

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agrícolas

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“DETERMINAR LA SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS CON LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) EN BOVINOS DEL DISTRITO DE INCLÁN, VALLE DE SAMA, REGIÓN DE TACNA - 2009”.

TESIS

Presentada por

Bach. ROCIO MARITSA MAMANI GARCÍA

Para optar el Título de

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TACNA - PERÚ

2010

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA

Facultad de Ciencias Agrícolas

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“DETERMINAR LA SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS CON LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) EN BOVINOS DEL DISTRITO DE INCLÁN, VALLE DE SAMA, REGIÓN DE TACNA - 2009”.

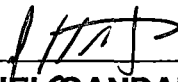
TESIS PRESENTADA Y APROBADA EL DÍA VIERNES 29 DE OCTUBRE DE 2010 ESTANDO EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR:

PRESIDENTE:



MsC. MVZ. EMILIO MAQUERA LLANO

SECRETARIO:



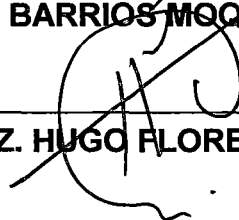
MVZ. DANIEL GANDARILLAS ESPEZÚA

VOCAL:



MV. LUIS BARRIOS MOQUILLAZA

ASESOR:



MsC. MVZ. HUGO FLORES AYBAR

UNIVERSIDAD NACIONAL "JORGE BASADRE GROMICANN" DE TAGUA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

TITULO PROFESIONAL

Tomo: 03

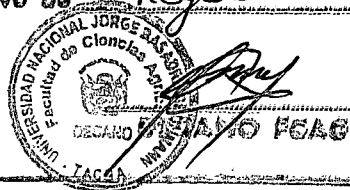
Folio N° 503

El Decano de la Facultad, CERTIFICA:

Que el Bachiller: Yamami Garcia
Rocio Montsa

ha sustentado el presente Trabajo de Tesis y ha sido **APROBADO**
por Unanimidad, con el calificativo de Regular

Fecha: 2010 noviembre 15



Dedicatoria

*A Dios y la Virgen María por
sobre todas las cosas que guían
mi camino.*

*A mi adorada Madre y Padre por
apoyarme incansablemente y por
ser mis modelos de lucha.*

*A mis hermanas que son y serán
mi pilar en vida.*

AGRADECIMIENTOS

A la universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann- Tacna por ser la cuna de muchos profesionales.

A los docentes la universidad por contribuir con sus aportes y enseñanzas para que este trabajo llegue a concretarse.

A mi asesor MVZ. Hugo Flores Aybar que fue uno de los partícipes de mis logros.

Al MV. Oscar Pérez Chávez por darme la oportunidad y hacerme partícipe de la investigación de la que fuere mi tesis.

Al la UCDSA SENASA-Lima por facilitarme el ingreso a sus instalaciones, al MV. Chang, MV. Rodríguez y al MV. Shelvy por contribuir con mi investigación.

Al MV. Juel Cahuana por su apoyo y contribución.

A mis infaltables amigas Gilma, Maribel, Esther, Corina, Abel y demás compañeros de promoción, muchas gracias por las horas de ocio, juega y estudio que siempre supieron compartir conmigo.

CONTENIDO

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	7
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
IV.	RESULTADO.....	59
V.	DISCUSIÓN.....	79
VI.	CONCLUSIONES.....	86
VII.	RECOMENDACIONES.....	87
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	88
IX.	ANEXOS.....	94

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA.....	59
CUADRO 2:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN EDAD.....	61
CUADRO 3:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN SEXO.....	63
CUADRO 4:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN PROCEDENCIA.....	65
CUADRO 5:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CURSO DE GESTACIÓN.....	67
CUADRO 6:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN FETOS MOMIFICADOS.....	69
CUADRO 7:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESTINO DE LA PLACENTA.....	71
CUADRO 8:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN MOVIMIENTO DE LOS ANIMALES.....	73
CUADRO 9:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CICLO ESTRAL.....	75
CUADRO 10:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESCARTE EN LABORATORIO DE DVB.....	77

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA.....	60
GRÁFICO 2:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN EDAD.....	62
GRÁFICO 3:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN SEXO.....	64
GRÁFICO 4:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN PROCEDENCIA.....	66
GRÁFICO 5:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CURSO DE GESTACIÓN.....	68
GRÁFICO 6:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN FETOS MOMIFICADOS.....	70
GRÁFICO 7:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESTINO DE LA PLACENTA.....	72
GRÁFICO 8:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN MOVIMIENTO DE LOS ANIMALES.....	74
GRÁFICO 9:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CICLO ESTRAL.....	76
GRÁFICO 10:	SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESCARTE EN LABORATORIO DE DVB.....	78

RESUMEN

El presente estudio de investigación se realizó entre los meses de abril a junio del 2009, la misma que se llevó a cabo en el distrito de Inclán, valle de Sama, Región Tacna. Títulado "Determinar la seroprevalencia de antígenos de animales persistentemente infectados con la diarrea viral bovina en bovinos del distrito de Inclán", cuyos objetivos fueron; Determinar la seroprevalencia de antígenos de animales persistentemente infectados con la diarrea viral bovina según edad, sexo y factores asociados, a través de la prueba de Elisa de captura de antígeno.

Para tal efecto, se trabajó con muestras de sueros correspondientes a 1129 bovinos y el análisis estadístico se realizó mediante la prueba de chi-cuadrada.

La seroprevalencia según edad fue mayor entre las edades de 16-24 meses con 2,22% y en menor porcentaje entre las edades de 9-12 meses con 1,15%. En cuanto a la seroprevalencia según sexo, se encontró que los machos son los más afectados con 1,99% seguido por las hembras con 1,54%. Y finalmente de los factores asociados que influye en la seroprevalencia de animales persistentemente infectados fue el ciclo estral siendo infértiles con 6,49%. Obteniéndose una seroprevalencia general de 1,68% de bovinos persistentemente infectados del distrito de Inclán, valle de Sama, Región Tacna-2009.

I. INTRODUCCIÓN

El ganado vacuno está distribuido en todos los países del planeta debido a la importancia socio-económica; pues aporta leche, carne y trabajo, contribuyendo los dos primeros productos en la seguridad alimentaria de los países que las poseen.

El Perú con una población de 4 903 363 de vacunos, con carácter intensivo sólo registra 983 establecimientos de producción lechera, los mismos que se ubican principalmente en los departamentos de la Libertad, Lima, Cuzco, Piura, Arequipa y Tacna.

La industria lechera en el país afronta serias limitantes en su desarrollo. Las consecuencias de la infección transplacentaria del VDVB son ampliamente conocidas, sobre todo en bovinos de hatos lecheros (Houe, 1999, 2003).

La enfermedad de la diarrea viral bovina tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas (Odeón y col. 2000).

Estudios recientes indican que la diarrea viral bovina (DVB) y la *Neospora caninum* son las enfermedades de mayor relevancia en la presentación del aborto en el ganado lechero del valle de Lima y posiblemente otras áreas como Arequipa y Cajamarca, sin embargo un bovino inmunocompetente con el VDVB el 70 a 90% de los casos presenta una infección subclínica con una ligera fiebre y leucopenia seguido por el desarrollo de anticuerpos neutralizantes y recuperación del animal. Algunas veces los animales infectados pueden manifestar ligera depresión, fiebre y leucopenia con descarga óculo-nasal presentando erosiones en la cavidad bucal; en estos casos la infección es aguda y ocurre en animales seronegativos e inmunocompetentes entre las edades de 6 a 2 años. (Hermelinda Rivera G, 2001.)

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM indican que la DVB tiene una prevalencia promedio de 50 a 80% en el ganado lechero. Por lo que es necesario iniciar un programa voluntario en el uso de toros o semen libres del VDVB, identificación y eliminación de los animales PI, inmunización con vacunas inactivadas, regulación del ingreso de animales al hato sobre su estado sanitario, y medidas sanitarias para minimizar las transmisiones horizontales de la infección (Lindberg y Alenius, 1999).

Por otro lado, la inhalación e ingestión de saliva, secreciones nasales, orina y heces contaminadas con VDVB, constituyen las fuentes más frecuentes de infección, así como; el semen, secreciones uterinas, líquido amniótico o placenta contaminada (Obando et al., 2005).

Los animales persistentemente infectados (PI) usualmente mueren dentro del primer año de vida por infecciones secundarias (Houe,1995), otros llegan a la etapa reproductiva, pero sin duda, la cría que generen tendrá igualmente la condición de PI (Duffel y Harkness, 1985). Los animales de pobre condición física constituyen un problema para el ganadero por lo que son eliminados tempranamente, en la mayoría de las veces, sin saber que fueron PI. (Mars, 2005).

El VDVB tiene una amplia distribución en los animales de la irrigación Majes- Arequipa que puede deberse a factores, tales como la cercanía de los potreros en donde pastan los animales, introducción al hato de animales sin un análisis clínico y de laboratorio, falta de información de los ganaderos acerca de la enfermedad y de animales PI, entre otros (Valle et al., 1999).

En Argentina con 70% de seroprevalencia y una prevalencia de bovinos PI del 1%, es similar al resto del mundo.

El VDVB es responsable de ocasionar manifestaciones clínicas, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico (Kobrak y Weber, 1997).

Actualmente la DVB se puede controlar mediante la utilización de vacunas a virus muerto y la eliminación de animales PI (Bitsch y Ronsholt, 1995). En el Perú se utiliza la vacunación aunque no en forma integral pero la mayoría de los ganaderos emplean la vacuna como único método de control de la DVB (Vilcek et al, 1999).

1.1. Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Determinar la seroprevalencia de antígenos de animales persistentemente infectados con la Diarrea Viral Bovina, en el ganado bovino del distrito de Inclán, valle de Sama de la Región de Tacna.

1.1.2 Objetivos específicos

- Detectar la seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados con la Diarrea Viral Bovina, según edad del distrito de Inclán.
- Detectar la seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados con la Diarrea Viral Bovina, según sexo del distrito de Inclán.
- Determinar los factores asociados a la seroprevalencia del virus en animales persistentemente infectados con la Diarrea Viral Bovina, en bovino del distrito de Inclán.

1.1.3 Hipótesis

La seroprevalencia de antígenos de animales persistentemente infectados con la diarrea viral bovina (DVB), en el ganado vacuno lechero del Distrito Inclán, alcanza un porcentaje de 5,7% (SENASA-Tacna).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 CARÁCTERÍSTICAS DEL VIRUS

El virus de la diarrea viral bovina, es el agente causal de la DVB.

2.1.1 Taxonomía

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) pertenece al género Pestivirus de la Familia Flaviviridae (Chacón, 2001, Lértora, 2003)

2.1.2 Morfología

Morfológicamente, el VDVB corresponde a una partícula esférica de 40-60 nm de diámetro (Zuñiga, 2006, Lértora, 2003), constituido por una Nucleocápside icosaédrica de 25-37 nm de diámetro, se compone de una cadena simple de ARN protegida por una cubierta protéica y una envoltura externa de naturaleza lipídica con tres glicoproteínas (Chacón, 2001; Lértora, 2003; Jayashi, 2005; Zuñiga, 2006).

