

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA
(IBR) EN VACAS EN LACTACIÓN DEL DISTRITO DE LAMPA”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. PERCY ZAPANA ILLACHURA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO-PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANOFACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**TESIS*****“Seroprevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR)
en Vacas en Lactación del Distrito de Lampa”***

PRESENTADO POR:

Bach. Percy Zapana IllachuraPARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO Y
ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE DE JURADO:

Mg.Sc. ROLANDO DANIEL ROJAS ESPINOZA

PRIMER MIEMBRO

MVZ. DANIEL HERMILIO RAMOS DUEÑAS

SEGUNDO MIEMBRO

Mg.Sc. OSCAR DAVID OROS BUTRON

DIRECTOR DE TESIS

Dr. DOMINGO ALBERTO RUELAS CALLOPAZA

ASESOR

Mg.Sc. PEDRO UBALDO COILA AÑASCO

ÁREA: Salud animal

TEMA: Enfermedad infecciosa

DEDICATORIA

A Jehová y Jesús todo poderoso, mi padre Nicolás Zapana y mi madre Delia Illachura por su bendición y su constante apoyo y esfuerzo durante mi formación profesional.

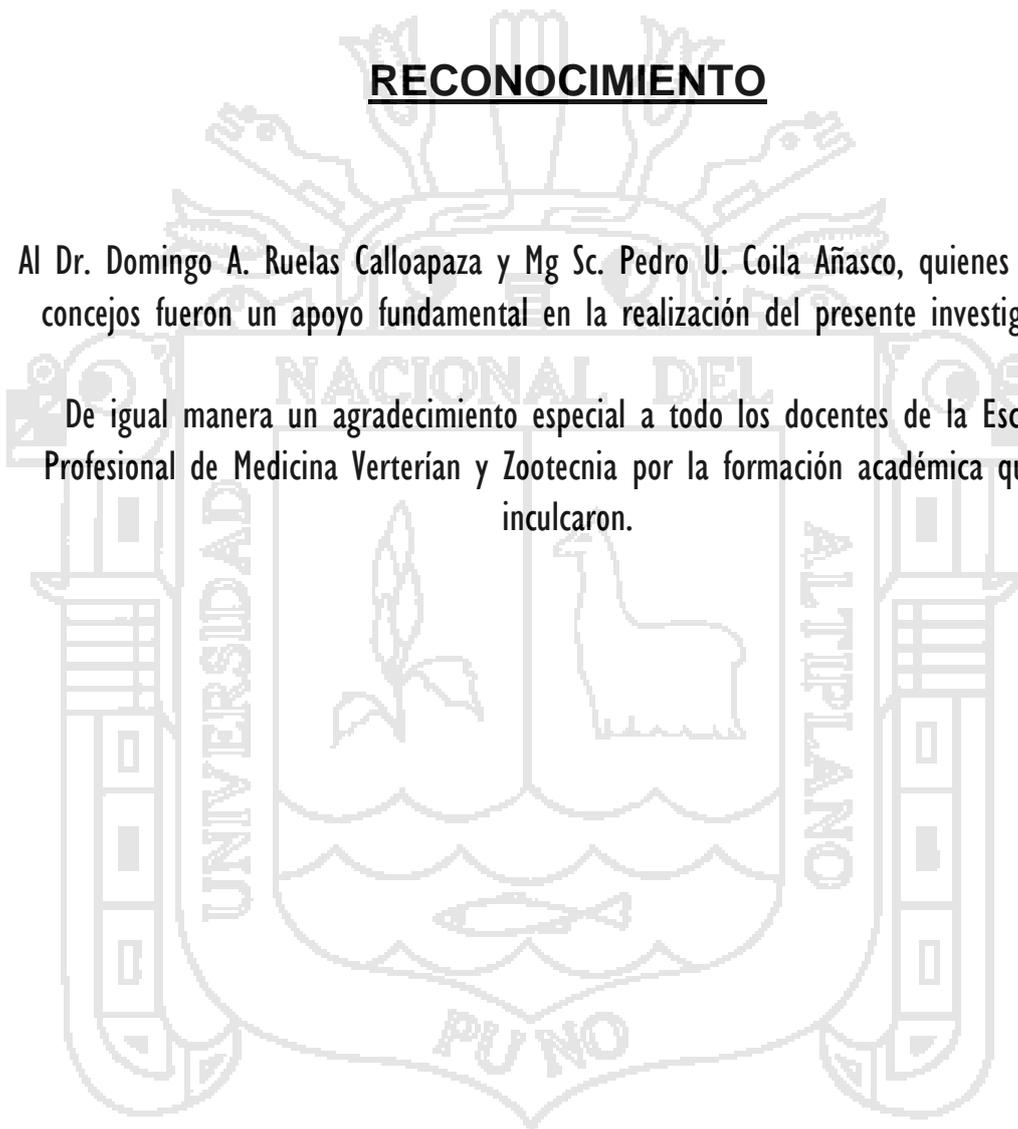
A mi esposa Delia Ticona y mis hijos Hedison Andy y Yuvel Atena, quienes fueron mi impulso invaluable para la culminación de mi carrera profesional y mis deseos de superación.



RECONOCIMIENTO

Al Dr. Domingo A. Ruelas Calloapaza y Mg Sc. Pedro U. Coila Añasco, quienes con sus concejos fueron un apoyo fundamental en la realización del presente investigación.

De igual manera un agradecimiento especial a todo los docentes de la Escuela Profesional de Medicina Verterían y Zootecnia por la formación académica que me inculcaron.



ÍNDICE

	Pag.
❖ RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
IV. RESULTADO Y DISCUSION	32
V. CONCLUSIONES	39
VI. RECOMENDACIONES	40
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
VIII. ANEXOS	48

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la Seroprevalencia de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en vacas en lactación de hatos de los pequeños productores del Distrito de Lampa mediante la técnica de ELISA indirecta utilizando kit HerdChek® IBR-gB de IDEXX®. Durante los meses de octubre a diciembre del 2014, se obtuvieron muestras de sangre de 72 vacas pertenecientes a 14 pequeños productores, utilizando tubos vacutainer los cuales se transportaron en refrigeración al Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA-Puno, para la obtención de suero sanguíneo por centrifugación, congelación (-20°C) y posterior análisis. Los resultados indican que la seroprevalencia general de IBR en vacas en producción del Distrito de Lampa es de 27.8% (20/72). Así mismo, la seroprevalencia a nivel del distrito de Lampa fue de 21.4% (3/14), encontrándose que los tres (3) hatos pertenecientes a las Comunidades Campesinas son positivos a IBR y los 11 hatos pertenecientes a productores particulares fueron negativos; lo que evidencia del descuido y mal manejo del ganado comunal en relación al particular.

Palabras clave: IBR, VHB-1, ELISA, Lampa, Vacas.

I. INTRODUCCIÓN

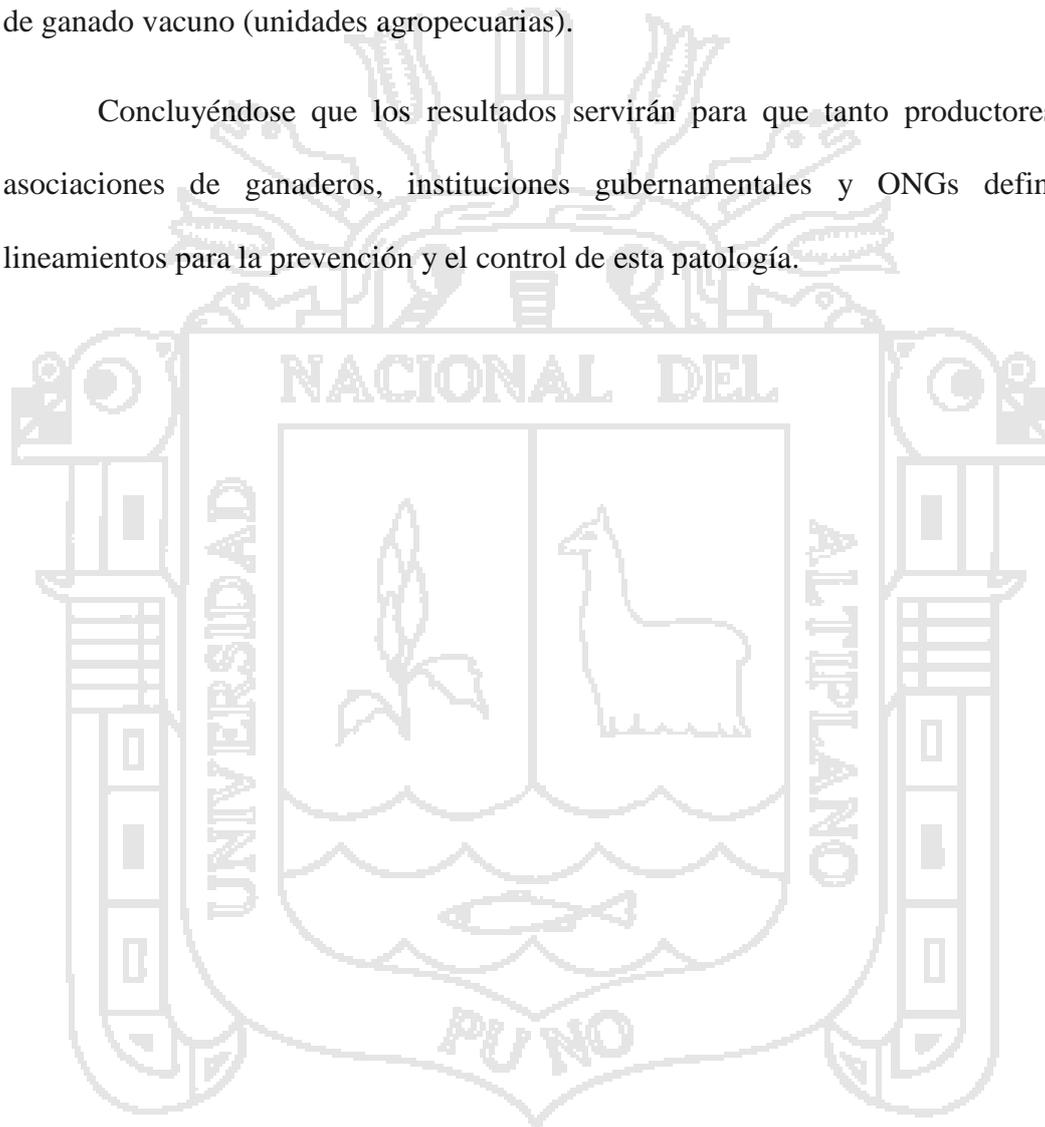
En la Región Puno, en los últimos años se viene trabajando de manera constante en el mejoramiento genético del ganado bovino productor de leche utilizando, sobre todo, técnicas de inseminación artificial tanto con semen fresco como con semen congelado procedentes de toros nacionales e importados. Pero, como consecuencia de este mejoramiento genético a través de la inseminación artificial el asedio de patologías de origen viral, bacteriano y protozoarios viene causando innumerables pérdidas económicas por un descenso en el número de partos, con las respectivas pérdidas económicas para los productores. Una de las enfermedades altamente contagiosa, viene causando estragos en la ganadería bovina es la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) cuyo agente causal es el Herpes Virus Bovino tipo 1 (VHB-1).

El SENASA demostró que el virus de la IBR se encuentra ampliamente difundido en las ganaderías lecheras y de doble propósito en el Perú, donde todos los departamentos, excepto Moquegua, presentaron animales positivos, variando la prevalencia desde 3.92% hasta 87.65%. Por ello, se hacía imperativo conocer la prevalencia de IBR en el Distrito de Lampa, en donde también la ganadería lechera crece con auge.

Al igual que en el resto de distritos de la Región Puno, en el Distrito de Lampa también los pequeños productores de leche se quejan de problemas de infertilidad y abortos en sus hatos, desconociéndose la prevalencia de IBR. Como se sabe, el VHB-1 puede ser introducido en el hato por el ingreso de toros, vacas o vaquillas infectadas, uso de semen infectado, ingreso de animales de ganaderías vecinas o bien por la presencia de vacas portadoras sanas. Casi el 100% de los productores particulares y comunales del Distrito de Lampa hacen uso de la inseminación artificial como tecnología reproductiva.

