, P. Y Van Oirschot, J. 1998. Virulence, Immunogenicity and reactivation of bovine herpesvirus mutants with a deletion in the Ge, Gg, Gi Or Ge gene, *Vaccine*. 16;-802-809.
- Meyers, G., N. Tautz. 1992. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. *Virology* 191: 368.
- Ministerio de Agricultura. 2010. Direccion Regional Agraria Puno Direccion de Informacion Agraria, Archivos de Produccion Pecuaria.
- Obando R. y M. Rodríguez 2005, manual de ganadería doble propósito.
- Obando R., C. 1999. Emphasis on diagnosis and concomitant infections with other viruses of the bovine respiratory disease complex. Swedish University Of Agriculture! Sciences.
- Ordoñez O. 2009. Prevalencia de la rinotraqueitis Infecciosa Bovina Y Diarrea Viral Bovina en el centro de Investigacion y produccion Chuquibambilla de la UNA – Puno. Tesis Bach med Vet y Zoot. Univ. Nac. del Altiplano, Peru.
- (OIE). Office Internacional Of Epizooties, 2000. Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis. En: *Manual Of Standards Diagnostic Tests And Vaccines*.
- Pariente A., E. 2006. Anticuerpos contra el virus causante de la rinotraqueitis infecciosa en vacunos de la Provincia de Melgar, Puno. Tesis Bach Fac Med Vet y Zoot Univ Nac del Altiplano. Perú.
- Pidone, C., M. Galosi, y M. Etcheverrigaray, 1999. Herpesvirus bovinos 1 y 5. *Analecta Veterinaria (Argentina)*. 19: 40-50.

- Rivera, H. 1993. El virus de la diarrea viral bovina (BVD). *Rev Inv Pec Ivita (Perú)*. 6: 1-7.
- 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.
- 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 Pee Ivita (Perú)*. 6: 31-37.
- Richey, E. 1994 IBR In beef cattle (Infections bovine rhinotracheitis/red nose). VM-55. University of florida, Institute of Food And Agricultural Sciences.
- Rodríguez J, Obando C, Duran R., Hidalgo M, Montoya A:, Et Al. Efectos de periodo de incubación sobre la sensibilidad y especificidad de la Prueba de Neutralización Viral para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina *Rev. Científica. VenezueIJun.* 2004, Vol.14 No.3.
- Rosadio, R., H. Rivera, y A. Manchego, 1993. Prevalence of neutralising antibodies to bovine herpesvirus -1 in Peruvian Livestock. *Vet Rec.* 132: 611-612.
- Rojas, R. 2007. *Bovinos Manejo y Crianza*. Primera Edicion. Editorial Universitaria. Puno Perú. 374p.
- Sánchez T. 2003. Seroprevalencia del virus.de la rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado lechero del Valle De Lima. Tesis Bach Fac Med Vet Univ Nac Mayor De San Marcos. Perú.
- Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2012.
- Thiry, E., J. Saliki, M. Bublot, y P. Pastoret, 1987. Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transpot. *Comp Inmun Microbiol Infect Dis.* 10: 59-63.
- Thrusfield, M. 1990. *Epidemiologia Veterinaria*. P. 42. Editorial Acribia. España