2.1.3 Genoma

El genoma de VDVB consiste en ARN de polaridad positiva y contiene un amplio marco abierto de lectura (ORF) que codifica una

poliproteína que es cortada en proteasas de origen viral y celular para constituir las diferentes proteínas estructurales y no estructurales del virus (Zuñiga, 2006)

2.1.4 Proteína virales

Han sido encontradas al menos 13 proteínas estructurales y no estructurales codificadas por el genoma del VDVB y según el orden en el genoma son:

p20/ Npro: Es la primera proteína no estructural, traducida del orf y de actividades autoproteolítica para la primera generación del extremo N-terminal de la p14/C.

p14/ C: Constituye la cápside viral y su función es empacar el ARN viral y proveer las interacciones necesarias para la formación de la envoltura.

gp 48/ EO^{ms}: Recientemente clasificada como una ribonucleasa, sus funciones no son claras, pero se ha observado que puede inhibir la proliferación e inducir apoptosis en linfocitos. Induce considerables niveles de anticuerpos pero con limitada capacidad neutralizante.

gp 25/ E1 y gp 53/ E2: La primera sirve para iniciar la translocación de la proteína adyacente gp 53, y provoca una insignificante respuesta humoral. La segunda es la mayor proteína de membrana, muy antigénica altamente variable, además produce los de anticuerpos neutralizantes.

p125/ NS23: Es una proteína no estructural altamente conservada entre todos los pestivirus e induce una fuerte respuesta humoral que aunque no neutralizan al virus, es importante para la detección serológica.

p54/ NS2 y p80/ NS3: La p54 tiene una actividad de unión en el ARN y la p80 es una proteinasa con actividad de NTPasa y de ARN helicasa sirviendo como marcadora del biotipo CP, muy estable en células infectadas y altamente inmunogénica. Estas proteínas no estructurales son producto del corte en dos partes de la p125/ NS23 cuando el biotipo citopáticos se replica.

Se conoce muy poco acerca de las funciones de las demás proteínas no estructurales p10/ NS4A, p32./ NS4B, p58/ NS5A y p75/ NS5B (Zuñiga, 2006, Chacón, 2001, Morales, 2002)

2.1.5 Replicación viral.

El VDVB se replica óptimamente en células de tipo epitelial y linfóide bovino, ovino y caprino. La replicación comienza con la adhesión y la penetración en la célula hospedadora. Al parecer, el receptor específico de la superficie del VDVB es la proteína de superficie 50 KD de las células. Por mediación de la E2, el virus ingresa a la célula por endocitosis liberando su genoma en el citosol. La información genética conteniendo el ARN viral es traducida en el ribosoma en una poliproteína, la misma que es cortada por enzimas de origen viral en pequeños polipéptidos (proteínas estructurales y no estructurales). El ensamblaje tiene lugar en el retículo endoplasmático perinuclear y en la membrana del cuerpo de Golgi donde los viriones adquieren la envoltura lipídica. El pico de liberación de la progenie viral ocurre de 12 a 14 horas después de la infección. Cada célula infectada libera 100 a 1000 viriones, que salen de la célula por exocitosis (Chacón, 2001).

2.1.6 Variabilidad.

La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. Así mismo su plasticidad y ésta se deben a la falta de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia (1 error por cada

10 000 nucleótidos polimerizados). El VDVB usa esta estrategia para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador. El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente. Sin embargo, el virus DVB aislado de cerdos y ovejas tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino.

Otra posible causa para la variabilidad es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados periodos de replicación en animales persistentemente infectados. Sin embargo, esta última posibilidad no parece suceder con el VDVB. Bolin y Ridpath, 1992 demostraron que nuevas variantes antigénicas se originan durante el pasaje del virus en bovinos susceptibles que desarrollaron una infección aguda. Esto sugiere que, mientras los animales persistentemente infectados son más importantes como reservorios, los animales con infección aguda pueden ser más importantes para la generación de nuevas variantes antigénicas. Las consecuencias de esta diversidad se reflejan en el espectro de manifestaciones clínicas y lesiones, dificultando además su diagnóstico y limitando el espectro de protección brindada por el empleo de vacunas monovalentes (Lértora, 2003)

2.1.7 Clasificación

La clasificación del VDVB es difícil, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género pestivirus (virus de la peste porcina clásica y el virus de la enfermedad de la frontera del ovino). Los hospedadores en que eran aislados los pestivirus fueron las bases iniciales para su subdivisión. Sin embargo, este criterio de clasificación es poco fiable debido a que los pestivirus cruzan fácilmente la barrera de especie.

2.1.7.1 Biotipos virales

Existen dos, basado en el efecto de ellas sobre los cultivos celulares in vitro (Jayashi, 2005)

Citopatogénico (CP), se caracteriza por la producción de intensa picnosis nuclear, en el citoplasma se observa granulaciones, vacuolización, apoptosis (Jayashi, 2005) y muerte celular (Lértora, 2003). El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad mucosa y se originan por mutación a partir del biotipo NCP; ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral (Lértora, 2003). Una diferencia entre las cepas CP y NCP es el procesamiento de la proteína no

estructural p125, la proteína p80 (Chacón, 2001). La lisis celular se produce al cabo de 2 a 3 días post-inoculación (Jayashi, 2005)

No citopatogénico (NCP), el 90% de las infecciones por VDVB en los bovinos se deben a las cepas NCP. No ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas o con infección aguda y el único capaz de originar infección persistente (Lértora, 2003), así mismo también presente en todos los animales persistentemente infectados como resultado de una infección prenatal. Algunos desarrollan la forma severa de la DVB conocida como la enfermedad de las mucosas. Esta es usualmente fatal y se asocia a una superinfección con una cepa citopatogénica homóloga de VDVB (Jayashi, 2005)

2.1.7.2 Genotipos virales

Las cepas del VDVB se dividen en 2 genotipos; Genotipo I y Genotipo II, la respuesta inmune a los 2 genogrupos es parcialmente homóloga (Lértora, 2003)

Genotipo I del VDVB puede ser dividido en al menos 11 genogrupos y es muy probable que nuevos genogrupos sean revelados en futuros análisis. Este genotipo es el más común y es considerado el clásico VDVB e incluye a los usados para la producción de vacunas, cepas de laboratorio y en investigación (Zuñiga, 2006)

Genotipo II comprende nuevas cepas del VDVB asociados con una alta mortalidad, trombocitopenia y hemorragias, aisladas en animales con infección persistente (Jayashi, 2005)

2.2 DESCRIPCIÓN DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) Y COMPLEJO PATOLÓGICO MUCOSO

Una enfermedad infecciosa del ganado bovino, causada por un pestivirus (familia Flaviviridae). La infección normalmente es subclínica o leve, con alta morbilidad y baja mortalidad, pero también puede ocurrir enfermedad grave con mortalidad elevada. El virus DVB es inmunosupresor y puede predisponer o exacerbar los brotes de enfermedad concurrente.

2.2.1 Epidemiología: La enfermedad ha sido reconocida en muchas partes del mundo. El ganado bovino de todas las edades es sensible, pero la infección ocurre con más frecuencia en animales jóvenes, de 8 a 24 meses de edad. Aunque los terneros pueden recibir anticuerpos en el calostro, las concentraciones de anticuerpos disminuyen a los 3- 8 meses de edad y el ternero puede entonces infectarse. La infección del feto con cepas no citopáticas de virus de DVB antes de que el mismo logre inmunocompetencia (aproximadamente 120 días de gestación) puede dar lugar a infección persistente e inmunotolerancia. Estos terneros pueden nacer vivos y sobrevivir durante un periodo variable hasta la edad adulta; son, sin embargo, portadores y excretores persistentes de virus de

DVB y son seronegativos. Como tal, son importantes para perpetuar la enfermedad y puede ser una fuente de infección cuando se introduce en un rebaño. Las encuestas de seroincidencia indican que la infección es común. El virus está presente en título elevado en las secreciones y excreciones de los animales infectados y la transmisión ocurre por contacto directo o por los alimentos u otros materiales contaminados; sin embargo, los excretores persistentes son seronegativos. El periodo de incubación es variable pero generalmente es de unos 5-10 días.

2.2.2 Hallazgos clínicos: Los casos graves se caracterizan por fiebre, anorexia, depresión, erosiones y hemorragias del tracto GI, diarrea y deshidratación. En los casos leves, la diarrea puede no ser un signo prominente. La mayoría de las infecciones de DVB son subclínicas, y el curso de la enfermedad varía de 2-3 días a 3 semanas; sin embargo, esto da lugar a aumentos mensurables en las concentraciones de anticuerpos. El ganado con DVB aguda puede morir en 48 horas. La mayor parte del ganado afectado presenta anorexia, lesiones orales y diarrea leve durante 2-4 días. Los terneros con DVB clínica están atontados, deprimidos y anoréxicos y pueden presentar hinchazón leve. Las temperaturas leves iniciales varían de 40 a 41°C (104 a 106° F), pero en general vuelven a los valores normales o subnormales en uno a dos días y antes de que

ocurra diarrea. La elevación difásica de temperatura se ha descubierto en las infecciones experimentales pero raras veces se observa en los casos en el campo. Las frecuencias cardíacas y respiratorias normalmente aumentan. Las heces pueden contener material mucoso o sangre y presentar mal olor; puede ocurrir una diarrea acuosa resultante en deshidratación rápida. Si la diarrea es profusa, el pronóstico es grave.

En aproximadamente el 75 % de los casos clínicos, cuando el animal comienza presentar diarrea, hay lesiones orales. Típicamente hay un enrojecimiento difuso de la mucosa oral, seguido por manchado de la mucosa con lesiones en forma de puntos que en general se agrandan hasta formar erosiones epiteliales de poca profundidad, de 1 a 2 cm de diámetro. Los sitios de las erosiones incluyen el paladar, el velo del paladar, el dorso y los costados de la lengua, las encías y las comisuras de la boca. En los casos iniciales, las papilas de los carrillos están hiperémicas y sus puntas se desprenden, dejando papilas romas, cortas, a medida que la enfermedad progresa.

Otros signos adicionales ocurren esporádicamente en animales individuales. Estos incluyen secreción nasal mucopurulenta; narinas externas hiperémicas, encostradas; erosiones de la banda coronaria y fisura interdigital y opacidad de la córnea. En algunos brotes, las lesiones orales y la diarrea son mínimas y los signos prominentes pueden sugerir

una enfermedad respiratoria (los signos respiratorios pueden deberse a la actividad de otros agentes microbianos y la infección de DVB ha sido implicada en el "complejo de fiebre del transporte".) Inicialmente es común observar leucopenia con linfocitosis relativa. La leucocitosis puede ocurrir conjuntamente con infección bacteriana secundaria. El animal raro que sobrevive la enfermedad aguda, está en general tan debilitado que es un peligro económico.

La infección durante la preñez puede resultar en muerte o aborto del feto, nacimiento de terneros débiles o terneros con infección congénita. Esta infección a menudo no es clínicamente evidente en la madre, los efectos en el feto varían de acuerdo con la cepa del virus y con el tiempo de gestación y estado de inmunocompetencia del feto. La muerte fetal, con reabsorción o momificación, o el aborto puede ocurrir después de la infección contraída al principio o mitad de la gestación hasta aproximadamente los 120 días. Cuando hay una gran proporción de vacas susceptibles, la evidencia inicial de DVB puede ser un problema de infertilidad en el rebaño o una proporción elevada de abortos. La infección a mitad de la gestación (aproximadamente 120 a 150 días) puede resultar en terneros con defectos congénitos. Estos incluyen hipoplasia cerebelar, cataratas, degeneración de las retinas, microftalmia, hipoplasia de los canales ópticos, hidrocefalo y capa espesa, enrulada. La DVB congénita

puede ser una causa del síndrome del "ternero débil". La enfermedad de la mucosa aguda puede ser provocada en becerros infectados congénitamente o en ganado bovino adulto, cuando se les expone a una cepa citopática antigénicamente relacionada o antigénicamente diferente de virus de DVB o debido a varios factores desconocidos. El síndrome de enfermedad mucosa es igual al de la DVB grave descrita antes, pero es invariablemente fatal. Cuando ocurre infección de la madre (con virus citopáticos o no citopáticos de DVB) a fines de la gestación (más de 150 días), puede haber infección fetal con formación de anticuerpos pero sin efectos adversos para el feto.