Por esta necesidad, se ha diseñado el presente estudio cuyo objetivo general fue determinar la seroprevalencia de la IBR de vacas en lactación de los pequeños productores del Distrito de Lampa. Los objetivos específicos fueron identificar la presencia de anticuerpos específicos anti-VHB-1 mediante la técnica de ELISA en muestras de suero sanguíneo y determinar la prevalencia de IBR en los hatos de los pequeños productores de ganado vacuno (unidades agropecuarias).

Concluyéndose que los resultados servirán para que tanto productores como asociaciones de ganaderos, instituciones gubernamentales y ONGs definan los lineamientos para la prevención y el control de esta patología.



II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR)

a) *Historia*

En 1954, los investigadores Schroeder y Moys reportaron el primer caso de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en California, Estados Unidos. La IBR es descrita como una nueva enfermedad del ganado lechero el cual aparece repentinamente causando fiebre alta, agalactia y signos respiratorios. En aquel tiempo se desconocía la causa pero era posible determinar que su transmisión era por medio de tejidos y exudados de animales contaminados (Schroeder & Moys, 1954).

A partir de la primera notificación, la enfermedad fue descrita en bovinos lecheros y de carne de todas las edades, principalmente en animales criados en sistema intensivo y ocasionalmente en los de sistema extensivo (McKercher, 1959).

En centros de inseminación artificial han sido descritos brotes de la enfermedad por Huck en 1961 mientras que Saxegaard et al, en 1966, realizaron aislamientos de este agente de toros clínicamente sanos (Vera et al., 2006). Sprabdrow, en 1968 recuperó el virus de pajillas de semen congeladas (citado por Gibbs y Rweyemamu, 1977).

Años más tarde se comprobó que el mismo agente de la IBR era responsable de enfermedades venéreas como la vulvovaginitis pustular en vacas. Otros estudios determinaron que el virus podía haber llegado a Norteamérica a través de animales con infección subclínica provenientes de Alemania. Posteriormente, la IBR fue notificada en muchas partes del mundo (Yates, 1982).

La IBR, conocida como nariz roja, lloriqueo de los terneros, vaginitis vesicular, exantema coital; es una enfermedad altamente contagiosa causada por un herpes virus que se manifiesta clínicamente de diferentes maneras (Blood y Radostits, 1992).

La IBR es una enfermedad infecciosa, de etiología viral, que se presenta en el ganado bovino, afectando los sistemas respiratorio, genital y nervioso, El agente causal pertenece a la familia Herpesviridae, clasificado como Herpes virus bovino tipo 1 (HVBo-1) (Guarino et al., 2001).

b) *Etiología: el virus de la IBR*

Taxonomía y estructura:

El HVBo-1 forma parte del género *Varicellovirus*, en la subfamilia Alphaherpesvirinae, que pertenece a la familia Herpesviridae, en el orden Herpesvirales. El genoma vírico consiste en un ADN bicatenario que codifica unas 70 proteínas, de las cuales se han identificado 33 estructurales y más de 15 no estructurales. Las glicoproteínas víricas, que se encuentran en la envoltura de la superficie del virión, intervienen de forma importante en la patogenia y la inmunidad (Fig. 1). El HVBo-1 puede pertenecer al subtipo 1.1, al 1.2a o al 1.2b. Los subtipos HVBo-1.2 pueden ser menos virulentos que el subtipo 1.1. El anteriormente denominado HVBo-1.3, que puede actuar como agente neuropatógeno en los terneros, se ha reclasificado como HVBo-5. El HVBo-1 presenta una estrecha relación antigénica y genética con otros alfa herpesvirus de los rumiantes: el HVBo-5, el herpesvirus caprino 1, el herpesvirus de los cérvidos tipo 1 (ciervo común), el herpesvirus de los cérvidos tipo 2 (reno), herpesvirus de los búfalos tipo 1 y el herpesvirus del alce tipo 1 (Thiry *et al.*, 2006).

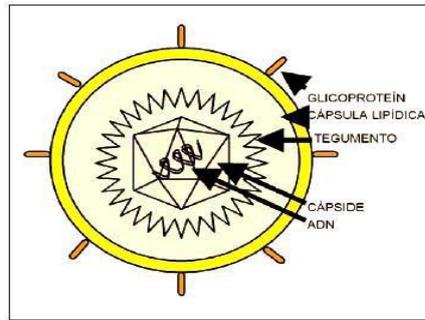


Fig. 1: Estructura del VHB-1.

El virus es un patógeno citopático altamente contagioso que replica fácilmente dentro de una célula creando puentes intercelulares que le permiten tomar posesión de células vecinas sanas sin ser expuesto a los mecanismos de defensa humoral del organismo. Está asociado principalmente con problemas reproductivos, rinotraqueítis, conjuntivitis y problemas nerviosos. La presentación concomitante de cuadros respiratorios y venéreos es rara, debido a que son causados por subtipos virales diferentes. El Herpesvirus cuenta con una escasa resistencia fuera del organismo animal hospedador, es importante excluir la difusión inmediata del virus, que muestra una acusada sensibilidad a la formalina al 5 %, lejía al 0.5 %, ácido peracético al 0.5 %, así como a los disolventes de las grasas: éter, cloroformo, acetona, etc. (Alvarado et al, 1993).

Clasificación

El Herpesvirus bovino tipo 1, pertenece a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae, género Varicellovirus. Ha sido clasificado en dos subtipos: HVB-1.1 y HVB-1.2, a su vez el HVB-1.2 se divide en HVB-1.2^a y HVB-1.2^b, mediante el uso de electroforesis de proteínas virales en geles de poliacrilamida, el uso de paneles de anticuerpos monoclonales y el análisis de las diferencias del ácido nucleico viral detectadas por la digestión con enzimas de restricción o por amplificación diferencial en

el ensayo de PCR El subtipo 1.1 se asocia con la forma respiratoria de la enfermedad, IBR, mientras que el subtipo 1.2 se asocia tanto con esta enfermedad respiratoria como con las genitales, IPV/IPB. Ellos difieren en los epítopes de la glicoproteína C (gC), lo cual puede alterar la adhesión viral e influir en las diferentes virulencias que presentan (Ackermann, 1990).

Las cepas del subtipo HVB-1.1 son las más virulentas y causan las enfermedades de mayor severidad asociadas a las infecciones con HVB-1. Este subtipo es excretado en altos títulos en secreciones nasales y diseminado más efectivamente que el 1.2 (Ruiz, 1977).

Características biológicas

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 de alrededor de 100 nm de diámetro compuesta de 162 capsómeros (150 hexámeros y 12 pentámeros). La cápside está rodeada por una capa de material globular, conocido como tegumento, y alrededor de él, una envoltura que contiene las espículas de glicoproteínas virales en su superficie (Murphy et al., 1999).

Genoma

El VHB-1 contiene un genoma ADN de doble banda de aproximadamente 135000-140000 par de bases, medidas por mapeo por restricción de endonucleasas. Dicho genoma está dividido en dos segmentos, uno largo (UL) de 102-104 kpb y uno corto (US) de 10.5-11 kpb (ambas longitudes de segmentos medidas por microscopía electrónica); estos dos segmentos están separados por una sección interna repetida y flanqueada por regiones repetidas invertidas de cerca de 24 kpb. El genoma del VHB-1 puede codificar un número aproximado de 70 proteínas, de las cuales solo cerca de 54 se han logrado

identificar en la infección productiva. De las proteínas virales identificadas hasta el momento se han clasificado 15 no estructurales y 33 estructurales, de las cuales 13 están involucradas en la envoltura viral, 14 en la nucleocápside y 6 cuya función no se ha establecido (Rodas et al., 1996).

El genoma del BHV-1 tiene la capacidad de codificar varias proteínas distintas, con pesos moleculares que van desde los 42 hasta los 180 Kda. Las principales glicoproteínas codificadas son: I, II, III, IV, 42 y 93; las otras identificadas hasta ahora son la E, G y la I del virus herpes simples-1 (HSV-1). De acuerdo a mapeos genéticos realizados se ha encontrado similitud entre glicoproteínas del VHB-1 y el HSV-1, por lo cual se ha propuesto un cambio de nomenclatura de las glicoproteínas del HVB-1 para equipararlas con el VHS-1 (Babiuk, 1985).

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 a demás 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, 1995).

c) ***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 (Blood y Radostitis, 1992).

El VHB-1 se transmite en forma directa por aerosoles o por contacto con animales infectados, a partir de secreciones respiratorias, oculares y del tracto reproductivo, o puede ser transmitido por el semen, durante la monta natural o inseminación artificial (Wiedmann, 1993) e incluso durante la transferencia de embriones (Ríos Z. 2000) o en forma indirecta a través de personas y equipos, sobrecargas extremas por transporte pueden provocar la activación de la infección latente, la producción y excreción del virus y, en casos especiales, manifestaciones clínicas (Jubb, 1993).

La forma de contagio más importante de la infección genital está dada por el toro, ya que el virus tiene receptores en el tracto genital de la vaca facilitando la infección para la presentación de la vulvovaginitis pustular infecciosa (Ruiz, 1977), otro factor importante para la infección genital son los golpes dados con la cola y las manipulaciones de los animales, no debe excluirse la diseminación del virus por insectos (Thrusfield, 1990).

El semen contaminado por VHB-1 puede venir de individuos clínicamente sanos. En Argentina se realizó un estudio sobre la presencia del BHV-1 en semen congelado, el cual es comercializado en ese país y se detectó la presencia del virus en 17.5 % de las muestras analizadas (Golan et al., 1990).

El paso del VHB-1 de una población a otra y el ingreso a territorios y países libres se produce casi exclusivamente a través de animales con la infección latente y, en ciertas circunstancias, mediante semen contaminado por el virus (Aycardy et al., 1976).

Una hembra infectada, introducida al hato puede ser factor desencadenante de la enfermedad, ya que puede infectar al toro y por ende a otras vacas (Ruiz, 1977).

La transmisión del virus puede ser **horizontal**; es decir, por contacto directo, a través de las descargas oculonasales, la saliva, el semen, las secreciones uterinas, los

fluidos placentarios, las heces, la orina y la leche (Flint y col., 2000). El contacto directo especialmente nariz-nariz, es el mecanismo más eficiente de transmisión en condiciones naturales (Houe, 1995). El semen crudo o criopreservado de toros es una importante vía de transmisión horizontal (Houe, 1999). También es posible la transmisión por transferencia embrionaria. La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además, los cultivos celulares y el suero fetal bovino utilizados en la transferencia embrionaria pueden estar contaminados (Costable et al, 1993). Debido a la alta distribución que hay entre hatos de ganado y de la asociación que existe entre el virus y los fluidos del animal, el IBR representa un problema potencial en la inseminación artificial o reproducción asistida. El semen contaminado de toros infectados pueden transmitir esta enfermedad a vacas inseminadas artificialmente, también es posible que el semen de toros que presenten infecciones testiculares persistentes pueda infectar a la vaca (Gard et al., 2007). Adicionalmente, fluidos, gametos y otras células derivadas de algún animal enfermo representa grandes fuentes de contaminación cuando estos “materiales de origen animal” son usados en la producción y transferencia de embriones (Gard et al., 2007).

También es posible la transmisión **vertical**, es decir, el virus se puede diseminar a través de la placenta; si el feto es infectado antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación aproximadamente), desarrollará una infección persistente (IP); estos terneros pueden actuar como fuente de infección. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los IP en su primer año de vida, muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen (los toros IP, infectan a las hembras durante la monta directa y la inseminación artificial). Hembras IP siempre dan terneros IP. La transmisión vertical siempre ocurre luego de la transferencia embrionaria si el receptor es IP, o la vaca donante es IP y no se realiza el correcto lavado del embrión (Houe, 1995; Houe, 1999; Lértora, 2003).

La principal forma de transmisión del virus **entre hatos** es a través de la adquisición de bovinos IP o de hembras que transportan fetos IP. Otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con bovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda (Houe, 1995; Houe 1999).