- Van Oirschot, J. 1995. Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: A Brief Review. *Veterinary Quartely*. 17: 29-33.
- Van Oirschot, J., M. Kaashoek, M. Maris-Veldhuis, y F. Rijsewijk, 1999. Strains of bovine herpesvirus 1 that do not express an epitope on glycoprotein e in cell culture still induce antibodies that can be detected in a ge-blocking elisa. *Vet Microbiol*. 65: 103-113.
- Van Oirschot, J., F. Rijsewijk, y M. Kaashoek. 1996. Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. *Vet Microbiol*. 53:43-54.
- Villacaqui A., Eglinton, Manchego S., Alberto, Bazan R., Víctor Et Al. 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.
- Wellenberg, G., E. Verstraten, M. Mars, y V. Oirschot. 1998a. Elisa detection of antibodies to glycoprotein e of bovine herpesvirus 1 in buik milk samples. *Vet Rec*. 142: 219-220.
- Wellenberg, G., E. Verstraten, M. Mars, y O. Van. 1998b. Detection of bovine herpesvirus 1 glycoprotein e antibodies in individual milk samples by enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol*36:409-413.
- Wentink, G., J. Van Oirschot, y J. Verhoeff. 1993. Risk of infection with bovine herpes virus 1 (bvh-1): a review. *Veterinary Quartely*. 15: 30-33
- Winkler, M., A. Coster, y C. Jones. 2000. Persistente and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. *J Virol*. 74: 5337-46.
- Winkler, M., L. Schang, A. Doster, T. Holt, y C. Jones, 2000b. Análisis of cyclins in trigeminal ganglio of calves infected with bovine herpesvirus-1 *journal Of General Virology*. 81: 2993-2998.

Zacarias R. 2002. Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Bovinos Criollos de crianza extensiva de la Provincia de Parinacochas Ayacucho. Tesis Bach Fac Med Vet Univ Nac Mayor de San Marcos. Perú.

Zanabria, V., H. Rivera., y R. Rosadio. 2000. Etiología del Síndrome Neurológico Agudo en Vacunos de Engorde en lima. Rev. Inv. Vet. Perú 11: 67-85.



## VIII. ANEXOS.

## ANEXO 1.

**CUADRO 6: Prueba de ji cuadrado para prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos de la comunidad de huancollusco taraco huancane, según condición de servicio.**

CONDICION DE SERVICIO	N° DE VACUNOS EVALUADOS	FRECUENCIAS		$\sum (O_i - E_i)^2$
		O <sub>i</sub>	E <sub>i</sub>	
MONTA NATURAL	39	04	3.0	0.333
INSEM. ARTIFICIAL	39	02	3.0	0.333
TOTAL	78	06		0.666

$$X^2_c = 0.67 \quad X^2_{1, 0.05, 1} = 3.84 \quad (P \geq 0.05)$$

**CUADRO 7: Prueba de ji cuadrado para prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos de la comunidad de huancollusco taraco huancane, según número de partos.**

NUMERO DE PARTO	N° DE VACUNOS EVALUADOS	FRECUENCIAS		$\sum (O_i - E_i)^2$
		O <sub>i</sub>	E <sub>i</sub>	
PRIMERO	26	00	2.0	2.0
SEGUNDO	26	01	2.0	0.5
TERCERO	26	05	2.0	4.5
TOTAL	160	06		7.0

$$X^2_c = 7.0 \quad X^2_{2, 0.05, 2} = 5.99 \quad (P \leq 0.05)$$

**CUADRO 8: Prueba de ji cuadrado para prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en vacunos de la comunidad de Huancollusco Taraco Huancane, según número de partos/condicion de servicio.**

CONDICION DE SERVICIO	NUMERO DE PARTO	N° DE VACUNOS EVALUADOS	FRECUENCIAS		$\sum (O_i - E_i)^2$
			O <sub>i</sub>	E <sub>i</sub>	
MONTA NATURAL	PRIMERO	13	00	1.0	1.0
	SEGUNDO	13	01	1.0	0.0
	TERCERO	13	05	1.0	16.0
INSEMINACION ARTIFICIAL	PRIMERO	13	00	1.0	1.0
	SEGUNDO	13	01	1.0	0.0
	TERCERO	13	05	1.0	16.0
	<b>TOTAL</b>	78	06		34.0