2.2.3 Lesiones: Las lesiones evidentes están confinadas principalmente al tubo digestivo. Microscópicamente, focos de células epiteliales degenerada comprenden las lesiones básicas. Estas se desarrollan con edema y vasculitis inmediatamente debajo de las células epiteliales, resultando con erosiones del esófago, los primeros estómagos, el abomaso y el intestino. La necrosis epitelial es más prominente en la enfermedad mucosa, cuando la ulceración es notable, especialmente en las áreas oronasaes. La enteritis catarral puede ser severa en las formas más crónicas de la enfermedad.

Ocurre necrosis de los tejidos linfoides, especialmente los asociados con el intestino. En la enfermedad mucosa crónica, las placas de Peyer afectadas se presentan hemorrágicas, de color rojo oscuro y necrótico. Microscópicamente hay una lesión característica con destrucción del forro epitelial de las criptas de Lieberkuhn en el intestino delgado inferior, el ciego y el colon. Los animales con enfermedad mucosa mueren de infección sistémica febril y colapso circulatorio.

2.2.4 Diagnóstico: Debido a que enfermedades como la peste bovina y la fiebre catarral maligna pueden causar síndromes similares, es muy importante hacer el diagnóstico de enfermedades como la DVB. Los casos graves de infección de DVB en general pueden diagnosticarse en base a la historia, hallazgos clínicos y lesiones examinadas en la necropsia. Desgraciadamente, en la mayoría de los casos, los signos clínicos son menos obvios y puede ser difícil llegar a un diagnóstico exacto. Debido al amplio tipo y severidad de lesiones inespecíficas, en ocasiones solo evidenciadas por microscopía el diagnóstico se basa únicamente en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico. El objetivo principal del diagnóstico es la detección y remoción de bovinos PI, principal fuente de infección y reservorio del virus.

Para detectar a los bovinos PI, se cuenta con cuatro métodos diferentes.

-Detección de antígenos mediante enzimo-inmonoensayo (ELISA de captura).

La prueba de ELISA de captura está diseñada para detectar antígenos (Ag) en suero, plasma, sangre entera y tejido de muesca de oreja. Se ha configurado un formato de placas de microtitulación tapizadas con anticuerpos monoclonales específicos de VDVB (E^{ms}). El antígeno del VDVB de la muestra es capturado en las placas. Tras incubación de la muestra en el pocillo, el antígeno es detectado por anticuerpos específicos y conjugado de peroxidasa de rábano picante. Después se lava el conjugado sin enlazar para eliminarlo y se añade una solución de sustrato/ cromógeno. En presencia del enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno, generando una coloración azul. 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 [A (450)] o doble de 450 nm y 650 nm [A (450/650)]. El valor de la densidad óptica (DO) corregida de las muestras se calcula usando la absorbancia [A (450)] o [A (450/650)]

obtenida con la muestra de ensayo y corregida con la absorbancia del control negativo.

-Aislamiento viral.

El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Sin embargo, es económicamente prohibitivo para ser usado en el diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación. El cultivo celular se ha optimizado con el sistema *microtitre multi-well*, donde células cultivadas en placas con múltiples pocillos son inoculadas con 10 a 50 μ l de suero problema e incubadas por 4 días; la presencia de biotipos NCP se detecta con el empleo de anticuerpos anti-VDVB marcados con peroxidasa o fluorocromos (Lértora, 2003). Sin embargo, los anticuerpos calostrales pueden temporalmente disminuir la cantidad de virus libre del suero de los animales jóvenes. Además el aislamiento viral puede no diferenciar entre infecciones agudas y animales PI a menos que los animales positivos sean nuevamente sometidos a la prueba de 2 o 3 semanas. Una desventaja de la prueba es la frecuente contaminación de las células con VDVB endógeno, lo cual interfiere con los resultados, además de equipos, un sistema de cultivo celular permanente y personal calificado (Jayashi, 2005).

-Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (IHQ)

La IHQ se realiza, rutinariamente, en tejido fijado en formalina y embebido en parafina; aventajando a otras técnicas en términos de conveniencia en la remisión de las muestras, posibilita el resultado retrospectivo de muestras enviadas para examen histopatológico y permite una precisa asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histológicas.

La IHQ de tejidos fijados en formalina es el método diagnóstico más conveniente para la detección del VDVB en fetos. Hay un significativo número de resultados falsos positivos y falsos negativos con la inmunofluorescencia (sensibilidad: 77%, especificidad: 83%), y significativo número de falsos negativo con el aislamiento viral (sensibilidad: 83%, especificidad: 100%), mientras que la IHQ posee el mejor desempeño: especificidad: 97% y sensibilidad: 97%. En casos de fetos con avanzada autolisis, la IHQ de cerebro fijado en formalina se recomienda sobre el aislamiento viral y la detección de antígeno por ELISA.

La presencia del antígeno del VDVB en queratinocitos de la epidermis y células epiteliales de folículos pilosos de bovinos PI clínicamente normales, ha originado el desarrollo de la técnica inmunohistoquímica en biopsias de piel para el diagnóstico de estos animales. Esta técnica, en

comparación con el aislamiento viral, ha demostrado ser eficaz, rápida, económica, sencilla y fácilmente implementarlo en cualquier laboratorio de histopatología. Además, la colección y remisión de las muestras al laboratorio es simple. Las muestras fijadas en formalina son más estables que las muestras de sangre o suero, evitándose así falsos negativos por autólisis o putrefacción y los anticuerpos calostrales no interfieren con la técnica, permitiendo analizar terneros neonatos.

La inmunoreacción en piel de bovinos PI nos permitió visualizar al VDVB como estructuras granulares de distinto diámetro, localizadas en el citoplasma de todas las células epiteliales de la epidermis y de los folículos pilosos, células de las glándulas sebáceas, células de las glándulas sudoríparas, histiocitos, músculo liso y células endoteliales. Este patrón de tinción y la distribución de la inmunoreacción son característicos de una infección persistente y deben tenerse en cuenta a la hora del diagnóstico inmunohistoquímico. Además, pudimos demostrar la presencia de antígenos del VDVB en el citoplasma de las células que conforman la vaina de la raíz de pelos extraídos manualmente de bovinos PI. Sin embargo, no recomendamos el empleo de muestras de pelo para el diagnóstico rutinario de estos animales, ya que pese a ser sumamente fácil la toma de muestra, es una técnica laboriosa que consume gran cantidad de reactivos y no permite el estudio simultáneo de numerosas

muestras. La inmunolocalización de este virus en tejidos fijados en formalina al 10% empleando anticuerpos monoclonales es difícil, ya que es un virus antigénicamente variable y sensible a los efectos de la fijación (Lértora, 2003)

-Detección de ácido nucleico viral

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido, sensible, que detecta diversos VDVB y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo. Su sensibilidad permite detectar el virus en pool muestras de sangre y leche de tanque. Sin embargo, su elevada sensibilidad puede originar resultados falsos positivos.

Para maximizar la detección de VDVB se han seleccionado partidores de la región 5' no codificante del genoma pestiviral, ya que es la región del genoma que más se conserva entre los virus aislados. Sin embargo, Vilcek y col. 2001, considerando la alta variabilidad, recomiendan un cuidadoso examen de los partidores para asegurar que sean capaces de detectar todos los virus del genotipo 1 del VDVB (Lértora, 2003)

2.2.5 Control: No hay un tratamiento específico para la DVB, pero está indicado el tratamiento de apoyo. Se dispone de vacunas, con el virus vivo modificado y virus inactivado, que pueden proporcionar una

protección significativa. En general las vacunas se administran a los 6 a 10 meses de vida, cuando la inmunidad proporcionada por el calostro ha disminuido. Debe cumplirse al pie de la letra con las recomendaciones de los fabricantes de las vacunas acerca del uso y programa de inoculación. Hay evidencia de que la vacunación de ganado vacuno inmunotolerante, persistentemente afectado, con una vacuna de virus citopático atenuado, puede dar como resultado enfermedad mucosa severa en estos animales; sin embargo, esto no siempre ocurre y tales animales pueden desarrollar anticuerpos neutralizantes al virus de la vacuna. También se dispone de vacunas de DVB inactivadas y su uso puede combatir los problemas atribuidos a veces al uso de las vacunas atenuadas. Como los animales con infección persistente pueden constituir una fuente continua de infección en un rebaño, teóricamente deben identificarse y separarse. Sin embargo, esta solución es cara, ya que requiere una encuesta serológica del rebaño y el aislamiento del virus a partir de la sangre de los animales seronegativos.

2.3 ANTECEDENTES DE INVESTIGACION.

La diarrea viral como se describió por primera vez en Nueva York en 1946 por Olafson y colaboradores, es una enfermedad aguda, altamente contagiosa que es raramente fatal y que se caracteriza por fiebre, diarrea, lesiones en las mucosas y leucopenia. (Obando et al., 2005.)

En Dinamarca se obtuvo de un total de 2 750 muestras de 19 hatos lecheros, donde se hallaron 28 animales persistentemente infectados (PI) con una prevalencia de 1.08%. (Houe, H., Meyling, A. 1991).

Los animales transitoriamente infectados pueden también diseminar la enfermedad durante un breve período de viremia (de 5 a 7 días de duración). También parece ser que el contacto cercano con otros hatos pueda servir como fuente de infección, el uso de pasturas comunes (pasturas alpinas, Suiza) entre diferentes hatos inducía la diseminación de la infección entre animales seronegativos. Otras fuentes de infección son: semen contaminado, transmisión del virus por los trabajadores o instrumentos (Jayashi, 2005).

La transmisión vertical puede ser de una madre a PI a su descendencia o de una madre sana que se infecta horizontalmente y durante esta infección el feto se convierte en un feto PI (Houe, 1995). Este patrón de comportamiento de la infección puede originar la formación de líneas familiares de animales PI, los cuales al llegar a la madurez sexual van a reproducirse y perpetuar la transmisión del virus. En estas líneas familiares la condición de PI se va mantener de generación en generación (Houe, 1991). La inseminación con semen de toros PI produce invariablemente la infección en las hembras susceptibles inseminadas (Revell et al, 1988; Kirkland, 1994). Sin embargo, la producción de un ternero PI a través de la inseminación artificial rara vez se presenta (McGowan, 1995), por lo que la condición de ternero PI se produce en etapas posteriores de la gestación. Otra vía para la transmisión vertical es la transferencia de embriones. Aquí si la hembra donante es PI, un inadecuado lavado de los embriones puede transmitir la infección a la receptora, que a su vez puede transmitirla al embrión trasplantado (Corrales et al, 1999)

Además, reviste particular atención el nacimiento de becerros inmunotolerantes con la cepa infectante, los cuales, por lo general, no tienen anticuerpos o tienen sólo bajos niveles de ellos contra la cepa viral

involucrada y excretan virus permanentemente. Estos animales al ingerir calostro pueden absorber anticuerpos y resultar seropositivos en una prueba serológica, pero sus niveles de anticuerpos desaparecen más rápido que en los becerros inmunocompetentes. Estos animales no son capaces de reconocer al virus como extraño, y se convierten en portadores y excretores del virus durante toda su vida (McClurkin, 1984; Brownlie, 1991).

Si bien existe una diversidad amplia en la prevalencia reportada de los animales persistentemente infectados (0,1 a 2%) con base a los numerosos estudios realizados en el mundo entero, la probabilidad de introducir un animal PI en un hato es muy alta en la mayoría de las áreas. Hay un consenso general de que vale la pena considerar el impacto económico del ganado PI y que la erradicación de esta enfermedad podría redundar en el beneficio económico de los productores de ganado en todo el mundo (Winslow, 2006).

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es ampliamente reportado como una de las enfermedades virales más costosas para la industria ganadera en el mundo entero. El virus de la diarrea viral bovina es uno de los virus patogénicos más importantes en el ganado. El virus cruza la

placenta en las vacas infectadas preñadas causando pérdidas reproductivas por abortos, terneros mortinatos o terneros que mueren a edad muy temprana. Además, cuando las vacas se infectan entre los 30 y 150 días de gestación, algunos de los terneros sobreviven y quedan persistentemente infectados (llamados animales PI), inmunotolerantes al virus. (Winslow, 2006).