La tasa de transmisión **dentro del hato** depende de la forma de introducción del virus al mismo. Cuando un animal IP es introducido a un hato, la transmisión a animales susceptibles ocurre rápidamente en la mayoría de los animales del hato; por el contrario, cuando la infección se inicia con un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje del hato antes de que la transmisión cese. El sistema de producción y la virulencia de las cepas también participan en la tasa de transmisión; la diseminación es más eficiente en sistemas de producción que permiten un estrecho contacto entre animales infectados con cepas virulentas (Houe, 1999; Lértora, 2003).

d) Latencia

El estado de latencia es aquel donde el virus permanece viable pero no activo en el animal huésped, con períodos de reactivación y reexcreción, y el cual no se puede detectar por procedimientos virológicos convencionales. Posterior a la replicación inicial en el sitio de la infección, el virus entra al sistema nervioso y va por vía axonal centrípeta a localizarse en ganglios nerviosos; en el trigémino en infecciones respiratorias y en cordones sacro espinales y ciático en infecciones genitales (Góngora et al., 1991; Rodas et al., 1996).

Como otros miembros de la subfamilia de Alphaherpesvirinae, el VHB-1 puede establecer infecciones latentes en neuronas de ganglios sensoriales, principalmente en el

ganglio trigémino, tonsilas y en ganglio sacro en caso de infecciones en los genitales (Blaha, 1995), este es uno de los mayores problemas para el control de la infección del VHB-1 por la capacidad del virus de permanecer en estado latente y persistir por largos períodos de tiempo reactivándose periódicamente, como consecuencia de eventos estresantes o por tratamiento con corticoides (Whetstone et al., 1989).

El ADN viral puede persistir en estado de latencia de por vida en un hospedero infectado o puede reactivarse y diseminarse a animales susceptibles. Los mecanismos involucrados en el fenómeno de latencia no están del todo esclarecidos. Se han sugerido varios factores que intervienen en el proceso, dentro de los cuales hay factores asociados al virus y factores asociados al huésped (Blaha, 1995).

Aunque se desconoce el mecanismo de reactivación viral, al parecer está relacionado con eventos estresantes como transporte, hacinamiento, cambios climáticos, cambios de hormonas durante la gestación, superinfección con otros virus. Además, se ha demostrado que animales tratados con corticosteroides, pueden demostrar reactivación viral, quizás asociada a un fenómeno de inmunosupresión causada por ese tipo de medicamentos, lo cual ha sido comprobado en diversos estudios (Hotman & Easterday, 1983; Góngora et al., 1991).

e) ***Epidemiología***

La distribución geográfica del IBR es mundial, se ha descrito la presencia de VHB-1 en varios países de los cinco continentes con distintos grados de prevalencia; todas las razas son susceptibles a la enfermedad, aunque se presenta con mayor frecuencia en animales mayores de seis meses de edad, esto en razón de que los niveles de anticuerpos maternos duran de 1 a 6 meses. Se ha reportado que la morbilidad en ganado de leche es del 6% y la mortalidad del 3%, en comparación con el ganado de carne en el

cual la morbilidad puede alcanzar el 20-30% (Blood y Radostits, 1992; Gibbs y Rweyemamu, 1977).

Aunque rara vez se ha reportado la enfermedad, se puede presentar muy esporádicamente en cerdos tanto, en la forma respiratoria como en la forma genital. También se han descrito niveles de anticuerpos en venados, mamíferos silvestres y búfalos en estos últimos se han reportado prevalencias del 52.5% en una zona ganadera de la India (Renaukaradhya, 1996).

f) Patogénesis

En la enfermedad respiratoria, el virus se localiza en células epiteliales y agregados linfoides de cavidades nasales y vías aéreas superiores, se multiplica en células epiteliales, células de submucosa y tejido conectivo; el efecto viral causa pérdida de cilios, hipertrofia epitelial e infiltración de neutrófilos; posterior a esta replicación inicial hay una viremia corta (Arboleda et al, 1996; Blood and Radostits, 1992).

Además causa un efecto inmunodrepsor sobre los macrófagos alveolares. El VHB-1 causa una bronco constricción excesiva por modulación farmacológica del músculo liso, favoreciendo de esta manera el acumulo de secreciones en vías aéreas inferiores, predisponiendo el animal a la presentación de infecciones bacterianas secundarias, en especial por *Pasteurella*, que junto a virus como el de PI-3 y el mismo VHB-1, están comprometidos en la fisiopatología del complejo respiratorio bovino (Arboleda et al., 1996; Conlon et al., 1987).

Pueden ocurrir infecciones del tracto respiratorio superior o del tracto genital, debido a que la respuesta inmune es eficiente, estas infecciones son usualmente autolimitantes y la infección del animal dura 1 a 2 semanas (Blood y Radostits, 1992).

A partir de la mucosa nasal, el virus puede colonizar las células de las

terminaciones nerviosas y recorrer de forma centrípeta el sistema nervioso. En inoculaciones intranasales experimentales, el virus puede ser aislado del ganglio trigémino al cuarto día post inoculación, al quinto día alcanza el tallo cerebral y al día 11 se puede aislar de la corteza cerebral, causando encefalitis no supurativa (Blood and Radostits, 1992; George, 1991).

Después de la infección primaria el VHB-1 puede infectar monocitos con moderada replicación viral y también puede infectar macrófagos y linfocitos los cuales pueden servir de vehículo hacia diferentes tejidos en el animal. El virus puede causar una invasión sistémica al ser transportado por monocitos y leucocitos periféricos, logrando alcanzar la placenta y el feto, produciendo aborto, pero se observa principalmente en el último tercio de la gestación. Se ha demostrado el efecto de la alta mortalidad embrionaria del virus; cuando se expone la vaca en los primeros 7 días post servicios al BHV-1 este pasa a través del epitelio uterino, infecta las membranas embrionarias y causa la muerte del embrión; la cual puede pasar desapercibida o puede generar un ciclo estral prolongado (Blood and Radostits, 1992).

El VHB-1 inoculado experimentalmente (para simular el efecto de semen contaminado) en el útero, causa una endometritis necrotizante local severa, la cual se resuelve entre 1 y 2 semanas post infección; lo que demuestra la infertilidad temporal que puede causar un semen contaminado con el virus. Posteriormente a la recuperación uterina no se vuelven a presentar lesiones herpéticas, sugiriendo de esta manera que el VHB-1 no es responsable de falla gestacional repetida en el ganado (Blood and Radostits, 1992; Miller et al., 1991).

A nivel ovárico se ha demostrado un efecto patológico causado por el virus, caracterizado por ooforitis necrotizante y lesión sobre el cuerpo lúteo, siendo este último muy susceptible al virus, en especial en los primeros tres días de ovulación, período en el

cual se comienza a formar está estructura ovárica. Está acción puede alterar el ciclo estral, generando ciclos alargados (Smith et al, 1990).

g) Signos y patología

La enfermedad se caracteriza por una amplia variedad de signos clínicos, como consecuencia de la acción del virus sobre los sistemas respiratorio, genital, digestivo y nervioso, por lo que se describen diferentes formas de presentación de la enfermedad (Alvarado et al., 1993; Rios y Alberto, 2000).

- **Forma respiratoria:** El período de incubación después de la exposición experimental va de 2 a 7 días. La enfermedad cursa con fiebre alta (hasta 42°C), disnea, anorexia, hipertermia de la mucosa nasal, disminución en la producción láctea y presentación de secreciones nasales que van desde serosas hasta mucopurulentas por complicaciones bacterianas; la recuperación de la enfermedad se da en 10 a 15 días, aunque llega a ser mortal en los casos que se presenta bronquiolitis obstructiva extensa (Arboleda et al., 1996; Blood y Radostits, 1992).

Se presenta una forma aguda fulminante, que se caracteriza por aparición súbita de una infección respiratoria severa de rápida diseminación, en donde hay fiebre dificultad respiratoria y puede aparecer una diarrea profusa, por lo que se necesita diferenciar el diagnóstico con otras enfermedades virales como DVB. El cuadro clínico puede acompañarse de conjuntivitis aunque sin involucrar la córnea. Esta forma es la más significativa e importante económicamente, debido a la alta morbilidad, muerte de algunos animales, pérdida de peso, disminución en los parámetros productivos como lo son ganancia de peso y producción de leche (Ruiz, 1977).

- **Forma abortigénica:** Puede ser una manifestación de la forma genital o respiratoria en vacas gestantes. Pero por lo regular, los abortos ocurren independientemente de

las otras manifestaciones, o si las hay son tan leves que son difíciles de apreciar (Ruiz, 1977).

Cuando se presenta la forma respiratoria en un hato puede haber abortos en las 3 a 6 semanas posteriores; aunque estos pueden presentarse en cualquier momento de la gestación, el aborto ocurre generalmente en el último trimestre, llegando a provocar falla gestacional hasta en el 21% de la población (Arboleda et al., 1996; Blood y Radostits, 1992; Miller, 1991).

El virus es transportado hasta la placenta en los leucocitos, infectando entonces al feto y matándolo en 24 horas. El aborto puede ocurrir en cualquier momento, pero, por lo general, se produce al cuarto mes o al final de la gestación. Las lesiones resultantes comprenden placentitis difusa con cotiledones necróticos y blanquecinos y zonas intercotiledonareas amarillentas y edematosas (Prieto y Roy, 2006).

El aborto puede aparecer en un hato en forma explosiva, es decir en muchos animales casi simultáneamente, los terneros pueden nacer vivos, débiles, pero casi siempre mueren a los pocos días (Bosh et al., 1997).

- **Forma Genital:** La forma genital de IBR cursa con vulvovaginitis en las hembras o balanopostitis en los machos; esta forma se puede presentar, aunque es raro, junto con la forma respiratoria; lo que se evidencio en un caso reportado fue la confluencia de las dos formas se reportó en Inglaterra en 1997 (Pritchard et al., 1997).

La enfermedad con VHB-1 se caracteriza por asociarse con la infección del tracto respiratorio alto en vacas jóvenes, y vulvo vaginitis postular y aborto en animales con poca inmunidad, aunque es poco común encontrar éstas dos formas en un mismo hato (Murray, 1990).

Esta forma de la enfermedad es más conocida como vulvo vaginitis pustular infecciosa (VPI) o exantema coital, se caracteriza por necrosis focal y respuesta inflamatoria linfoproliferativa; en la mucosa genital se producen lesiones de tipo vesicular o nodular, las cuales se pueden volver ulcerativas, llegando en algunos casos a producir descarga vaginal muco purulenta en la VPI (Blood y Radostits, 1992; Miller et al., 1991). La VPI cuyo curso dura aproximadamente 10 días, es de carácter benigno y no induce abortos; su secuela más grave es el prolapso uterino, el cual es causado por el esfuerzo asociado al dolor que producen las lesiones (Arboleda et al., 1996; Miller et al., 1991).

En el macho, el cuadro clínico es la balanopostitis pustular infecciosa (BPI), la cual se caracteriza por lesiones similares a las descritas para la VPI. Si las lesiones son muy severas las cicatrices pueden producir adherencias o desviaciones del pene (Gibbs y Rweyemamu, 1977; Blood y Radostits, 1992).

Es importante mencionar que se ha descrito la transmisión del virus a través del semen y de implementos usados en la recolección de semen para inseminación artificial, observándose la eliminación de virus en toros infectados subclínicamente durante períodos de tiempo variable, sin llegar a presentar signos de enfermedad. De ahí la importancia de la evaluación de los machos para determinar la presencia o ausencia del virus, lo cual determinará su estado de portadores con infección latente y posible reactivación en especial de machos dedicados a la recolección de semen (Van Oirschot et al., 1993).

- **Forma ocular:** Esta forma de enfermedad puede ocurrir sin reacción sistémica detectable, o puede aparecer acompañada de la forma respiratoria. Se observa inflamación y enrojecimiento de la conjuntiva, así como secreción ocular abundante,

al principio clara y después muco purulenta; puede afectar uno o ambos ojos y puede confundirse fácilmente con queratoconjuntivitis infecciosa causada por *Moraxella bovis* (Blood y Radostist, 1992).