$$X^2_c = 34.0$$

$$X^2_{t, 0.05, 5} = 11.07 \quad (P \leq 0.05)$$

**ANEXO 2.****EQUIPOS Y MATERIALES****Equipos e Instrumentos**

- Estufa incubadora calibrada a 37°C
- Balanza analítica.
- Refrigeradora convencional.
- Congeladora a -20°C.
- Ponteciómetro.
- Contómetro de tiempo.
- Lector de ELISA.
- Vortex.
- Micro pipeta canal simple 20 a 200 µl.
- Micropipeta canal simple 100 a 1000 µl.
- Micro pipetas multicanal 20-200UI.
- Micropipeta de canal simple: 20 – 200 µl.
- Erlenmeyer de diferentes capacidades (50 ,100ml).
- Micro placas (1).
- Gradillas.
- Vasos de precipitado de 100mL, 200mL, 500mL y 1000ml.
- Probetas de 100mL, 200mL.
- Bandejas de 30cm. de largo por 20 de ancho para depósito de reactivos..
- Papel toalla.
- Eppendorf de 1 mL y 2mL.
- Tips.
- Cámara húmeda.



- Agujas vacutainer N° 21G. x 2 pulgadas.
- Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL.
- Tubos vacutainer de 10mL.
- Pipetas automáticas o manuales.
- Algodón.
- Alcohol yodado.

### 1. Materiales de Registro

- Lapiceros de tinta indeleble.
- Registro de bovinos

### 2. Biológicos

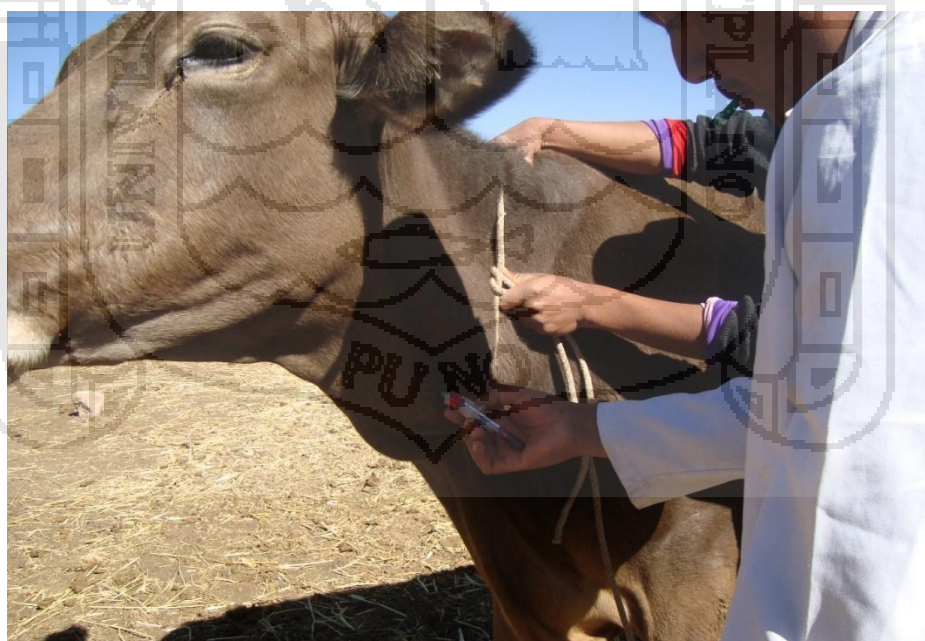
- IDEXX chekit toxotest antibody ELISA, que consta de:
  - Conjugado IgG anti bovino
  - Control negativo (Negative control ELISA (bovine) x 1mL)
  - Control positivo (positive control ELISA (bovine) x 1mL)
  - Solución diluyente/lavado
  - Solución stop
  - Sustrato cromógeno TMB
  - Sueros sanguíneo problema
  - Agua bidestilada deshionizada

**ANEXO 3.**

**Animales a muestrear**



**Toma de muestras de la vena yugular**



**Viales conteniendo suero sanguíneo**



**Kit de Elisa**



Instrumental y reactivos del kit de Elisa



Lector de Elisa



Adición de reactivos I



Adición de reactivos II



Llenado de pocillos con los reactivos



Muestras lista para la lectura.



Reactivos de lavado de posillos



Lectura de la Prueba de Elisa.