Las vacunas comerciales contra el VDVB están disponibles desde 1959 (Bolin, 1995). Las desventajas de las vacunas MLV (virus vivo modificado) incluyen: enfermedad de las mucosas postvacunal, fallas reproductivas, inmunosupresión y recombinación genética (Bolin, 1995).

Las vacunas inactivadas tienen la ventaja de no causar enfermedad de las mucosas, problemas reproductivos, inmunosupresión o recombinación a diferencia de las vacunas MLV (virus vivo modificado). Además pueden administrarse de manera segura a animales preñados (Ridpath, 1998). Las desventajas de las vacunas inactivadas son su alto costo y la necesidad de que sean administradas en dos o más dosis. Debido a que los anticuerpos maternos pueden interferir con las vacunas inactivadas, éstas deben ser administradas periódicamente desde los 6 meses hasta el primer empadre (Bolin et al, 1995). Sin embargo y a pesar del uso

masivo de las vacunas inactivadas existen estudios que indican que la protección que proveen las vacunas inactivadas es de corta duración (Harkness, 1987).

La DVB es crítica ya que en un estudio realizado en Estados Unidos en ganado de engorde estabulado se demostró que la exposición a los animales PI de otros animales en el mismo corral o en corrales adyacentes tiene un efecto adverso detectable en la tasa de morbilidad en comparación con un estudio realizado en Estados Unidos en ganado de engorde estabulado no expuesto. Este mismo estudio demostró también un incremento de 43 por ciento en la incidencia del tratamiento de la enfermedad del tracto respiratorio en bovinos (BRD) en ganado no PI expuesto a un animal PI (Winslow, 2006).

En experimentos controlados no se ha podido inducir enfermedad ni muerte en terneros después de la vacunación con virus vivo modificado. Sin embargo, los casos clínicos indican que la vacunación MLV (virus vivo modificado) puede hacer que un animal PI se enferme o muera, aunque mucho menos del 100% es afectado negativamente. Aunque muchos de los animales PI son flacos, los reportes indican que hasta el 50% se ven normales y pueden entrar en las operaciones de levante en condiciones

excelentes. Los terneros PI usualmente no pueden ser identificados visualmente. Una investigación reciente demostró que el 7% de las madres de terneros PI eran también PI, el otro 93% de terneros tenían madres con una respuesta inmune normal a BVDV y no estaban persistentemente infectadas. Las pérdidas reproductivas asociadas con bajas proporciones de preñez, más abortos y mortalidad aumentada de terneros es el costo económico más alto de la exposición a animales PI. La cantidad tremenda de virus secretado por un ternero PI puede sobrepasar un nivel de inmunidad que es protector en condiciones de exposición menos severas. La vacunación sola no resolverá los problemas de VDV (Winslow, 2006).

En Estados Unidos de Norteamérica de 3 157 animales de 66 hatos, se encontró 1,7% de animales PI (Houe, H. 1995).

En la enfermedad tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. La mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2 % de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80 % de bovinos seropositivos. El VDV es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de

factores como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros factores concurrentes. (Lértora, 2003).

Las infecciones persistentes en estos animales inmunotolerantes son casi imposibles de detectar por largos períodos de tiempo, lo que facilita la diseminación de la infección en el rebaño. Existen varias fuentes de infección pero la principal es a través de los animales PI (Rufenacht et al, 2001; Lindberg, 2001). A pesar de que los terneros PI tienen tasas de mortalidad del 50% en los primeros doce meses de vida (Lértora, 2003).

La prueba de ELISA de captura de antígenos tiene su fundamento en la detección del antígeno viral a través de los anticuerpos monoclonales. Este método puede llegar a alcanzar una sensibilidad 97,9% y especificidad 99,7% (Lértora, 2003).

La prevalencia de bovinos PI en Inglaterra, Dinamarca, Suecia y Estado Unidos varía entre 0,4% y 1,7%, no existiendo en Venezuela estadísticas al respecto. (Obando et al., 2005).

Como producto de las limitantes que tiene el uso de vacunas para el control efectivo de la DVB, se han desarrollado programas sistemáticos para la erradicación del VDVB, sin vacunación. Estos programas se fundamentan en: 1) La identificación y separación de los rebaños infectados y de los no infectados, 2) El monitoreo y certificación de los rebaños no infectados y 3) La eliminación del VDVB de los rebaños infectados, lo cual se basa en la identificación y remoción de los bovinos PI. Estos programas se han venido implementando en los países escandinavos. Suecia y Noruega comenzaron sus esfuerzos de erradicación en 1993, seguidos por Finlandia y Dinamarca en 1994. En algunos países, el virus ha sido completamente erradicado y, en general, los resultados han sido bastante exitosos, lo que ha servido de ejemplo para que otros países de Europa, como Austria, Alemania, Italia y Holanda, hayan implementado programas de control/erradicación. Finalmente, con base en las experiencias antes señaladas y tomando en consideración los mecanismos de difusión del VDVB, la erradicación de este virus podría ser una alternativa factible para algunas fincas con rebaños infectados y pérdidas de consideración, con la expectativa de que los beneficios posteriores compensarán los costos de su implementación (Obando et al., 2005).

En un estudio de 80 becerras Holstein de hasta 3 meses de edad, procedentes de hatos con antecedentes previos de diarrea viral bovina. Al mismo tiempo se tomaron las biopsias de piel y los sueros. Se utilizó la prueba de ELISA de captura de antígeno en suero con un punto de corte de 0,300 y el método de inmunohistoquímica (IHQ) Estreptoavidina-biotina-peroxidasa en biopsias de piel de oreja, utilizando un anticuerpo monoclonal (gp53/E2) desarrollado en ratón. Concluyendo que la IHQ es un método de diagnóstico eficaz, útil en la detección de animales PI, desde la primera semana de vida, a diferencia de la ELISA de captura, que resulta útil a partir del cuarto mes (Valencia, 2006).

La enfermedad mucosa describe la forma fatal de la DVB que se observa exclusivamente en animales inmunotolerantes y PI, usualmente entre 6 meses y 2 años de edad. Al inicio se caracteriza por decaimiento, inapetencia, fiebre y diarrea acuosa, con presencia, a menudo, de moco y sangre. Con frecuencia se puede observar la mucosa sangrante en la base de los dientes y erosiones de la mucosa oral y nasal, lengua e incluso en el paladar duro. Se ha reportado laminitis y resistencia del animal a moverse, como consecuencia de lesiones erosivas y necrosis de piel en el espacio interdigital. Esta forma de enfermedad puede cursar aguda o crónicamente, pero siempre es fatal.

La diseminación que provocan estos animales puede ser tan grande que en 3 a 4 meses son capaces de infectar al 90% de los animales con los que conviven (Houe, 1999). Los animales PI eliminan el virus durante toda su vida a través de secreciones y excreciones como son: la saliva, orina, heces, descargas nasales, leche y lágrimas (Houe, 1995). También mediante la inhalación o ingestión de secreciones uterinas, líquido amniótico ó placenta embrionaria.

Es importante tener presente que los bovinos mayores de seis meses, que no hayan sido vacunados contra el VDVB y que tengan anticuerpos contra este virus, son animales que sufrieron infección natural y que poseen inmunidad contra la enfermedad, la cual es superior a la que puede ser inducida por cualquier vacuna, siendo además, libres de VDVB con un 99% de seguridad.

La principal limitante de los laboratorios fabricantes de inmunobiológicos para obtener una vacuna efectiva en el control de las infecciones con VDVB, ha sido la variabilidad antigénica entre sus cepas. El objetivo de las vacunaciones se enfocó en los años ochenta, a prevenir la infección de los fetos y evitar la generación de nuevos animales PI. A la corta duración de la inmunidad conferida por las vacunas inactivadas contra el VDVB, usualmente no mayor de cuatro meses. Sin embargo, independientemente de los biotipos y genotipos de VDVB, la variación

antigénica entre las diferentes cepas de VDVB limita que algunas cepas no puedan brindar protección post-vacunal adecuada contra otro grupo. Las vacunas a virus vivo modificado contra el VDVB, desde el inicio de su comercialización, han estado asociadas con efectos indeseables. Su efecto inmunosupresor es otro de los factores que preocupan. Recientemente, se ha comprobado que las cepas de las vacunas contra la DVB, a virus vivo modificado, alcanzan los ovarios después de la vacunación, tal como ha sido evidenciado con cepas de campo después de infecciones agudas, ocasionando ooforitis crónica, disfunción ovárica y reducción de la fertilidad. Considerando lo señalado, las vacunas inactivadas contra el VDVB son de elección en el control de esta enfermedad y deben utilizarse, en forma estratégica en rebaños infectados: 1) Si la problemática observada es la mortalidad elevada de becerros sería recomendable vacunar al final de la gestación, para mejorar la inmunidad conferida por el calostro. 2) Las novillas deberían ser vacunadas y revacunadas un mes antes de ser sometidas a servicio, lo que contribuiría a mejorar su comportamiento reproductivo y a disminuir el riesgo de que nazcan nuevos animales PI. 3) Las vacas paridas deberían revacunarse cuando estén próximas a un nuevo servicio, siguiendo el criterio señalado para las novillas. Las infecciones con VDVB se manifiestan de diversas formas que van desde las infecciones

subclínicas hasta lo que se conoce como enfermedad mucosal, dependiendo de factores del huésped, cepa viral y condición ambiental. Con relación al huésped, dependerá del estado inmunitario, condición de preñez, edad del feto, estrés ambiental y si el animal es inmunocompetente o inmunotolerante al VDVB. Con relación al virus, recordemos que hay diferencias antigénicas y de virulencia entre sus cepas (Obando et al., 2005).

Actualmente el control de la DVB es factible utilizando vacunas a virus muerto y la eliminación PI (Bitsch y Ronsholt, 1995). En el Perú la infección por VDVB es endémica y está presente en la mayoría de hatos lecheros del país (Rivera, comunicación personal). Debido a estas características las estrategias de control deben centrarse en la identificación y eliminación de animales PI que son los principales difusores de la enfermedad, secundadas por diversas medidas de bioseguridad y monitoreo serológicos que con el tiempo permitirán la eliminación del virus del hato. La identificación y eliminación del animal PI del hato, conjuntamente con rígidas medidas de bioseguridad, representa la estrategia principal en el control y erradicación de la enfermedad DVB en varios países nórdicos (Lindberg y Alenius, 1999).

La infección con VDVB tiende a ser endémica en la mayor parte de las poblaciones, con un 60 a 80% del ganado que posee anticuerpos neutralizantes contra el virus (Stähl et al. ,2002).

Los terneros PI surgen de la infección del feto con el VDVB biotipo NCP en algún momento antes de los 125 días de edad cuando el feto todavía es inmunocompetente. No se ha reportado la presentación clínica aguda de la enfermedad y menos de la enfermedad de las mucosas como es observado en USA, Canadá, etc., posiblemente por el ingreso y predominio de cepas de baja virulencia, clima, sistema de crianza, reducida población de bovinos, entre otros. Tampoco fue notorio la ocurrencia de abortos hasta posterior de la década de los 80, desde entonces la tasa de los abortos y otras fallas reproductivas se incrementaron, tal vez como consecuencia del ingreso de nuevas cepas de virus con las importaciones de bovinos sin restricciones sanitarias respecto a infecciones virales o la intensificación de la ganadería lechera. Donde la tasa de aborto puede ser alrededor del 7%, sugiriendo la existencia de algún factor o factores como el mejoramiento genético a base de la introducción de reproductores sin previo análisis, el libre transporte de animales, entre otros. Habiéndose determinado el antígeno del VDVB en el 20% de fetos abortados en hatos lecheros del valle de

Lima y hasta un 49% en fetos abortados en Arequipa, Junín, La Libertad. (Rivera, 2001).