- **Forma nerviosa:** El VHB-1.3, agente etiológico de la forma encefálica, se replica en la mucosa ocular o respiratoria a los 3 días post infección, tiempo después del cual desaparecen las lesiones.; la replicación a nivel de tejido nervioso comienza a los 9 a 11 días post infección. Los animales más susceptibles a esta forma de presentación son los menores de 6 semanas de edad que no tiene adecuados niveles de anticuerpos adquiridos por inmunidad pasiva; aunque se ha reportado la enfermedad en animales de 6 meses (George, 1991).

Los signos que presentan los animales afectados por la forma encefálica incluyen depresión, descarga oculo nasal, movimiento en círculos, sialorrea, odontoprixis, parálisis de la lengua, “head tilt” (inclinación de la cabeza), nistagmo, déficit propioceptivo, ceguera aparente, convulsiones, coma y muerte. La evolución del cuadro clínico se da en uno a dos días y la muerte sobreviene en cinco días; llegándose a presentar mortalidad en cerca del 100% de los afectados (Arboleda et al, 1996; George, 1991; Smith et al., 1990).

- **Forma Digestiva:** La forma digestiva está asociada a meningoencefalitis, mayormente en terneros menores de 6 meses, ocasionando ataxia, movimientos frenéticos, salivación profusa, rechinar de dientes, postración y muerte. Afectan terneros de 1 a 3 semanas, causando fiebre, dificultad respiratoria y diarrea, se observan lesiones necróticas de color blanco en el tracto digestivo. La enfermedad evoluciona en forma aguda con alta mortalidad (Martin et al., 1997).

h) Población hospedadora

Además de la existencia de reservorios del virus, de las circunstancias que

originan la activación de infecciones latentes y la disposición de mecanismos de transmisión intactos, otra premisa para la génesis y curso de una epizootia es la sensibilidad de la población para el VHB-1. El grado de sensibilidad de un individuo o una población viene determinado decisivamente por el estatus inmunológico existente en el momento del contagio (Dennis et al., 1994).

i) Diagnóstico

El diagnóstico clínico de IBR no es sencillo debido a la existencia de otras enfermedades que presentan signos clínicos semejantes. Sin embargo la enfermedad puede ser diagnosticada cuando se presentan afecciones del tracto respiratorio superior, con mediana o alta morbilidad y baja mortalidad, además, de problemas de fertilidad, reabsorción embrionaria y abortos. Para el diagnóstico de IBR se deben tener en cuenta los signos clínicos, los hallazgos a la necropsia pero se requiere de pruebas especiales para el diagnóstico definitivo. Pero para realizar un diagnóstico definitivo se requiere de las siguientes pruebas de laboratorio (Rock et al., 1992):

- **Pruebas directas:** Se basa en el aislamiento del virus (cultivo celular), detección de antígenos virales (ELISA, Inmunofluorescencia o Inmunohistoquímica) o de material genético del mismo (PCR). Para estas pruebas se recolecta muestras de secreciones nasales y oculares de animales que presentan enfermedad respiratoria y secreciones vaginales. Las muestras tomadas deben permanecer estériles para luego ser remitidas al laboratorio.
- **Pruebas indirectas:** Tienen como fundamento la identificación de anticuerpos específicos contra el VHB-1, mediante la seroneutralización, 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.

La serología mediante ELISA permite la detección de anticuerpos séricos contra

VHB-1 tanto en suero sanguíneo como en leche. Tiene una buena sensibilidad y especificidad. La mayor casuística se trata de problemas reproductivos, los cuales son más difíciles de diagnosticar, debido a que la viremia ocurre tiempo antes de la evidencia de los signos clínicos (aborto, infertilidad, etc.), y por lo tanto el pico de anticuerpos ocurre igualmente antes, y no es posible detectar seroconversión en muestras pareadas que por lo general se toman en el momento del aborto y 15 a 30 días después (Palomino, 2004).

El diagnóstico de laboratorio de una enfermedad viral como producida por el HVB-1, en el cual el agente tiene la capacidad de permanecer en estado latente, y los títulos de anticuerpos se mantienen de por vida, implica no sólo contar con pruebas eficientes sino también con una correcta interpretación de los resultados. Un diagnóstico fehaciente y oportuno juega un rol preponderante en la toma de decisiones, principalmente en la ejecución de las medidas de prevenciones adecuadas y eficaces (West G., 1991).

j) Control

Una de las particularidades más importantes de los Herpesvirus es su capacidad de mantenerse en el organismo en estado latente. Por lo tanto, todo animal que estuvo en contacto con el virus, desarrolle o no la enfermedad, se convierte en portador y posible diseminador de la infección si el virus es reactivado y reexcretado. Factores inmunodepresores, como el estrés (transporte, manejo, parto), al igual que el tratamiento con glucocorticoides, como la dexametasona, pueden llegar a reactivar el virus de su sitio latente y producir la reexcreción del mismo (West Geoffrey, 1991; Merck, 2007).

El empleo de la vacunación como método de control dependerá de la prevalencia de la enfermedad en el establecimiento, las características del manejo y de un adecuado

análisis costo-beneficio, pero antes que nada, y aunque parezca obvio, se deberá tener certeza que el problema existente es debido a la acción de HVB-1. Se deberá tener en cuenta que muchas veces el empleo de vacunas, en especial aquellas polivalentes enfocadas a la solución de un síndrome, sin llegar a conocer la causa del problema, pueden distorsionar el diagnóstico dificultando aún más su solución (Hunter, 1987).

2.2. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

La técnica Ensayo por Inmuno absorción Ligada a las Enzimas forma parte de aquellas reacciones serológicas que utilizan conjugados para poder visualizar la reacción antígeno-anticuerpo. El ELISA se basa en el uso de anticuerpos marcados con una enzima (generalmente la peroxidasa), de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) insolubilizados sobre la placa, la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmobilizada y, por tanto, podrá ser revelada fácilmente mediante la adición del conjugado y del sustrato, generando un color observable a simple vista y cuantificable mediante un colorímetro (Rodas et al., 1996).

El ELISA es uno de los métodos más utilizados para el diagnóstico serológico de distintas enfermedades infecciosas, y es la técnica más recomendada para el estudio de poblaciones. La técnica de ELISA, utiliza antígeno viral pegado en una placa a la que se le incorpora el suero problema y una enzima, para luego ser revelado mediante la incorporación de un sustrato específico. Esta admite la utilización de todos los sueros. Los resultados de ELISA nos permiten determinar animales positivos o negativos. La correcta interpretación de los resultados de los estudio serológicos permiten la aproximación a un diagnostico en casos particulares y el conocimiento del estado inmune de una población bovina en un momento dado, establecer y evaluar programas de control

y manejo (Rock et al., 1992).

No se ha establecido un procedimiento ELISA estándar. Hay disponibles en el mercado varios tipos de ELISA, incluidos ELISA indirectos y de bloqueo, algunos de los cuales también son adecuados para detectar anticuerpos en leche (Kramps et al., 2004):

- **Enzimoimmunoanálisis indirecto.**- El principio de un ELISA indirecto se basa en la unión de anticuerpos específicos anti-HVBo-1 presentes en la muestra problema a antígeno HVBo-1 inmovilizado. Los anticuerpos unidos se detectan utilizando antisuero anti-inmunoglobulina bovina marcado con enzima. La presencia de anticuerpos en la muestra problema dará lugar a color tras añadir la solución de sustrato/cromógeno.
- **Enzimoimmunoanálisis de bloqueo.**- El principio del ELISA de bloqueo o competitivo se basa en bloquear la unión de un antisuero anti HVBo-1 o de un MAb anti-HVBo-1 marcados con enzima al antígeno, mediante anticuerpos de la muestra problema. La presencia de anticuerpos en la muestra problema da lugar a una escasa aparición de color tras añadir la solución de sustrato/cromógeno.

2.3. Antecedentes

Se determinó la seroprevalencia de IBR en la microcuenca de Llallimayo, Melgar, Puno, utilizando 160 vacunos Brown Swiss menores de 2 años y mayores de 2 años, procedentes de zonas altas y bajas, encontrándose una prevalencia general de 11.88%, no encontrándose diferencias entre las zonas altas y bajas ni entre menores y mayores de 2 años ($P>0,05$) (Condori, 2014).

En el Distrito de Azángaro se estudió la seroprevalencia de IBR en 160 vacunos Brown Swiss y Criollos, machos y hembras y mayores y menores de 2 años. La prevalencia general en Criollos fue de 11.25% y en Brown Swiss de 8.75% ($P>0.05$). La

prevalencia fue mayor en vacas (14.38%) que en machos (5.62%) ($P \leq 0.05$). También se determinó que es mayor en mayores de 2 años (16.88%) que en menores de 2 años (3.12%) ($P \leq 0.01$) (Vilca, 2014).

Se determinó la prevalencia del virus herpes bovino tipo 1 (VHB-1), agente causal del IBR, en animales de la Provincia de Melgar, Puno. Se recolectaron muestras de sangre de bovinos mayores 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). Los títulos de anticuerpos variaron entre 2 a 128 U/mL. Los resultados indican que el VHB-1 está difundido en la provincia de Melgar y, posiblemente, esté contribuyendo en la presentación de problemas respiratorios en animales jóvenes (Pariente et al., 2006).

El 67.6% de las muestras de suero de bovinos criollos de crianza extensiva de la Provincia de Parinacochas tuvieron anticuerpos contra el VHB-1, sin que encuentre diferencias entre distritos ($P > 0,05$). Todos los hatos evaluados tuvieron animales seroreactores al virus, con niveles de seroreactividad entre el 25% y 90.9% (Zacarías, 2002).

Se estudió la seroprevalencia del virus herpes bovino tipo 1 (VHB-1), agente causal de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en bovinos mayores de 6 meses de edad, procedentes de 12 hatos lecheros del valle de Lima y sin historia de vacunación. Se tomó muestras de sangre en 395 hembras para la detección de anticuerpos neutralizantes en suero mediante la prueba de neutralización viral. El $36 \pm 0.47\%$ (143/395) de los animales presentaron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1 con títulos entre 2 a > 256 . El 67% (8/12) de los hatos muestreados tuvieron animales seroreactores. Las

mayores prevalencias se presentaron en hatos con >300 animales, en hatos ubicados en el norte y sur del valle de Lima y en animales mayores de 2 años de edad. Estos resultados confirman que el VHB-1 está difundido en el valle de Lima a pesar que no se obtuvo evidencias clínicas de la IBR. Sin embargo, considerando que los ganaderos manifestaron observar problemas respiratorios en animales jóvenes, esto podría ser indicativo que el virus estaría asociado al complejo respiratorio bovino (Sánchez et al., 2003).

El virus de la IBR se encuentra ampliamente difundido en las explotaciones lecheras y de doble propósito extensivas del Perú, donde todos los departamentos, excepto Moquegua, presentaron animales positivos mediante la prueba de ELISA. La prevalencia animal obtenida por departamento fueron desde $3.92\% \pm 5.33$ hasta $87.65\% \pm 7.16$. La prevalencia predial hallada en este estudio para los departamentos fluctuó entre el $36.73\% \pm 13.50$ y el 100%. Las prevalencias animal y predial a nivel nacional encontradas en este estudio fueron de $27.40\% \pm 1.29$ (1255/4580) y $61.86\% \pm 4.71$ (253/409) (SENASA, 2013).

Los resultados de un estudio realizado en 12 establos de la ciudad de Lima, indican que el $36 \pm 0.047\%$ (143/395) de las muestras tuvieron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1. La prevalencia viral dentro del hato estuvo entre 2 a 90%. Se detectaron anticuerpos contra el VHB-1 en las tres zonas de muestreo, con una prevalencia que varió entre 13 a 50%. La prevalencia viral fue mayor en los establos con mayor tamaño poblacional, así como en animales de más de dos años. El análisis de regresión logística muestra que las variables zona de muestreo norte y sur, así como edad >2 años representan factores de riesgo asociados a la infección. En esta evaluación se considera a la zona centro y a la edad < 2 años como estratos de referencia debido a que ellos presentan el menor porcentaje de animales infectados. No hubo asociación de riesgo por tamaño poblacional (Rivera et al., 1993).

Se determinó la seroprevalencia de IBR en hatos lecheros del municipio de Toca-Boyacá (Córdoba, Argentina) utilizando 80 muestras de sangre de hembras bovinas en producción. Las muestras de suero se procesaron para determinar la presencia de anticuerpos de la enfermedad. Encontrándose una seroprevalencia de 35.65%, distribuida de la siguiente manera: 17.9% en ejemplares entre 24-60 meses, 60.7% en animales de entre 72-108 meses y 21.4% en animales mayores de 109 meses; la prueba fue positiva en 32% de las vacas con problemas reproductivos (n=8), en 1.25% (n=1) de la muestra se registró antecedente de aborto y prueba positiva. El presente trabajo constituye el primer reporte de análisis de esta enfermedad en el municipio de Toca-Boyacá, que demuestra la presencia de la enfermedad en la zona. Simultáneamente, se plantea que esta afección pueda ser uno de los posibles factores de riesgo que afecta la rentabilidad económica de las producciones lecheras (Ochoa et al, 2012).

Se realizó un estudio descriptivo y epidemiológico de la Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Bovina Infecciosa (IBR) así como su influencia en la economía y la calidad de vida de los pequeños y medianos productores de la provincia de Loja, Ecuador. Utilizando técnica de ELISA con el kit comercial CIVTEST Bovis IBR para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente al virus de la IBR se determinó una prevalencia para DVB del 16,07 % y para IBR 14,17 %, demostrando la presencia de estas enfermedades así como la presencia de focos infecciosos o animales persistentemente infectados (Jara, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ámbito de estudio

El estudio se realizó en el Distrito de Lampa, Provincia de Lampa, Departamento de Puno, situada a una altitud de 3877 m, y a una distancia de 82 km de la ciudad de Puno.

En la Fig. 2 se muestra el ámbito de acción del proyecto.



Fig. 2. Mapa y vista satelital del Distrito de Lampa.

Lampa se encuentra ubicado en la parte central y occidental del Departamento de Puno, en las coordenadas $15^{\circ}21'48''S$ y $70^{\circ}21'58''O$. Tiene una superficie total de 675,82 km². Su capital Lampa halla a una altura de 3.873 m y por su ubicación geográfica pertenece a la región Suni. El clima en invierno, es frígido con heladas intensas, entre los meses de Mayo a Agosto; en primavera, es suave y templado (de setiembre a noviembre), en el resto del año, de Diciembre a Abril, es lluvioso, con granizadas y nevadas. Caracterizada por una unidad geomorfológica homogénea semiplana con existencia de terrazas fluvioaluviales. Estas tierras se hallan cubiertas por un tapiz herbáceo nativo, predominando las gramíneas como la *Festuca dolichophylla* (chilligua), *Mulenhbergia* sp. (grama dulce), *Bromus umoloides*, etc. pastos apropiados para la crianza de vacunos

y ovinos. Por esta razón, las principales actividades económicas del distrito son la ganadería, la agricultura y la artesanía nevadas (Municipalidad Provincial de Lampa, 2011).

La fase experimental de la presente investigación tuvo una duración de tres meses, dando inicio a principios en octubre del 2014 y culminando en los últimos días del mes de diciembre de 2014.

El análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA-Puno.

3.2. Animales y hatos

Se utilizaron 72 vacas en producción de las razas Brown Swiss (PPC) y de cruces de estos con criollos, todos en aparente buen estado sanitario. Para calcular el tamaño de la muestra se tomó como población total las vacas del Distrito de Lampa (6973 vacas) según el IV Censo Nacional Agropecuario 2012 disponible en <http://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/>.

El tamaño muestral se determinó utilizando la fórmula siguiente:

$$n = \frac{Z^2 N p q}{d^2 (N - 1) + Z^2 p q}$$

Donde:

- N = Total de la población
- $Z^2 = 1.962$ (nivel de confianza o seguridad = 95%)
- p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)
- q = 1 – p (en este caso 1 - 0.05 = 0.95)
- d = precisión (5%).

Para este estudio se asumió que del número total de vacas del Distrito de Lampa, sólo el 50% se encuentran en lactación, con manejo semi extensivo, alimentación con pastos naturales y forraje y aparentemente sanos. Por lo tanto, el valor de N sería 3487 vacas.

$$n = \frac{1,96^2 \times 3487 \times 0,05 \times 0,95}{0,05^2 \times (3487 - 1) + 1,96^2 \times 0,05 \times 0,95} = 72 \text{ vacas en producción}$$

El número de hatos (productores) que se estudiaron fueron 14, de los cuales, 3 hatos corresponden a ganado comunal del Distrito de Lampa, el resto son propietarios particulares (11). En el anexo 1, se encuentran descritos los propietarios y el número de vacas muestreadas de cada uno.

3.3. Metodología

a) *Toma de muestras sanguíneas y conservación*

De los animales elegidos por muestreo no probabilístico (por conveniencia del productor) de cada hato, se colectaron muestras sanguíneas por punción de la vena yugular previa antisepsia en tempranas horas de la mañana y estando el animal en ayunas. Se registró el nombre del propietario (hato) y la identificación de la vaca. Las muestras fueron transportadas en caja con geles refrigerante a la ciudad de Puno el mismo día de colección.

b) *Obtención del suero sanguíneo*

El suero sanguíneo se obtuvo por centrifugación en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA-Puno, a 3000 rpm durante 15 minutos. El suero obtenido se decantó en viales criogénicos de 2 mL y luego sometidos a congelación a -20°C hasta su procesamiento.

c) ***Detección de anticuerpos contra VHB-1***

La detección de los anticuerpos contra el virus del IBR se realizó mediante la técnica de ELISA indirecta (Ensayo por Inmunoabsorción Ligada a las Enzimas) utilizando kit comercial, HerdChek® IBR-gB, el cual es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX® diseñado para detectar anticuerpos específicos frente al VHB-1 en suero de ganado bovino usando anticuerpos monoclonales específicos IBR-gB. El kit es capaz de detectar niveles muy bajos de anticuerpos en suero (Sensibilidad 97.4% y Especificidad 92.4%).

Principio del test

La prueba es un ELISA de bloqueo con placas de microtitulación tapizadas con antígenos virales de IBR, tras incubación de la muestra a analizar en el pocillo tapizado con antígenos el anticuerpo específico de IBR forma un complejo con los antígenos virales inmovilizados. Después de eliminar mediante lavado los materiales no unidos, se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales específico gB, que no se unirá al antígeno VHB-1 cuando el determinante antigénico haya sido bloqueado anteriormente por anticuerpos de la muestra a analizar. Después se lava la placa para eliminar el conjugado no unido, y se añade una solución de substrato/cromógeno. En presencia de la enzima, el substrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno, generando una coloración azul (reacción negativa). Con la adición de la solución de frenado se genera un color amarillo. La absorbancia se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda única de 450 nm. El porcentaje de bloqueo de las muestras se calcula usando la absorbancia obtenida con la muestra analizada y un suero negativo que contiene anticuerpos no específicos (suero de control negativo).

Procedimiento

1. Preparación de la solución de lavado

- ✓ La solución de lavado concentrado se coloca a temperatura ambiente, mezclando las sales posiblemente cristalizadas.
- ✓ Luego se diluye con agua destilada desionizada en una proporción de 1:10.

2. Preparación de las muestras

- ✓ Las muestras de suero sanguíneo fueron colocados a temperatura ambiente para su descongelación.

3. Procesamiento ELISA

- ✓ Todos los reactivos fueron mezclados suavemente,
- ✓ Se dispensó 50 μ L de la solución de lavado a cada pocillo.
- ✓ Se dispensó 50 μ L del control negativo en los pocillos A1 y A2.
- ✓ Se dispensó 50 μ L del control positivo en los pocillos B1 y B2
- ✓ Se dispensó 50 μ L de suero problema en cada pocillo, según diseño elaborado previamente.
- ✓ Se homogenizó el contenido de los pocillos mediante una breve y suave agitación de la placa para luego incubar a 37°C por 2 h cubriendo la placa con papel parafilm.
- ✓ Se elimina el contenido de los pocillos en un reservorio
- ✓ Los pocillos se lavan por 5 veces con 300 μ L la solución de lavado cada vez, eliminando la solución restante golpeando la placa sobre papel toalla.
- ✓ Se dispensó 100 μ L de conjugado en cada pocillo para luego incubar la placa a 20°C por 1 h cubriendo la placa con papel parafilm.
- ✓ Luego, el contenido de los pocillos son removidos para luego lavarlos nuevamente

con 300 μL de la solución de lavado por 5 veces.

- ✓ Se dispensó 100 μL de sustrato TMB (tetrametil bencidina) en cada pocillo y luego se incubó a 20°C por 10 min.
- ✓ La reacción química en los pocillos fue detenida dispersando 100 μL de solución stop a cada pocillo.
- ✓ Finalmente, se efectuó la lectura de absorbancias de los pocillos utilizando el lector de ELISA, utilizando un filtro de 450 nm.

4. Cálculo del porcentaje de bloqueo

El porcentaje de bloqueo de cada una de las muestras analizadas fue determinado por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de bloqueo} = \frac{A_{cn} - A_m}{A_{cn}} \times 100$$

Donde:

A_{cn} : Absorbancia del control negativo.

A_m : Absorbancia de la muestra.

Si el porcentaje de bloqueo es:

- ✓ Inferior al 45% = negativo
- ✓ Entre 45 y 55% = sospechoso o dudoso
- ✓ Superior a 55% = positivo.

En el presente estudio, la media de absorbancia del control negativo fue de 0.355 y del control positivo 0.008. Por lo tanto, el porcentaje de bloqueo del control positivo

fue de 97.7%, lo que demuestra que los reactivos utilizados se encontraban en perfectas condiciones.

d) *Estimación de la prevalencia*

La seroprevalencia de IBR en vacas fue estimado mediante la siguiente formula:

$$\%P = \frac{N^{\circ} \text{ de vacas seropositivas}}{\text{Total de vacas muestreadas}} \times 100$$

La seroprevalencia por hato se determinó al considerar un hato positivo cuando se encuentre al menos un animal seropositivo, y se empleó la siguiente fórmula:

$$\%P = \frac{N^{\circ} \text{ de hatos seropositivos}}{\text{Total de hatos muestreados}} \times 100$$



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PREVALENCIA DE IBR EN VACAS

Los resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA (lecturas individuales de absorbancia y sus respectivos porcentajes de bloqueo) se encuentran en el Anexo 1. En la Tabla 1, se muestran las frecuencias y el porcentaje de anticuerpos positivos y negativos contra VHB-1 en vacas en producción del Distrito de Lampa.

Tabla 1: Seroprevalencia de IBR en vacas en producción del Distrito de Lampa (2014).

IBR	Nº de vacas	Porcentaje
Positivos	20	27.8
Negativos	52	72.2
TOTAL	72	100.0

La seroprevalencia general de IBR en vacas en producción del distrito de Lampa es de 27.8% (20/72). Esto significa que de los 72 bovinos muestreados 20 vacas registraron títulos que sugieren evidencia de la enfermedad, dato que demuestra que estos animales han sido expuestos, por lo menos una vez al contacto infeccioso con el agente causal de la enfermedad. Debido a que los hatos muestreados no tienen historia de vacunación contra IBR, se asume que existen factores que favorecieron la entrada y están ayudando a distribuir el virus dentro de la población.

Esta relativa alta seropositividad encontrada en el presente estudio podría ser explicada por el hecho de que la IBR es una enfermedad primaria de fácil contagio y

manifestaciones variadas, tal como lo señala Straub (2001) “el virus tiene la facultad de establecer un estado de latencia o incubación, lo que permite al virus eludir el sistema inmunológico del organismo y mantenerse en el tiempo, provocando altas tasas de morbilidad”. Por otro lado Muylkens et al. (2007) indican que las diferentes formas de la enfermedad podrían expresarse en la circunstancia de que haya reactivación viral, favorecida por factores estresantes que determinan un grado de inmunosupresión o inmuno-inhibición en los animales, con lo cual se interrumpiría el estado de latencia, dando lugar a la propagación del virus infeccioso y transmisión a los animales susceptibles.