En el valle de Lima se reportó una prevalencia de 3,8% (4/105) de animales PI (Chacón 2001).

El virus de la DVB, infecta principalmente a los bovinos, pero también puede ser encontrado en ovejas, cabras y rumiantes salvajes, que pudieran actuar como reservorios del virus. Muchos toros PI son estériles o producen semen de mala calidad, mientras que en otros la calidad seminal es aceptable, pero en ambos el semen contiene altos títulos de VDVB. El servicio de vacas susceptibles con semen de toros PI, por inseminación o por monta natural, resulta en infección transitoria, caracterizada por bajo porcentaje de preñez y elevado número de servicios por concepción, hasta que el animal haya desarrollado su respuesta inmune al virus. (Obando et al., 2005.)

En los terneros se presenta con fiebre crónica, anorexia, intensa diarrea acuosa, flujo nasal y estomatitis erosiva o ulcerativa. Se produce deshidratación y emaciación y la muerte suele tener lugar a las pocas semanas o meses (Baker, 1995). Luego de la presentación de los signos

clínicos, los animales alternan períodos de lucidez y recuperación con períodos de depresión y anorexia. Patológicamente, se observan lesiones múltiples con escasa inflamación periférica desde la boca hasta el abomaso, en el intestino puede aparecer una alteración del color de los pliegues de la mucosa, dando lugar a una superficie luminal de aspecto listado. El estudio histológico confirma la necrosis epitelial y evidencia una destrucción masiva de tejido linfoide.

El segundo factor, es que se produzca una superinfección del animal PI con un cepa antigénicamente similar (homóloga) (Paton, 1995). Si el virus CP que aparece en un animal PI se difunde a otros animales PI de la explotación, estos desarrollarían también enfermedad de las mucosas si el virus NCP con el que están persistentemente infectados es similar al del animal en que surgió el virus CP. Esto es probable dentro de una misma explotación (Hamers, 1998). La similitud antigénica entre ambos biotipos de virus del mismo animal sugirió que el VDVB CP surgió de NCP por mutación, recombinación o rearreglo genético. Los estudios genéticos han demostrado que las mutaciones y los rearreglos dentro del gene que codifica la proteína 125 no estructural coinciden con la conversión de VDVB NCP a VDVB CP.

La vía oro-nasal es la principal para el contagio de los animales susceptibles (Houe, 1995). De forma indirecta se puede transmitir el virus a través de instrumentos de uso veterinario y de manejo (Jayashi, 2005).

La leche de porongo puede ser utilizada como alternativa al suero sanguíneo debido a dos razones fundamentales. La primera, que existe buena correlación entre las concentraciones de anticuerpos presentes en el suero y la leche con respecto a infecciones por VDVB y otros agentes, al ser la Ig G la principal inmunoglobulina presente en leche y calostro. La segunda, que la obtención de muestras de leche de porongo es una alternativa de muestreo muy ventajosa ya que se hace a menor costo, evita el estrés de manejo, promueve la bioseguridad del hato al restringir el muestreo individual de los animales, etc. El muestreo de leche permite también realizar la vigilancia epidemiológica de la DVB a nivel de hato. (Huamán y col., 2004).

En un estudio se determinó la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y de animales persistentemente infectados (PI) en bovinos productores de leche en la irrigación de Majes, Arequipa. En la primera fase del estudio, se colectaron 204 muestras de leche de tanque (una por hato) en la planta local de procesamiento de leche, para la detección de

anticuerpos contra el VDVB mediante la prueba de ELISA indirecta. En la segunda fase se seleccionaron de modo arbitrario a 57 hatos con anticuerpos contra el VDVB. Se colectaron 286 muestras de suero sanguíneo de estos hatos para conocer el estado serológico de cada animal y la búsqueda de animales PI mediante ELISA indirecta y ELISA de captura, respectivamente. En la tercera fase se obtuvieron muestras de suero de la totalidad de terneras y vaquillas ($n = 20$) de tres hatos que tuvieron animales PI a fin de buscar más animales PI. El $98,0 \pm 1,9\%$ (200/204) de las muestras de leche resultaron positivas a anticuerpos contra el VDVB. De las 286 muestras de suero pertenecientes a los 57 hatos, el 47,2% (135/286) tuvieron anticuerpos contra el VDVB; además, dentro del grupo de animales seronegativos se detectaron cuatro (2,7%) animales PI que pertenecieron a tres de los 57 hatos muestreados. En los animales de riesgo de los tres hatos ($n = 20$), se detectaron otros dos animales PI, sumando un total de seis (4,0%); además, estos seis animales PI no presentaron anticuerpos contra el VDVB. En conclusión, los resultados muestran una amplia distribución del VDVB en la población bovina de los hatos de la irrigación Majes y, por último, la muestra de leche de tanque reemplaza al suero en la detección de anticuerpos contra el VDVB. (Huamán et al., 2004)

En Arequipa en tres hatos lecheros, se encontró una tasa de infección (PI), encontrándose en el primer hato de 200 animales 1 PI, en el segundo hato de 45 animales 1 PI y en un tercer hato con 100 animales 1 PI, haciendo una prevalencia total de 0,9% (Olivera L. Datos no publicados, 2000).

En un establo lechero de crianza intensiva ubicado en la irrigación Santa Rita, provincia de Sihuas, región Arequipa. El problema sanitario prevalente del hato es la presentación de abortos, que supera el 20% anual, por lo que en el año 2002 se decidió hacer un programa de control de VDVB. Con este fin, en enero del año 2002 se muestrearon todos los animales mayores de 6 meses para conocer el estatus serológico de los animales referente al VDVB, mediante la prueba de ELISA indirecta, dándose inicio al programa de control de VDVB en el hato. El estudio determinó que el 98,5% (590/600) de los animales tenían anticuerpos contra el VDVB y de los diez animales seronegativos en la población de animales jóvenes, dos resultaron ser portadores (animales PI), por lo cual fueron beneficiados. Para el estudio se consideró el 100% de animales que iban cumpliendo seis meses de edad a la fecha de cada toma de muestra y que no habían tenido aún ningún servicio. La toma de muestras se realizó en 4 momentos del año: enero 2003, junio 2003,

octubre 2003 y enero 2004. La prevalencia de animales PI en el hato durante el periodo de doce meses fue de 0,98%, lo cual es similar a otros resultados de estudios en el país y en el mundo (Rivera et al., 2002; Morales et al., 2002; Chacón et al., 2001), posiblemente el surgimiento de animales PI en el hato fue propiciado por el sistema de manejo, endemidad de la infección y por la falta de control. La elevada seroprevalencia ($80,83\% \pm 9,03\%$, 59/73) del VDVB en bovinos lecheros del hato en estudio corrobora una amplia infección previa a la eliminación de los animales portadores (PI). Estos resultados son parecidos a los encontrados en otras cuencas lecheras del país, como son la de Junín, Lima, Cajamarca, Cuzco, donde se encontraron prevalencias superiores a 70%. De la misma manera estos resultados concuerdan con resultados encontrados en otros países como Estados Unidos (89%), Croacia (79%) y son superiores a los encontrados en países como España (64%), Suiza (57,6%), Dinamarca (64%), Canadá (57,6%), lo cual indica la amplia distribución a nivel mundial del VDVB. La prevalencia de $80,83\% \pm 9,03\%$ (59/73) obtenida en enero 2003 fue superior a la encontrada en los periodos siguientes posteriores a la eliminación de los animales PI, teniendo prevalencias de $56,25 \pm 14,03\%$ (27/48) en junio 2003, $50,00 \pm 14,15\%$ (24/24) en octubre 2003 y $22,86 \pm 13,91\%$ (8/35) en enero 2004. Estos resultados muestran la probable eficacia del control de la DVB

mediante la eliminación de los animales reservorios del virus sin la necesidad del uso de vacunas. En Arequipa en la irrigación de Santa Rita, la seroprevalencia en hatos no vacunados difiere entre áreas y países, teniéndose un rango de 20 a 90%, estas diferencias podrían explicarse en parte por factores como la densidad de ganado, tamaño del hato y comercio animal (Jayashi y col, 2005).

En Arequipa se mostro una prevalencia de 0,76% de animales PI, entre los meses de julio a diciembre del 2001. Tuvieron como objetivo identificar terneros con infección congénita con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), en dos establos lecheros de crianza intensiva ubicados en las irrigaciones de Santa Rita de Sihüas (Establo A= 36) y Vítor (Establo B= 95) de la cuenca lechera de Arequipa mediante la detección del VDVB en la sangre de los terneros a través de la prueba de ELISA de captura de antígeno. Con esta finalidad se obtuvieron muestras de sangre con anticoagulante de terneros poco después de nacer y antes que tomen el calostro. El 0,76% (1/131) resultó ser un ternero con infección congénita o PI con el VDVB. El ternero PI fue detectado en el establo A indicando que la prevalencia de animales PI en este establo fue de 2,78% (1/36). De los 36 terneros nacidos en el establo A, 17 fueron hembras y el ternero PI perteneció a este grupo significando que la prevalencia de este grupo de

hembras fue de 5,88% (1/17). No se detectó terneros PI en el establo B, pese a haber muestreados mayor número de terneros. Los resultados del presente estudio indican que existen animales PI en algunos establos de crianza intensiva de una irrigación de la cuenca de Arequipa y que estos terneros pueden ser detectados al momento de nacer. Existen factores como la falta de control de la DVB, mal manejo, frecuente introducción al hato de animales infectados, presencia de otras infecciones como la neosporosis, etc., que estaría favoreciendo la endemidad del virus en este establo. (Morales, 2002).

En Arequipa se realizó la prueba de neutralización viral a todos los animales y la prueba por Elisa de captura de antígeno a aquellos animales negativos a la prueba de neutralización, con una prevalencia de animales PI de 2%, los animales PI con el VDVB encontrados en el establo A pertenecen al mismo grupo etario: 12-18 meses de edad. En dos hatos lecheros de crianza intensiva de la cuenca de Lima. Uno de los establos está ubicado en el distrito de Lurín y mantiene un programa de vacunación contra la DVB (establo A=105). En el segundo establo se ubica en Puente Piedra y no tiene historia de vacunación (establo B=103). De los animales sin anticuerpos contra el VDVB del establo A(n=34), el $11,76 \pm 10,82(4/34)$ resultaron ser animales PI con el VDVB. No se

realizaron las pruebas de Elisa de captura de antígeno ni aislamiento viral a los animales del establo B, pues los datos de neutralización viral sugieren que este establo no fue infectado por el VDVB. Ambos establos presentan índices de abortos, repetición de celo y mortalidad de terneros mayores al promedio de la cuenca (Chacón, 2001).

El SENASA Tacna en coordinación con el Gobierno Regional de Tacna (Mayo-2008). Realizó el primer curso de transferencia embrionaria en bovinos de la Región de Tacna, para lo cual se realizó un muestreo sanguíneo para descarte de enfermedades como IBR, neospora, leucosis y PI con la DVB, en 35 vaquillas del distrito de Inclán. Obteniendo el siguiente resultado: 12 vaquillas positivas a neospora lo que constituye un 34,3%, además 2 vaquillas positivas a leucosis con un 5,7%, igualmente resultaron positivas 2 vaquillas para PI con la DVB con 5,7% y por último no se obtuvo ningún animal positivo para IBR. Cabe resaltar que el muestreo se realizó al azar en todo el distrito de Inclán, incluyendo las zonas de Proter y Coruca. Razón por el cual se justifica el trabajo, por la existencia de animales PI de acuerdo con los resultados reportados (Sanidad animal, SENASA- Tacna, 2008).

Con los datos que obtengamos, nos permitirá saber qué porcentaje de la población del ganado bovino del distrito de Inclán son PI con el VDVB, para así tomar medidas de control y posible erradicación pertinentes, dependiendo de la situación epidemiológica regional; básicamente consisten en la identificación y eliminación de bovinos PI, principal fuente de infección y reservorio del virus. La realización de este trabajo de investigación es viable ya que se cuenta con el apoyo de las asociaciones ganaderas del distrito de Inclán y con la plena disposición del investigador.

III. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 MATERIALES

3.1.1 Localización de la investigación

El investigación se realizó en el distrito Inclán, valle de Sama pertenecientes a la provincia y departamento de Tacna, cuya región natural es la costa de clima húmedo con variaciones de temperaturas durante los meses de toma de muestra siendo temperatura máxima media 24,9° C y una temperatura mínima media de 12,8°C, siendo la temperatura media anual de 19,5°C. La precipitación acumulada anual está por 13 mm, con una humedad relativa durante los meses de toma de muestra de 78%. (SENAMHI, Dirección Regional de Tacna – Moquegua (ver Anexo 1).

Ubicación geográfica

Altitud : 534 m.s.n.m

Latitud sur : 17°47'1,2"

Longitud oeste : 70°29'16,5"

3.1.2 Material de campo

- Caja conservadora de temperatura (Cooler)
- Conservador de muestras (gel refrigerante)
- Gradillas para acomodar los tubos al vacío
- Tubos al vacío (vacutainer) de 10 ml. sin anticoagulante
- Agujas vacutainer descartables de 20Gx1”
- Holder (sujetador de tubos al vacío)
- Viales criogénicos con tapa de 3.5 ml.
- Marcadores indelebles y lapiceros
- Desinfectante (alcohol medicinal)
- Algodón hidrófilo
- Esparadrapo
- Soporte para las fichas de muestreo
- Fichas de encuesta
- Cuaderno de apuntes
- Mameluco
- Botas de jebe
- Soga
- Mocheta

3.1.3 Materiales de laboratorio:

- Pipetas de precisión monocanal o multicanal para dispensar de 10 μ l a 1000 μ l
- Puntas de pipeta desechables
- Cilindro graduado de 500 ml para la solución de lavado
- Lector de microplacas
- Agua destilada o desionizada
- Dispositivo para aplicación y aspiración de solución de lavado
- Trampa de retención de aspirado y desinfectante
- Cámara húmeda o sellador de placas
- Agitador Vórtex
- Papel toalla.
- Reloj para control de tiempo.

Reactivos:

	Volumen	Volumen
1. Placas de microtitulación, tapizadas con anticuerpos monoclonales E ^{ms}	2 placas	5 placas
2. Control positivo	1 ml	2 ml
3. Control negativo	1 ml	2 ml
4. Conjugado peroxidasa de rábano picante (HRPO)	25 ml	60 ml
5. Anticuerpo de detección.	15 ml	30 ml
A. Solución de Lavado (10x)	125 ml	480 ml
B. Solución de Substrato TMB, solución de TMB/H ₂ O ₂	30 ml	60 ml
C. Solución de Frenado- 1M HCl (Atención! es un ácido fuerte)	30 ml	60 ml

Advertencia: Almacenar el kit y todos los reactivos a 2° - 8°C. Manual de Laboratorio IDEXX (ver Anexo 03)

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Tipo de investigación

El tipo de investigación fue descriptiva - transversal. (Rojas, 2006).

3.2.2 Población de estudio:

Unidades de estudio:

Se evaluó todo el ganado bovino que comprende de 4 a 24 meses de edad y de ambos sexos. Este ganado pertenece al distrito de Inclán, siendo conformados por 1129 bovinos distribuidos en 224 hatos (ver Anexo 4).

TABLA 1: DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES DE ESTUDIO Y DE HATOS SEGÚN SECTORES.

SECTORES	Nº DE HATOS	Nº DE BOVINOS (de 4 a 24 meses)
INCLÁN	159	811
PROTER	36	116
CORUCA	29	202
TOTAL	224	1129

Fuente: Posta Veterinaria del Distrito de Inclán, enero 2009.

Unidades de análisis:

Fueron las muestras de sangre de las cuales se utilizaron la fracción sérica, ya que la prueba de Elisa de captura es específica en suero a partir de los 4 meses de edad para la detección de antígenos (Valencia, 2006).

3.2.3 Variables**• Variables independientes:**

- Edad
- Sexo
- Factores asociados; procedencia, curso de gestación, fetos momificados, destino de la placenta, movimiento de los animales, ciclo estral y descarte en laboratorio de diarrea viral bovina.

• Variables dependientes:

- Seroprevalencia de bovinos persistentemente infectados.

3.2.4 Método y técnica de recolección de datos

La prueba ELISA de captura, arroja datos **seropositivos** y como **seronegativos**. Estos datos fueron ordenadamente registrados para su análisis.

3.2.4.1 Trabajo de campo

- Se preparó con anticipación el material requerido para el muestreo teniendo en cuenta el número de predios a visitar y el número de animales a muestrear por día.
- En el campo, se realizó la entrevista al propietario, se le preguntó si realizó vacunación contra DVB, en caso de no estar vacunados sus animales recién se procederá a la toma de muestra sanguínea.
- Contando con el apoyo del propietario se tomó muestra de sanguínea de todos los animales del hato comprendidos entre las edades de 4 a 24 meses y de ambos sexos, luego se registraron los datos correspondientes en la ficha de encuesta, se utilizará una ficha por hato (ver Anexo 2).
- La cantidad de muestras recolectadas fueron 1129, considerando una muestra por animal.

- En la recolección de la muestra se tomó la cantidad de sangre no menor a 7 ml, por la vena coccígea del animal, con el sistema de tubos al vacío sin anticoagulante y agujas de 20Gx1" para cada animal, los cuales se codificaron y se registraron en la ficha de encuesta.
- Después de la sangría los tubos se mantuvieron en posición inclinada y colocándolos en gradillas hasta la formación del coágulo (4 a 5 minutos) acomodados en termos apropiados con hielo hasta su llegada a la Unidad de Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal (SENASA – Tacna), donde se procedió a la separación del suero sanguíneo mediante el uso de pipeta y depositándolos en viales especiales (viales criogénicos) para su conservación a (-20 °C) dentro de las 24 horas.
- El suero obtenido fue de 3,5 ml o con un mínimo 50% de la capacidad del vial perfectamente estéril.
- Luego se almacenó y embolsó adecuadamente en una caja de tecnopor con geles refrigerantes para su conservación a temperatura de congelación y la remisión a la Unidad de Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal, SENASA- Lima, 1915 La Molina.

3.2.4.2 Trabajo de laboratorio

Para la detección de antígenos del VDVB se utilizó un kit para la detección de antígenos del virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVDV)/ Suero Plus. HerdChek BVDV Ag/ Suero Plus (IDEXX, USA), siguiendo las instrucciones descritas por el fabricante (ver Anexo 3).

3.3 EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

3.3.1 Determinación de la seroprevalencia (P): Se aplicó la siguiente fórmula.

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ de muestras seropositivas}}{N^{\circ} \text{ total de muestras}} \times 100$$

Los resultados de la seroprevalencia son presentados en tablas de contingencia y para la comparación de seroprevalencia, según; sexo, edad y factores asociados, se realizó la prueba de chi- cuadrado de homogeneidad con un nivel de significancia del 5%. El procedimiento de la información se realizó en el Software estadístico SPSS (Statistical Product and Service Solutions) versión 18.

IV. RESULTADOS

SEROPREVALENCIA GENERAL

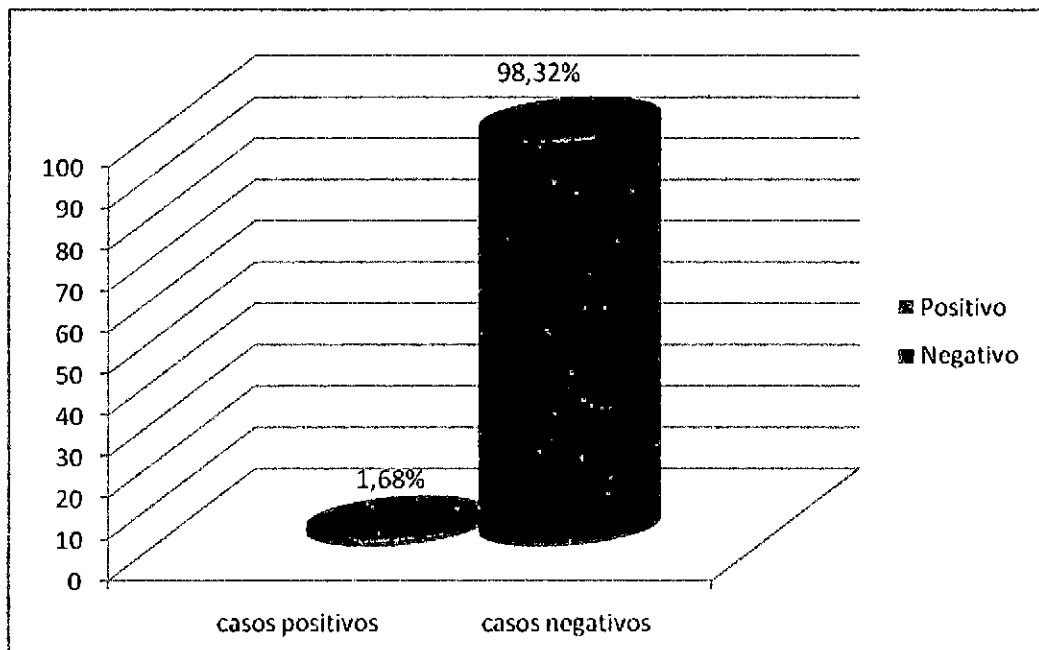
CUADRO 1: SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA.

N° DE MUESTRAS	POSITIVO		NEGATIVO	
	N°	%	N°	%
1129	19	1,68	1110	98,32

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 1 se observamos los resultados de un total de 1 129 muestras serológicas de bovinos, 19 animales positivos con una seroprevalencia 1,68% y 1110 animales fueron negativos representando el 98,32%.

GRÁFICO 1: SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 1 se observa los resultados en el presente estudio de investigación, encontrándose 19 casos positivos de animales persistentemente infectados a diarrea viral bovina en el distrito de Inclán con 1,68% y 1110 casos negativos con un 98,32%.

SEROPREVALENCIA SEGÚN EDAD

CUADRO 2: SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN EDAD.

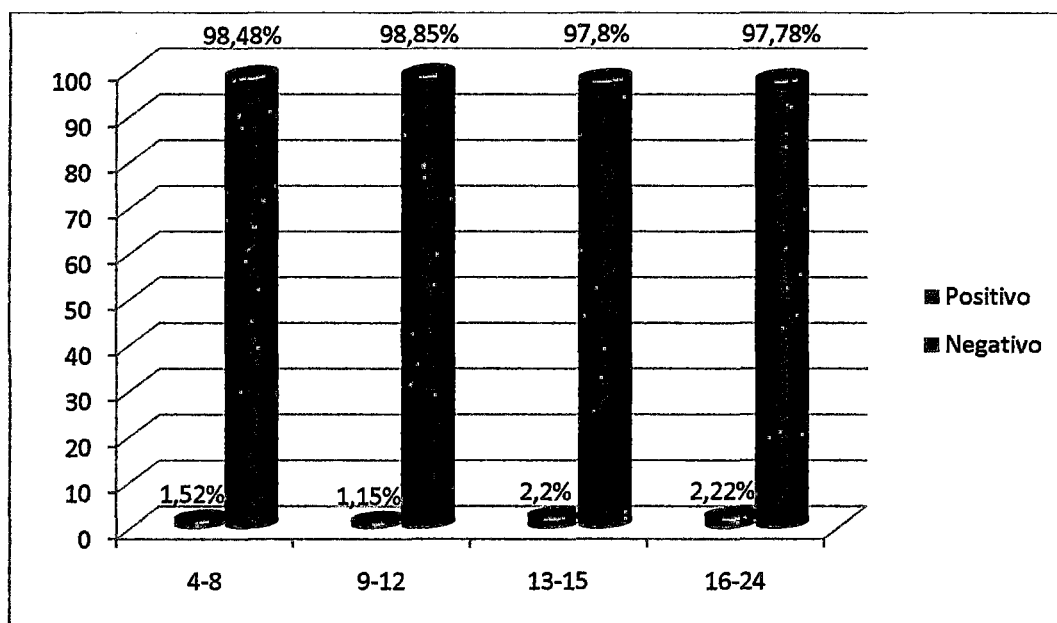
EDAD DEL BOVINO (meses)	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
4-8	7	1,52	455	98,48	462
9-12	3	1,15	258	98,85	261
13-15	2	2,20	89	97,80	91
16 - 24	7	2,22	308	97,78	315
TOTAL	19	1,68	1110	98,32	1129

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 1,23 \quad \text{g.l.} = 3 \quad p = 0,747 \quad (p \geq 0,05)$$

En el cuadro 2 observamos un total de 1129 bovinos muestreados, según edad, resultando entre las edades de 16 a 24 meses de un total de 315 bovinos, 7 fueron positivos con 2,22% de seroprevalencia y entre las edades de 9-12 de un total de 216, 3 fueron positivos con 1,15%, valores sometidos a la prueba estadística de chi – cuadrado se determinó que existen grupos homogéneos entre las edades de 4 a 24 meses.