Por estas razones, se podría asegurar que aunque no se aprecie una manifestación clara de enfermedad al interior de los hatos lecheros del Distrito de Lampa, la evidencia serológica demuestra actividad antigénica, lo que significa que en algún momento de su vida los animales han tenido contacto con el agente causal de la IBR, y por lo tanto se ha promovido la formación de anticuerpos contra el virus causante de esta entidad patológica.

Blood y Radostitis (1992) y otros autores, indican que las fuentes principales de infección con VHB-1 son el exudado nasal (contacto directo) 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. Nosotros consideramos que las dos razones principales para la transmisión del virus en bovinos del Distrito de Lampa, podrían ser atribuidos a: a) la inseminación artificial, y b) el ingreso de vacas infectadas.

El 100% de productores utilizados en el presente estudio emplean la inseminación artificial como técnica reproductiva, el uso de toros casi ha sido desterrado de la zona.

Entonces, se presume que se vendrían utilizando pajillas de semen de toros infectados con el VHB-1, puesto que no hay ningún registro de calidad de semen que ofrecen los expendedores. Houe (1999) indica que el semen fresco o criopreservado de toros es una importante vía de transmisión horizontal. Esta hipótesis es reforzada por Gard y col. (2007) al señalar que el IBR representa un problema potencial en la inseminación artificial debido a la alta asociación que existe entre el virus y los fluidos mucales del animal; el semen contaminado de toros infectados pueden transmitir esta enfermedad a vacas inseminadas artificialmente, también es posible que el semen de toros que presenten infecciones testiculares persistentes pueda infectar a la vaca. Golan et al. (1990) indica que el semen contaminado por VHB-1 también puede provenir de individuos clínicamente sanos.

Un aspecto importante a considerar tiene que ver con el hecho de que, para el estudio en cuestión, las hembras se encuentran en una fase productiva exigente, lo cual significa para el estado general de las vacas, la exposición a variados factores capaces de desencadenar cierto grado de estrés y, por lo tanto, podrían ser determinantes en un estímulo a la inmunosupresión, evento que sería favorecedor de la entrada de agentes infecciosos causantes de enfermedad, constituyéndose este factor en una posible causa de la seropositividad encontrada en el análisis de laboratorio. Esta hipótesis es respaldada por Hotman (1983) y Góngora et al. (1991) quienes indican que aunque se desconoce el mecanismo de reactivación viral, al parecer está relacionado con eventos estresantes como transporte, hacinamiento, cambios climáticos, cambios de hormonas durante la gestación, superinfección con otros virus. Además, se ha demostrado que animales tratados con corticosteroides, pueden demostrar reactivación viral, quizás asociada a un fenómeno de inmunosupresión causada por ese tipo de medicamentos, y hasta donde conocemos, el uso de antiinflamatorios corticosteroideos es práctica rutinaria en todo el

Departamento de Puno.

El SENASA (2013) haciendo una caracterización del IBR en el Departamento de Puno obtuvo una prevalencia general de 11.6% (54/464), prevalencia que es menor a la del Distrito de Lampa (27.8%), esto demostraría que el IBR se estaría incrementando en el Departamento de Puno debido a múltiples factores que favorecen la distribución del virus.

Es probable que esta alta seroprevalencia encontrada también se deba a que los animales estudiados fueron vacas en producción, es decir, animales mayores a 2 años de edad; y, hasta donde se sabe, el factor edad es un factor predisponente de la enfermedad por el mayor tiempo de exposición. Así lo señala Kahrs (1977) “a medida que aumenta la edad aumenta la probabilidad de presentar IBR, lo cual tiene relación con el hecho de que estos animales han tenido mayor posibilidad de estar en contacto con el virus”.

Pariente et al (2006), determinó la prevalencia del VHB-1 en 9 distritos de la Provincia de Melgar, hallando una prevalencia general de 29.0% (110/382), sin que hubiese diferencias entre animales jóvenes (<2 años) y adultos (≥ 2 años). Este resultado es similar al encontrado en el presente estudio (27.8%) atribuible a las mismas condiciones climáticas, de manejo y de técnica reproductiva empleada (inseminación artificial).

Condori (2014), determinó la seroprevalencia de IBR en la microcuenca de Llallimayo, Melgar, Puno, utilizando 160 vacunos Brown Swiss menores de 2 años y mayores de 2 años, procedentes de zonas altas y bajas, encontrando una prevalencia general de 11.88%, no encontrando diferencias entre las zonas altas y bajas ni entre menores y mayores de 2 años ($P > 0,05$), resultado que es relativamente inferior al hallado que es de (27.8%), atribuible al manejo sanitario que imponen los productores, pues se

sabe que los productores de la zona son más capacitados que los del Distrito de Lampa, en donde recién se viene dando impulso a la producción láctea.

Asimismo, Vilca (2014) en el Distrito de Azángaro determinó una seroprevalencia general de 11.25% para bovinos Criollos y de 8.75% para Brown Swiss ($P>0,05$), también determinó que la prevalencia fue mayor en vacas (14.38%) que en machos (5.62%) ($P\leq 0,05$) y que es mayor en mayores de 2 años (16.88%) que en menores de 2 años (3.12%) ($P\leq 0,01$). Haciendo la comparación con la prevalencia en vacas del Distrito de Azángaro (14.38%), la prevalencia que determinamos es de (27,8%).

Comparando con estudios de otros Departamentos del Perú, el IBR en el Distrito de Lampa es menor a la de Parinacochas (67.6%) (Zacarías, 2002). Inferior a los del norte y sur del Valle de Lima, en donde Sánchez et al (2003), encontraron el 67%. Rivera et al. (1993), también encontró el 36% en 12 establos de la ciudad de Lima. Indudablemente, estas diferencias son atribuibles al clima, sistema de crianza, método reproductivo, entre otros.

4.2. DETERMINACION DE PREVALENCIA DE IBR EN LOS HATOS (PEQUEÑOS PRODUCTORES)

En la Tabla 2 se muestran las frecuencias y el porcentaje de prevalencia de IBR presentes en los hatos de los pequeños productores del Distrito de Lampa.

Tabla 2: Seroprevalencia de IBR en hatos de pequeños productores del Distrito de Lampa (2014).

IBR	N° de hatos	Porcentaje
Positivos	3	21.4
Negativos	11	78.6
TOTAL	14	100.0

La prevalencia de IBR en los hatos de pequeños productores es de 21.4% (3/21). Este resultado indica que los diferentes hatos del Distrito de Lampa están en contacto con el VHB-1, responsable del IBR.

En el año 2013, el SENASA también hizo una caracterización del IBR en el Departamento de Puno considerando las unidades productivas, en donde determinaron una prevalencia de 46.7% (21/45), resultado que es superior al encontrado en el Distrito de Lampa (21.4%).

Houe (1995 y 1999) indica que la principal forma de transmisión del virus entre hatos es a través de la adquisición de bovinos infectados o de hembras que transportan fetos infectados. Hasta donde se conoce, los pequeños productores del Distrito de Lampa, así como en otras regiones, adquieren vacas vacías o gestantes con el propósito de elevar su producción lechera.

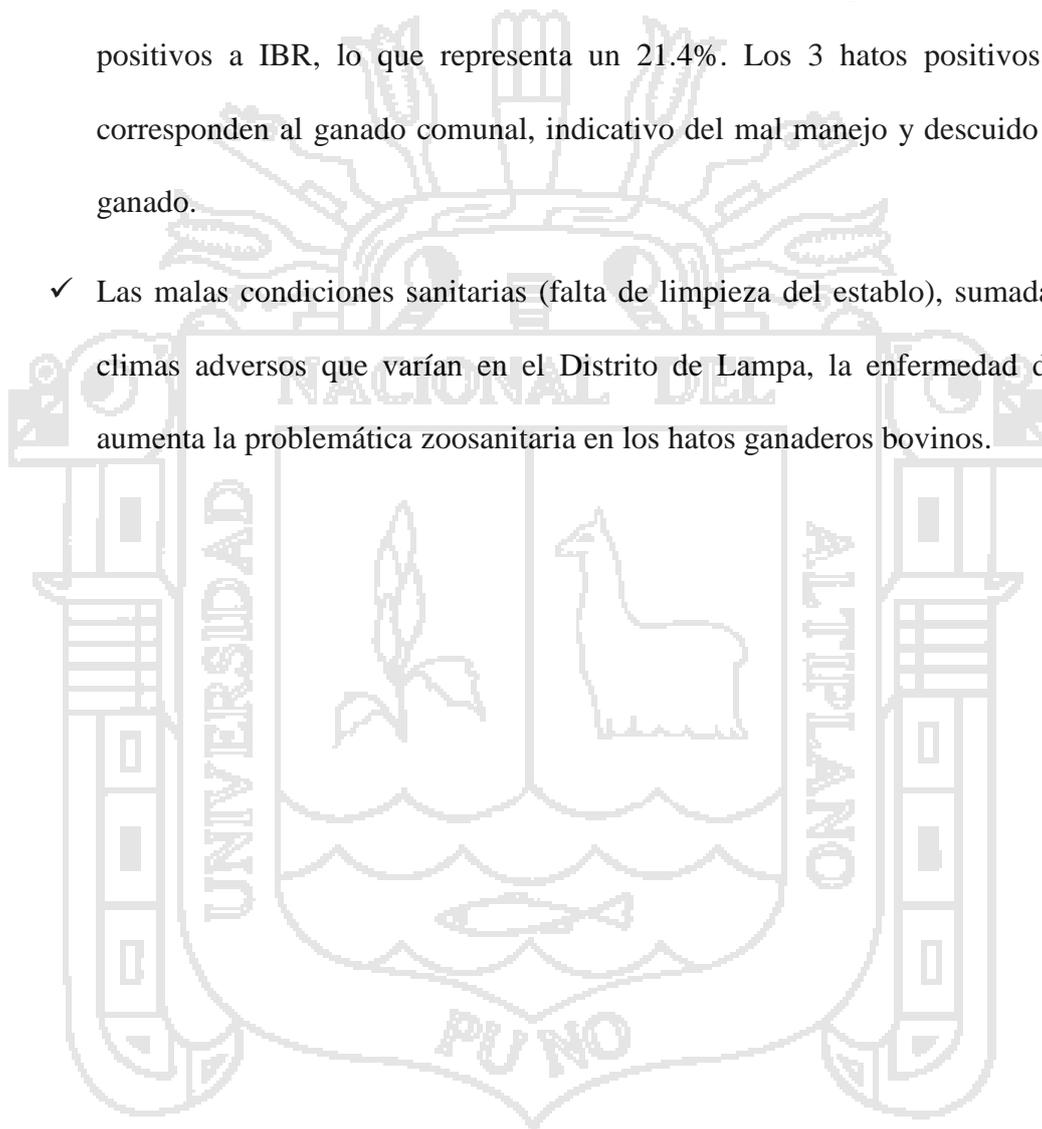
Lértora (2003) señala que el sistema de producción y la virulencia de las cepas también participan en la tasa de transmisión; la diseminación es más eficiente en sistemas de producción que permiten un estrecho contacto entre animales infectados con cepas

virulentas. El sistema de producción en el Distrito de Lampa es de forma extensiva, hecho que no permitiría una diseminación viral eficiente.

Un hecho interesante encontrado en el presente estudio es que de los 14 hatos estudiados, 3 de ellos corresponden a Comunidades Campesinas y el resto a productores particulares (anexo 1), determinándose que los 3 que corresponden al ganado comunal se encuentran infectados con IBR y ninguno de los particulares es positivo al VHB-1. Esto demuestra que los integrantes productores particulares se preocupan por su ganado y las comunidades descuidan el ganado comunal. Considerando que la principal razón de esta infección con VHB-1 es la inseminación artificial de las vacas con semen “barato” y sin ningún plan de seguridad. Además, este ganado (la mayor parte cruces de Criollo con Brown Swiss) se encuentra descuidado en cuanto a controles sanitarios, registros productivos y reproductivos, así como un manejo de la crianza deficiente.

V. CONCLUSIONES

- ✓ De las 72 muestras de suero sanguíneo de vacas en lactación analizadas por el método de ELISA se encontraron 20 muestras positivas que representan el 27.8% de prevalencia de IBR. Lo que demuestra la presencia del virus VHB-1 en la zona.
- ✓ De los 14 hatos lecheros estudiados del distrito de Lampa, 3 de ellos fueron positivos a IBR, lo que representa un 21.4%. Los 3 hatos positivos a IBR corresponden al ganado comunal, indicativo del mal manejo y descuido de este ganado.
- ✓ Las malas condiciones sanitarias (falta de limpieza del establo), sumadas a los climas adversos que varían en el Distrito de Lampa, la enfermedad del IBR aumenta la problemática zoonositaria en los hatos ganaderos bovinos.



VI. RECOMENDACIONES

- ✓ implementar un programa de control y erradicación de esta enfermedad por medio de las autoridades competentes. Además es necesario realizar estudios epidemiológicos para conocer la condición sanitaria de los bovinos y así determinar la incidencia y prevalencia de otras enfermedades en un tiempo determinado.
- ✓ Correcta vigilancia y control del ingreso de semen no garantizado y bovinos provenientes de otros lugares endémicos a IBR por parte de las instituciones gubernamentales y ONGs.
- ✓ Realizar estudios comparativos del manejo y estado sanitario del ganado Comunal con respecto al ganado de los propietarios particulares.
- ✓ Implementar programas de capacitación para sensibilizar a los productores, sobre la peligrosidad de la enfermedad.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman M. 1990. Eradication of Infectious Bovine Rhinotracheitis in Switzerland: Review and Prospects. En: *Veterinary Microbiology* .Vol. 23; 251-256.
- Alvarado A., A. Aguilar, P. Mejía, O. De Paz y C. Vilchis 1993. Aislamiento y tipificación de una cepa de Herpesvirus Bovino 1, del tipo vulvovaginitis pustular infecciosa. *Técnica Pecuaria de Mexico*. 31: 73-83.
- Arboleda J., J. Rodas, J. Ossa y F. Zuluaga 1996. Espectro Clínico y Epidemiológico de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. En: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 9. No1-2. p. 3-13.
- Arthur G.I.L. y Noakes D.E. 2005. *Reproducción e Obstetricia Veterinaria – 6ta. Edición- Londres*.
- Aycardy E., V. Sanclemente, I. Moncada y M. Cortez. 1976. Prevalencia de Anticuerpos para el Virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Ganado de Carne en Colombia y Aislamiento del Virus en Casos Clínicos en: *Memorias décimo Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* . p 81-83.
- Babiuk,L. 1985. Effect of Bovine a Interferon on Bovine Herpesvirus Type-1 Induced Respiratory Disease. En: *Journal of Genetic Virology*. No. 66.
- Blaha T. 1995. *Epidemiología especial veterinaria*. Edit. Acribia. Zaragoza, España.
- Blood, D. y O. Radostits 1992. *Medicina Veterinaria*. Séptima Edición. McGraw Hill.
- Bosch J.C., K. Frankena, J.T. Van Oirsschott 1997. Effect on milk production of vaccination with a bovine Herpesvirus 1 gene-deleted vaccine. *Vet Rec* 140: 196-199.
- Condori D. 2014. Seroprevalencia de IBR en la Microcuenca Llallimayo, Provincia de Melgar. Tesis Fac. Med. Vet. Y Zoot. UNA-Puno.
- Conlon P., P. Ogunbiyi, R. Perron and Eyre P. 1987. Effects of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Infection on Bovine Airway reactivity. En: *Canadian Journal of Veterinary Research*. No 51. p. 345-349.
- Costable Pd, Bl. Hull, Jr. Wicks, W. Myre 1993 Femoral and tibial fractures in a newborn calf after trasplacental infection with bovine viral diahorrea virus. *Vet. Rec*. 132: 383-385.

- Denis M., Splitter G., Thiry E., Pastoret P. and Babiuk A. 1994. Infectious bovine rhinotracheitis (Bovine Herpesvirus) helper T cells, cytotoxic T cells and NK cells. Cap 10. CRC Press.
- Engels M. y Ackermann M. 1996. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet Microbiol.* 53: 3-15.
- Flint S., R. Krug, V. Racaniello, A. Skalka 2000 Principles of virology. Molecular Biology, pathogenesis and control, 1st ed. ASM Press, Washington D. C.
- Gard J.A, MD, Givens, DA. Stringfellow 2007 Bovine viral diarrhea virus (BVDV): epidemiologic concerns relative to semen and embryos. 2007 Aug; 68(3):434-42. Epub Jun 22.
- George L. 1991. Understanding the Encephalitic form of Infectious Bovine Rhinotracheitis. En: *Veterinary Medicine.* MR. p 335-337.
- Gibbs E.P.J. and M.M. Rweyemamu 1977. Bovine Herpesviruses. Part 1. En: *The Veterinary Bulletin.* Vol. 47, No. 5, p. 317-340.
- Golán A., M. Scortti y H. Occhi 1990. Detección de Herpes Virus Bovino Tipo 1 en Semen Congelado y Fetos Abortados en la Provincia de Santa Fe, Argentina. *Avances en Medicina Veterinaria*, Vol. 5(2).
- Gongora A., L. Villamil y V. Vera 1991. Aislamiento de un Herpesvirus Bovino tipo 1 de Secreción Nasal y Esmegma Preputial en un Toro Reproductor. En: *Revista de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*; p 43-46.
- Guarino H.; J. Maisonnave; F. Capano y J. Pereira 2001. Primer aislamiento e identificación del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el Uruguay. *Veterinaria (Montevideo).* 78: 131-134.
- Hafez E. S. E. 2004. Reproducción e Inseminación Artificial. Editora Interamericana – 7ma. Edición México.
- Hotman E. and B. Easterday 1983. Experimental Latent and Recrudescant Bovine Herpesvirus-1 Infection en Calves. En: *American Journal of Veterinary Research.* Vol. 44, No. 2. p 309-313.
- Houe H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhea virus (DVB) infections. *Vet. Microbiology* 64. 89-107.

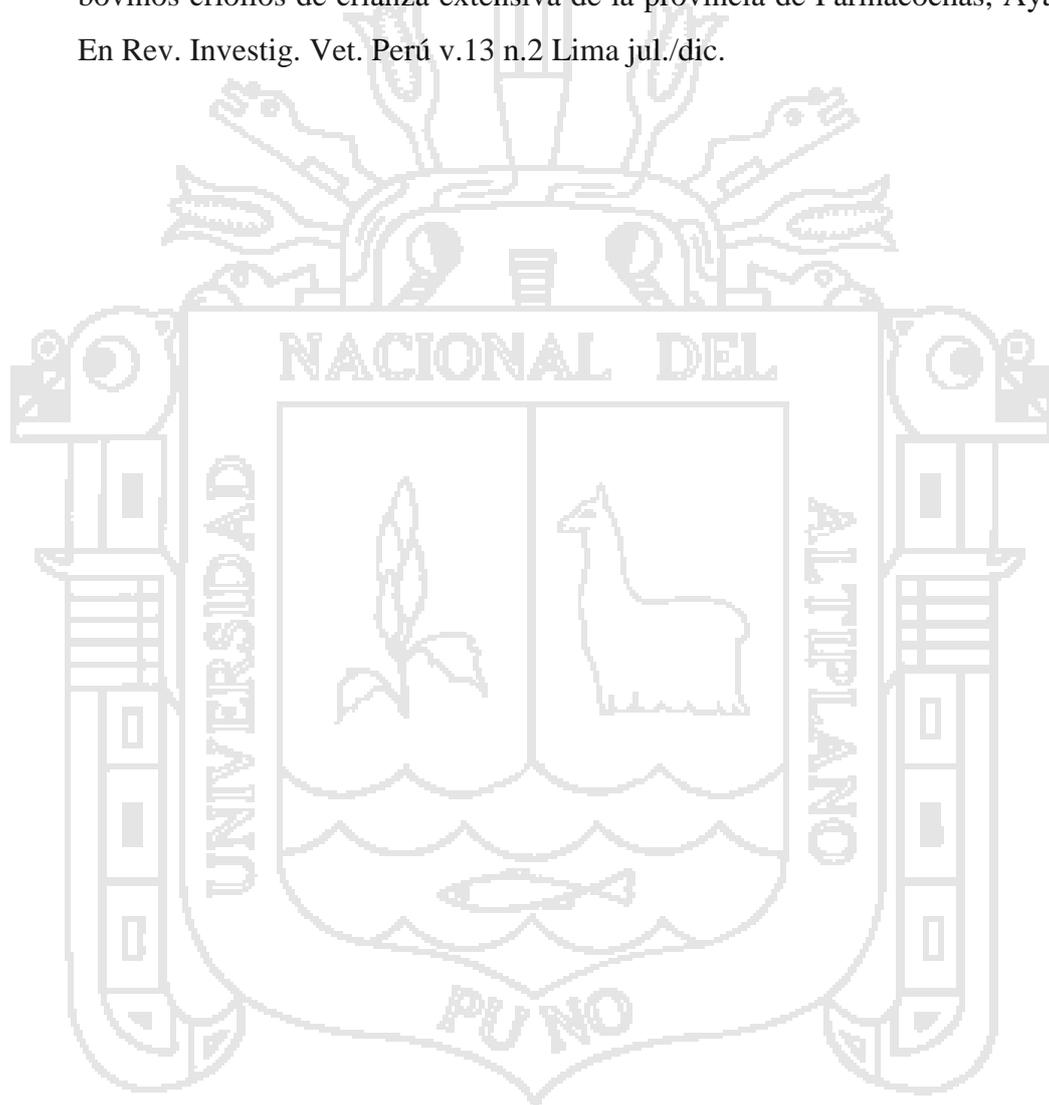
- Houe H., 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Food Animal. Pract* 11. 89-107.
- Hunter R.H.F. 1987, *Fisiología y tecnología de la reproducción de la hembra de los animales domésticos*. Primera Edición. Editorial Acribia. Zaragoza-España.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Datos Agropecuarios.
- Jara D. 2008. Estudio de seroprevalencia de Diarrea Vírica Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en la provincia de Loja (Ecuador) por medio de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y su distribución epidemiológica geoespacial. Tesis de Ing. Agropecuaria-Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.
- Jubb K. 1993. *Pathology of domestic Animals*, 4th edition. Academic Press Inc. San Diego, California.
- Jubb K., Kennedy P. and Palmer N. 1993. *Pathology of domestic animals*. Fourth edition. London. Academic Press Inc.
- Kaashoek M. 1995. Marker vaccines against bovine herpes virus 1 infections. Thesis Universiteit Utrecht. Netherlands.
- Kahrs RF. Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. *J Am Vet Med Assoc* 1977; 171(10):1055.
- Kramps J.A., M. Banks, M. Beer, P. Kerkhofs, M. Perrin, G.J. Wellenberg & J.T. Van Oirschot (2004). Evaluation of tests for antibodies against bovine herpesvirus 1 performed in national reference laboratories in Europe. *Vet Microbiol.*, 102,169–181.
- Lértora W.J. 2003. Diarrea Viral Bovina: Actualización. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE Argentina. 1: 42-51.
- Martin S., A. Mekk, P. Willeberg y J. Tarazona 1997. *Epidemiología Veterinaria: Principios y métodos*. Zaragoza (España). Acribia.
- McKercher D., Straub O., Saito J. and Wada E. 1959. Comparative studies of the etiological agents of Infectious Bovine Rhinotracheitis and Infectious Pustular Vulvovaginitis. *Can. J. Comp. Med.* 23 (10): 320–328.