GRÁFICO 2: SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN EDAD.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 2 se observa el mayor porcentaje de casos positivos entre las edades de 16 a 24 meses con una prevalencia de 2,22% (7 positivos) y menor porcentaje entre las edades de 9 a 12 meses con 1,15% (3 positivos).

SEROPREVALENCIA SEGÚN SEXO

CUADRO 3: SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN SEXO.

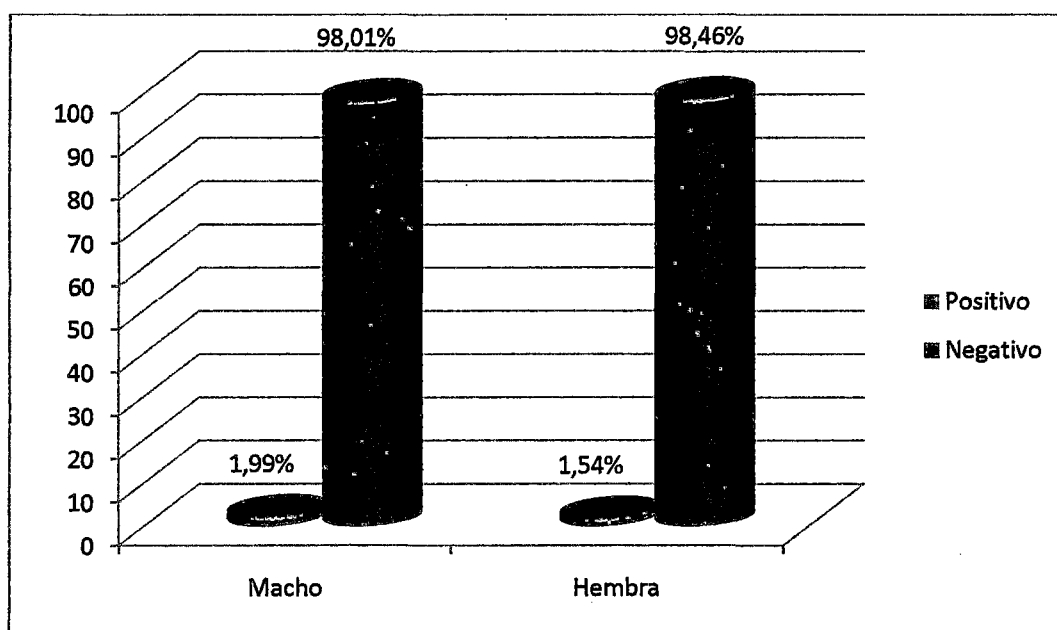
SEXO DEL BOVINO	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Macho	7	1,99	344	98,01	351
Hembra	12	1,54	766	98,46	778
TOTAL	19	1,68	1110	98,32	1129

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 0,299 \quad \text{g.l.} = 1 \quad p = 0,585 \quad (p \geq 0,05)$$

En el cuadro 3 se observa un total de 1 129 bovinos, según sexo. En machos de un total de 351, 7 fueron positivos con 1,99% de seroprevalencia y en hembras de un total de 778 bovinos, 12 fueron positivos con 1,54% de seroprevalencia, valores sometidos a la prueba estadística de chi – cuadrado notamos que existen grupos homogéneos entre machos y hembras.

GRÁFICO 3: SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN SEXO.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 3 se observa los casos positivos según sexo, encontrándose en machos con 1,99% (7 positivos) y en hembras con 1,54% (12 positivos) de seroprevalencia.

FACTORES ASOCIADOS

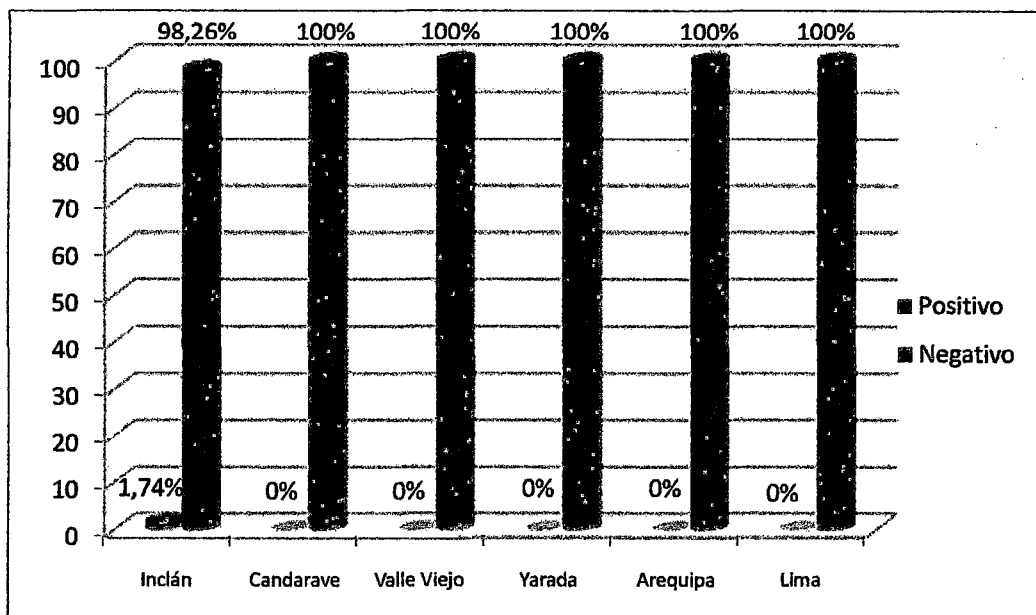
CUADRO 4: A) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN PROCEDENCIA.

PROCEDENCIA	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Inclán	19	1,74	1073	98,26	1092
Candarave	0	0,00	1	100,00	1
Valle viejo	0	0,00	1	100,00	1
Yarada	0	0,00	7	100,00	7
Arequipa	0	0,00	17	100,00	17
Lima	0	0,00	11	100,00	11
TOTAL	19	1,68	1110	98,32	1129

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 4 se observa el total de 1 129 bovinos muestreados procedentes de; Inclán, Candarave, Valle viejo, Yarada, Arequipa y Lima. En Inclán de un total de 1 092 bovinos, 19 fueron positivos con 1,74% de seroprevalencia y no se halló ningún positivo en las demás procedencias.

GRÁFICO 4: A) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN PROCEDENCIA.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 4 observamos los casos positivos según procedencia, resultando el distrito de Inclán con una seroprevalencia de 1,74% (19 positivos).

CUADRO 5: B) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CURSO DE GESTACIÓN.

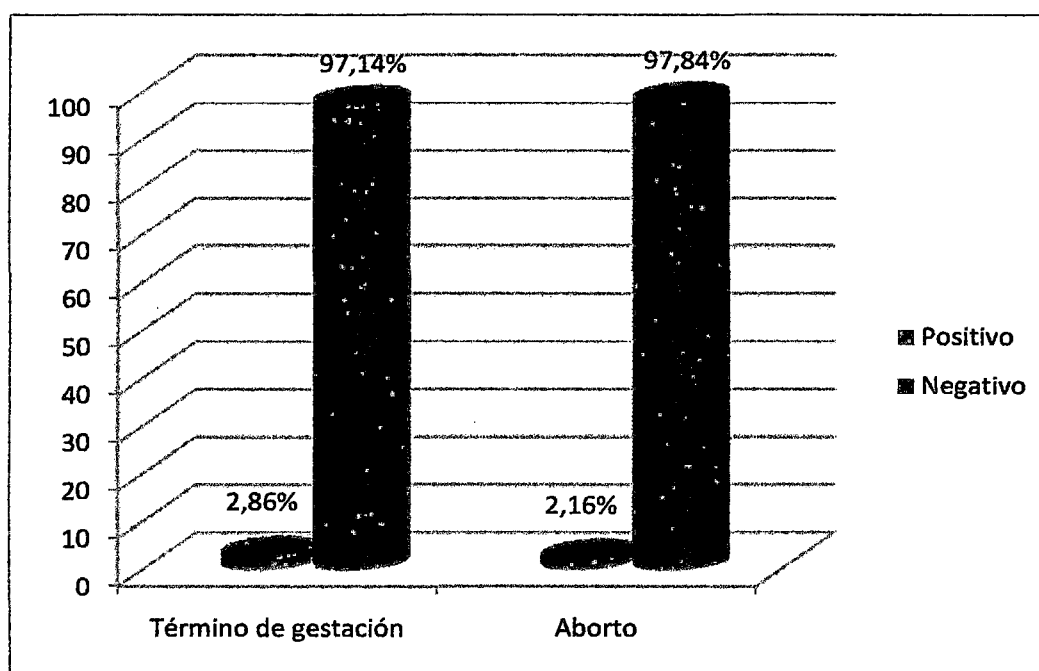
CURSO DE GESTACIÓN (16 – 24 meses)	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Término de gestación	2	2,86	68	97,14	70
Abortos	4	2,16	181	97,84	185
TOTAL	6	2,35	249	97,65	255

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 0,107 \quad g.l= 1 \quad p= 0,744 \quad (p \geq 0,05)$$

En el cuadro 5 se observa un total de 255 bovinos hembras entre las edades de 16-24 meses, según curso de gestación. Aquellos con término de gestación de un total de 70 bovinos, 2 fueron positivos con 2,86% de seroprevalencia y de los que abortaron de un total de 185, 4 fueron positivos con 2,16%. Según la prueba estadística de chi – cuadrado se determinó que existen grupos homogéneos en el curso de gestación y no es un factor influyente en el diagnóstico de laboratorio.

GRÁFICO 5: B) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES persistentemente infectados A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CURSO DE GESTACIÓN.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 5 observamos los casos positivos según curso de gestación, siendo 2,16% (4 positivos) de seroprevalencia con presencia de abortos y 2,86% (2 positivos) con término de gestación.

CUADRO 6: C) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN FETOS MOMIFICADOS.