- McKercher, D. C. 1963. Recent development on upper respiratory disease of cattle. *Proceeds AMU Meet US Animal Health Association*, v. 59, p. 151-172.
- Merck Co. 2007. *El Manual de Merck de Veterinaria*. Editorial Océano – Sexta Edición – Barcelona – España.
- Metzler A.E., Matile H., Gassmann U., Engels M. & Wyler R. (1985). European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.*, 85, 57–69,
- Miller J.M., C.A. Whetstone and M.J. Van Der Maaten 1991. Abortifacient Property of Bovine Herpesvirus Type 1 Isolates that Represent three Subtype Determined by Restriction Endonuclease Analysis of Viral DNA. En: *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 52, No. 3; p. 468-461.
- Municipalidad Provincial de Lampa. 2011. Plan de Desarrollo Concertado Estratégico de la Provincia de Lampa 2012-2021. Documento Plan.
- Murphy F.A., E.P.J. Gibbs, M.C. Horzinek and M.J. Studdert 1999. *Veterinary Virology*, Third Edition. 1999.
- Murray R. A. 1990. A field investigation of causes of abortion in dairy cattle. *Veterinary Record*. 127: 543-547.
- Muylkens B, J. Thiry, P. Kirten, F. Schynts, E. Thiry 2007 Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Res*; 38:181-209.
- Ochoa X., M. Orbegozo, F. Manrique-Abril, M. Pulido y J. Ospina 2012. Seroprevalencia de la rinotraqueitis infecciosa bovina en hatos lecheros de Toca-Bocayá. *Rev. MVZ Córdoba* 17(2):2974-2982, 2012.
- Palomino, M. 2004. Pasantía Centro de Diagnóstico del ICA. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de medicina Veterinaria y de Zootecnia.
- Pariente E., A. Ccama y H. Rivera 2006. Anticuerpos contra el virus causante de la rinotraqueitis infecciosa en vacunos de la Provincia de Melgar, Puno. *Rev Inv Vet Perú* 2006; 17 (2): 137-143.
- Prieto, L., T.J. Roy 2006. IBR asociada a cuadros neumónicos en bovinos durante la fase de cebo. *Albéitar* Vol. 93: 6-8.

- Pritchard G., Cook N. and Banks M. 1997. Infectious Pustular Vulvovaginitis-Infectious Pustular Balanopostitis in Cattle. *Veterinary Record*. May. p 587.
- Renaukaradhaya G. 1996. Prevalence of the Bovine Infectious Rhinotracheite in the CUS of India. *Oficina internacional de Epizootias*.
- Rios Z. y E. Alberto 2000. Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho. 2000.
- Rivera, H., Manchego, A., Sandoval, N., Vargas, A., Araujo, A., Gonzáles, A. y Rosadio, R. 1993. Aborto infeccioso en bovinos de leche del valle de Lima. *Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú)*.
- Rock D., J. Lokensgard, T. Lewis. and G. Kutish 1992. Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent bovine Herpesvirus 1. *J. Virol.* 66 (4): 2484-90.
- Rodas J., F. Zuluaga, G. Henao, M. Restrepo y J. Ossa 1996. Estandarización de una prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra el Herpesvirus Bovino.1 (BHV-1) en suero lácteo. En: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 9. No 1-2 .p 40-43.
- Ruiz, A. 1977. Complejo Rinotraqueitis Bovina Infecciosa Vulvovaginitis Pustular Infecciosa. *Enfermedades de los Bovinos. Enfermedades de los Animales Domésticos en República Dominicana. Dirección General de Ganadería Sub Programa de Sanidad Animal. Santo Domingo. República Dominicana*.
- Sánchez G.; A. Benito y H. Rivera 2003. Seroprevalencia de la rinotraqueitis infecciosa bovina en el Ganado lechero del Valle de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 2003; 14(1): 54-60.
- Schroeder R.J. and Moys M.D. 1954. An acute upper respiratory infection of dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 125, p. 471-472.
- SENASA. 2013. Caracterización de la DVB, neosporosis bovina e IBR en el Perú. Informe Final del Programa de Desarrollo de la Sanidad Agraria e Inocuidad Agroalimentaria (PRODESA).

- Smith P., N. Phillips and C. Kirkland 1990. Necrotic Oophoritis in Heifers Vaccinated Intravenously with Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Vaccine During Estrus. En: American Journal of Veterinary Research. Vol. 51; p. 969- 971.
- Straub OC. Advances in BHV1 (IBR) research. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2001; 108(10):419.
- Thiry J., V. Keuser, B. Muylkens, F. Meurens, S. Gogev , A. Vanderplasschen & E. Thiry (2006). Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Vet. Res.*, 37, 169–190.
- Thrusfield M. 1990. Epidemiología Veterinaria. Zaragoza (España). Acribia.
- Van Oirschot J., F. Rijsewijk, P. Straver, R. Ruuls, A. Quak, A. Davidse, F. Westenbrink, A. Gielkens, J. Van Dijk and A. Moerman 1993. Virulence and Genotype of Bovine Herpesvirus Type 1 Isolate From Semen of a Subclinically Infected Bull. In: Veterinary Record. Vol. 137. p. 235-239.
- Vera V., C. Ramírez, L. Villamil, M. Moreno y J. Jaime 2006. Biología molecular, epidemiología y control de la Rinotraqueitis Bovina Infecciosa y de la Diarrea Viral Bovina. Edición Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Genética. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Vera V., Ramirez G., Barrera J. y Villamil L. 2000. Hablemos de Virología. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Bogotá.
- Vilca J. 2014. Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la IBR en el Distrito de Azángaro, Puno. Tesis Fac. Med. Vet. Y Zoot. UNA-Puno.
- Wellenberg G., Verstraten E., Mars M. and van Oirschot. 1998. ELISA detection of antibodies to glycoprotein E of bovine herpesvirus 1 in bulk milk samples. *Vet Rec.* 142: 219-220.
- West Geoffrey. 1991. Diccionario Enciclopédico de Veterinaria IATROS Edición Ltda. 16ava. Edición revisada.
- Whetstone C., J. Miller, D. Borthor and M. Van Der Maaten 1989. Change in the Bovine Herpesvirus 1 Genome During Acute Infection, After Reactivation From Latency and a After Superinfection in the Host Animal. *Arch Virol*, 106: 262-279.

- Wiedmann M. 1993. Detection of Bovine Herpesvirus-1 in Bovine Semen by a Nested PCR Assay. *Journal Virology Methods*.
- Yates W. D. G. A 1982. Review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory diseases of cattle. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, v.46, p.225-263.
- Zacarias, R. E. 2002. Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho. *En Rev. Investig. Vet. Perú* v.13 n.2 Lima jul./dic.



VIII. ANEXOS

ANEXO 1: ABSORBANCIAS, PORCENTAJES DE BLOQUEO E INTERPRETACION SEGÚN PROPIETARIOS Y ANIMALES

Muestra	Propietario	Nombre	Absorbancia	% de Bloqueo	Interpretación
1	Lucila Ticona Hañari (1)	Claudia	0.239	32.7	Negativo
2		Cachuda	0.232	34.6	Negativo
3		Anali	0.254	28.5	Negativo
4		Blanca	0.277	22.0	Negativo
5		Mayori	0.253	28.7	Negativo
6	Julian Vilca (2)	Ternera	0.272	23.4	Negativo
7		Alfenque	0.256	27.9	Negativo
8		Alicia	0.279	21.4	Negativo
9		Paulina	0.330	7.0	Negativo
10		Plomo blanca	0.245	31.0	Negativo
11		Margarita	0.276	22.3	Negativo
12	C.C. Lenzora (3)	Cachuda1	0.140	60.6	Positivo
13		Cachuda2	0.002	99.4	Positivo
14		cachuda3	0.005	98.6	Positivo
15		cachuda4	0.006	98.3	Positivo
16		cachuda5	0.006	98.3	Positivo
17		cachuda6	0.001	99.7	Positivo
18		cachuda7	0.014	96.1	Positivo
19		cachuda8	0.005	98.6	Positivo
20	Eustaquio (4)	Paola	0.283	20.3	Negativo
21		Gloria	0.320	9.9	Negativo
22		Ampez	0.267	24.8	Negativo
23		Lucero	0.268	24.5	Negativo
24		Flora	0.295	16.9	Negativo
25		Betty	0.264	25.6	Negativo
26		Petronila	0.240	32.4	Negativo
27	Benita Quispe (5)	Bella	0.245	31.0	Negativo
28		Valicha	0.317	10.7	Negativo
29	Lucila Apaza (6)	Sonia	0.245	31.0	Negativo
30		Yola	0.268	24.5	Negativo
31		Ricardina	0.281	20.8	Negativo
32	Cirila Apaza S. (7)	Criollo1	0.281	20.8	Negativo
33		Criollo2	0.250	29.6	Negativo
34		Criollo3	0.240	32.4	Negativo
35		criollo4	0.240	32.4	Negativo
36	C.C. Enrique Torres B (8)	sn1	0.006	98.3	Positivo
37		sn2	0.005	98.6	Positivo
38		sn3	0.004	98.9	Positivo
39		sn4	0.004	98.9	Positivo



40		sn5	0.003	99.2	Positivo
41		sn6	0.027	92.4	Positivo
42		sn7	0.001	99.7	Positivo
43		sn8	0.007	98.0	Positivo
44	Braulio Hañari (9)	an1	0.240	32.4	Negativo
45		an2	0.290	18.3	Negativo
46		an3	0.250	29.6	Negativo
47		an4	0.278	21.7	Negativo
48		an5	0.294	17.2	Negativo
49	Nicolas Coyla (10)	Ana	0.249	29.9	Negativo
50		Vale	0.320	9.9	Negativo
51		Briguit	0.250	29.6	Negativo
52		Silvia	0.278	21.7	Negativo
53		Conce	0.265	25.4	Negativo
54	Aurelio Mamani (11)	Candy	0.240	32.4	Negativo
55		rosa	0.258	27.3	Negativo
56		linda	0.310	12.7	Negativo
57		pelusa	0.264	25.6	Negativo
58	Alicia Paredes (12)	Alicia	0.240	32.4	Negativo
59		Petronila	0.268	24.5	Negativo
60		Delia	0.310	12.7	Negativo
61		Rosy	0.235	33.8	Negativo
62		Carmen	0.240	32.4	Negativo
63	C.C. Marno (13)	sn1	0.005	98.6	Positivo
64		sn2	0.100	71.8	Positivo
65		sn3	0.150	57.7	Positivo
66		sn4	0.210	40.8	Negativo
67		sn5	0.267	24.8	Negativo
68		sn6	0.095	73.2	Positivo
69	Flavio Supo (14)	Denis	0.254	28.5	Negativo
70		Eli	0.269	24.2	Negativo
71		Mary	0.290	18.3	Negativo
72		Chola	0.314	11.5	Negativo
	CONTROLES				
73	Control Negativo		0.355	-.-	
74	Control Positivo		0.008	97.7	Positivo

Anexo 2: Equipos y materiales

Para la toma de muestras sanguíneas

- Agujas y tubos de ensayo.
- Algodón.
- Alcohol yodado.
- Plumón de tinta indeleble.
- Gradillas
- Cajas térmicas (tecnopor) y geles.
- Registros
- Cámara fotográfica.
- Sogas.
- Mocheta.

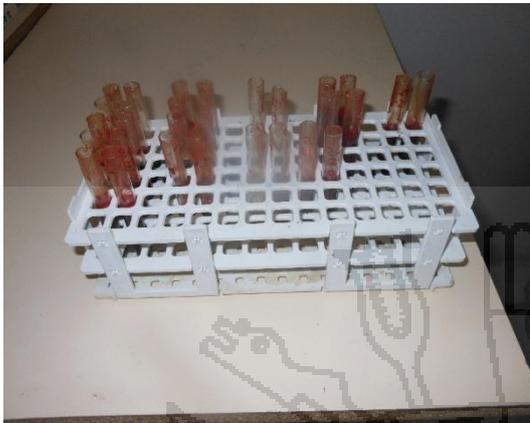
Equipos y materiales de laboratorio

- Centrífuga
- Congeladora a -20°C
- Cronómetro
- Lector de ELISA
- Vortex
- Micropipetas de canal simple de distintas capacidades
- Micropipetas multicanal 20-200 μL
- Papel toalla
- Papel parafilm
- Tips amarillos y blancos
- Algodón.
- Agua bidestilada desionizada
- Kit para determinación de IBR (IDEXX chekit IBR antibody ELISA)
- Guantes quirúrgicos

Biológicos

- Suero sanguíneo

FOTOGRAFIAS



Muestras de sangre



Reactivos TMB, IBRgB y de frenado



Incubación del suero



Lector de ELISA