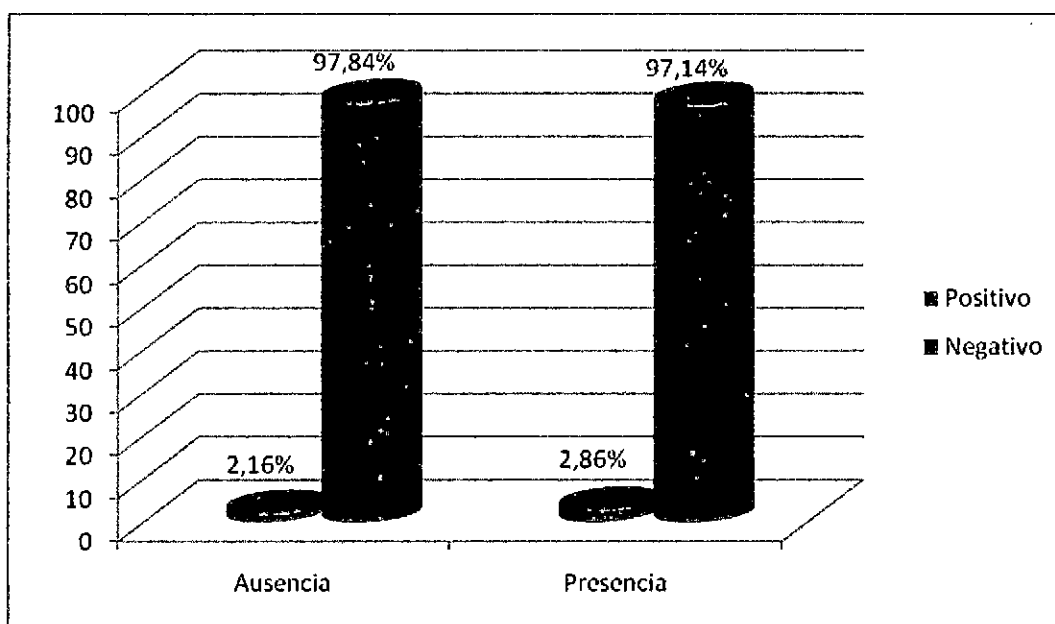
FETOS MOMIFICADOS (16 – 24 meses)	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Ausencia	4	2,16	181	97,84	185
Presencia	2	2,86	68	97,14	70
TOTAL	6	2,35	249	97,65	255

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 0,107 \quad \text{g.l.} = 1 \quad p = 0,744 \quad (p \geq 0,05)$$

En el cuadro 6 se observa el total de 255 bovinos de 16-24 meses de edad, según fetos momificados, con ausencia de un total de 185 bovinos, 4 fueron positivos con 2,16 % de seroprevalencia y con presencia de 70 bovinos, 2 fueron positivos con 2,86%. Según la prueba estadística de chi – cuadrado existen grupos homogéneos según la ausencia ó la presencia de fetos momificados no es un factor influyente en el diagnóstico de laboratorio.

GRÁFICO 6: C) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN FETOS MOMIFICADOS.



Fuente: Elaboración propia

El gráfico 6 muestra los casos positivos según fetos momificados, encontrándose ausencia con 2,16% (4 positivos) y presencia con 2,86% (2 positivos).

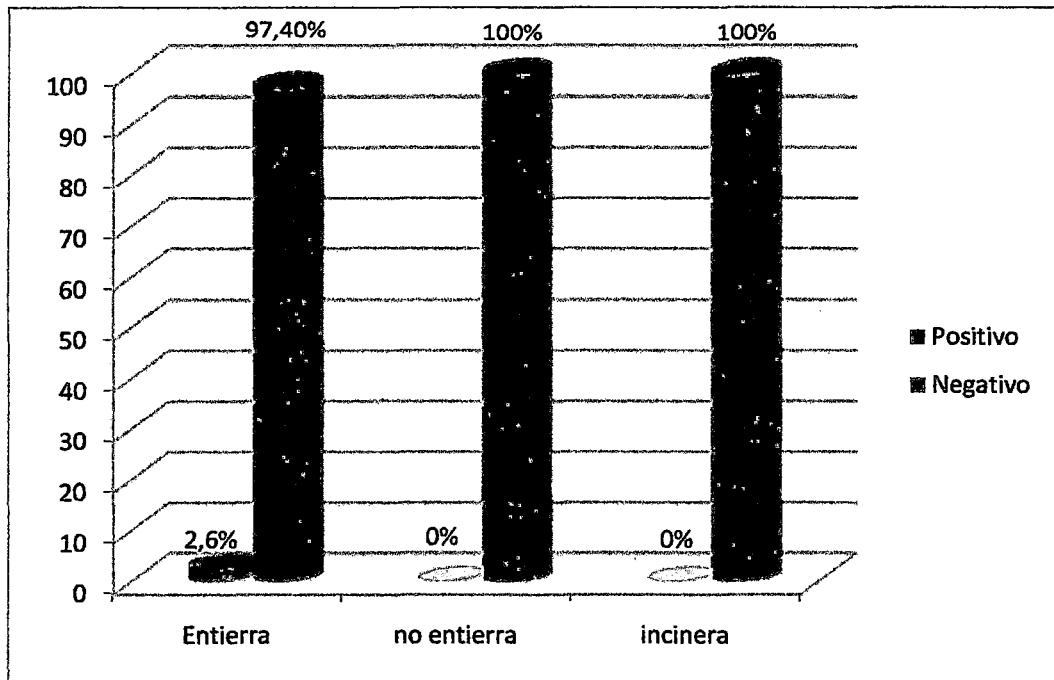
CUADRO 7: D) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESTINO DE LA PLACENTA.

DESTINO DE LA PLACENTA (16 – 24 meses)	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Entierra	6	2,6	221	97,40	227
No entierra	0	0,00	16	100,00	16
Incinerar	0	0,00	12	100,00	12
TOTAL	6	2,35	249	97,65	255

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 7 se observa el total de 255 bovinos entre las edades de 16-24 meses, según destino de la placenta, aquellos que han sido enterrados de un total de 227 bovinos 6 fueron positivos con 2,6% de seroprevalencia y no se halló ningún positivo en los demás destinos.

GRÁFICO 7: D) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESTINO DE LA PLACENTA.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 7 observamos los casos según destino de la placenta, siendo el entierro de la placenta con una seroprevalencia de 2,6% (6 positivos).

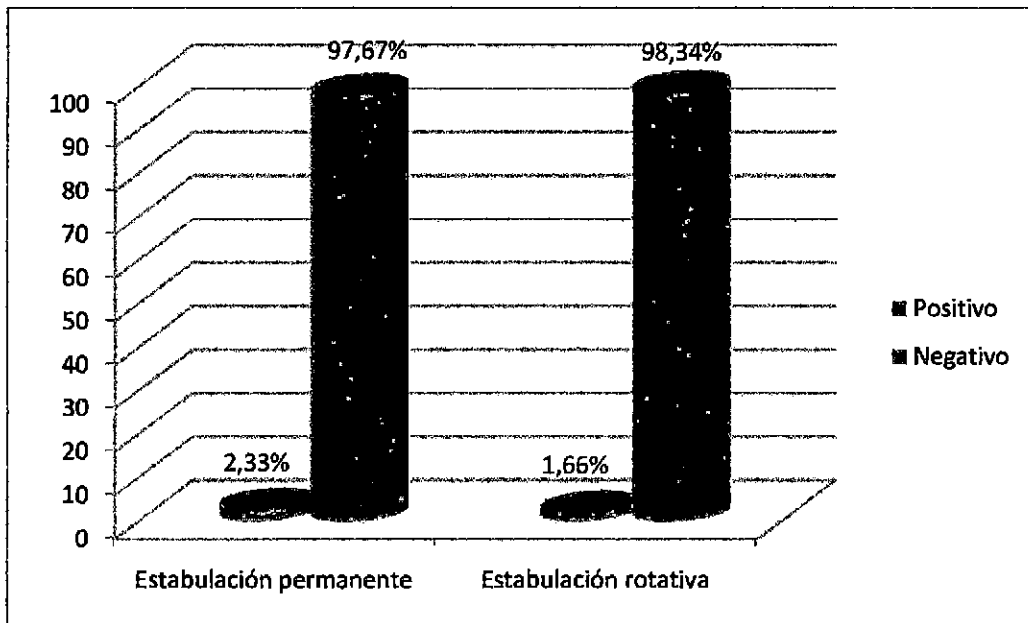
CUADRO 8: E) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN MOVIMIENTO DE LOS ANIMALES.

MOVIMIENTO DE LOS ANIMALES	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Estabulación permanente	1	2,33	42	97,67	43
Estabulación rotativa	18	1,66	1068	98,34	1086
TOTAL	19	1,68	1110	98,32	1129

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 8 observamos un total de 1 129 bovinos muestreados, según movimiento de los animales, en estabulación permanente de un total de 43 bovinos, 1 fue positivo con 2,33% de seroprevalencia y con una estabulación rotativa de un total de 1 086 bovinos, 18 fueron positivos con 1,66%.

GRÁFICO 8: E) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN MOVIMIENTO DE LOS ANIMALES.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 8 observamos los casos positivos según movimiento de los animales, con estabulación permanente una seroprevalencia de 2,33% (1 positivo) y con estabulación rotativa una seroprevalencia de 1,66% (18 positivos).

CUADRO 9: F) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CICLO ESTRAL.

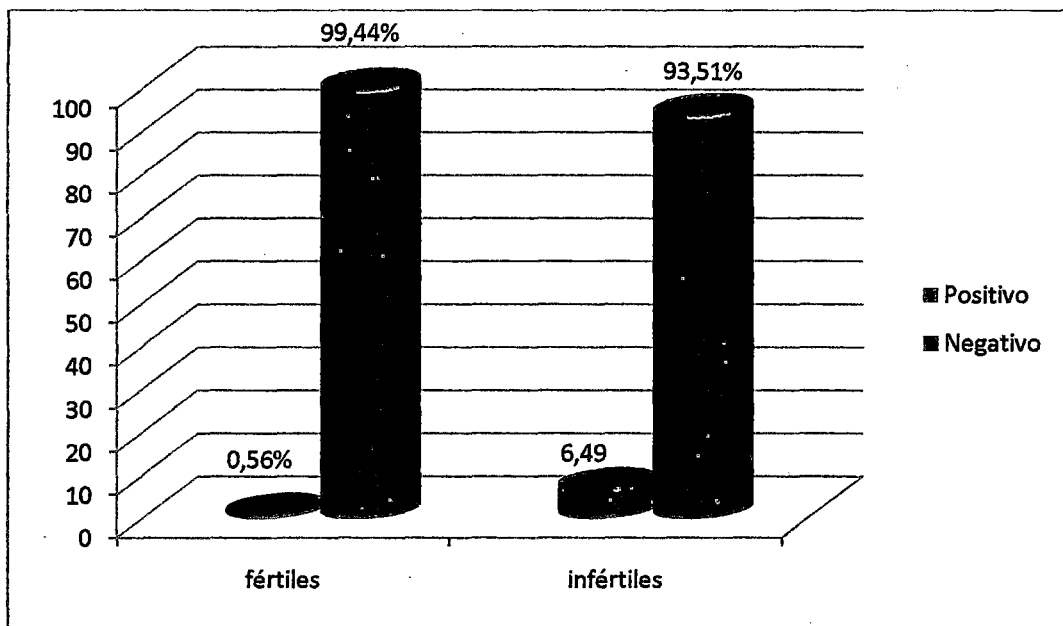
CICLO ESTRAL	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Fértiles	1	0,56	177	99,44	178
Infértiles	5	6,49	72	93,51	77
TOTAL	6	2,35	249	97,65	255

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 8,231 \quad g.l= 1 \quad p= 0,004 (p \leq 0,05)$$

En el cuadro 9 se observa un total de 255 bovinos entre las edades de 16-24 meses, según ciclo estral. En bovinos fértiles de un total de 178, 1 fueron positivos con 0,56% de seroprevalencia y aquellas que son infértiles de un total de 77, 5 fueron positivos con 6,49% de seroprevalencia. Según la prueba estadística de chi – cuadrado no existe homogeneidad entre aquellos que son fértiles e infértiles, por lo tanto el ciclo estral es un factor influyente en el resultado de laboratorio.

GRÁFICO 9: F) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES persistentemente infectados A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN CICLO ESTRAL.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 9 observamos los casos positivos según ciclo estral, con una seroprevalencia de 0,56% (1 positivos) aquellos que son fértiles y 6,49% (5 positivos) los que son infértiles.

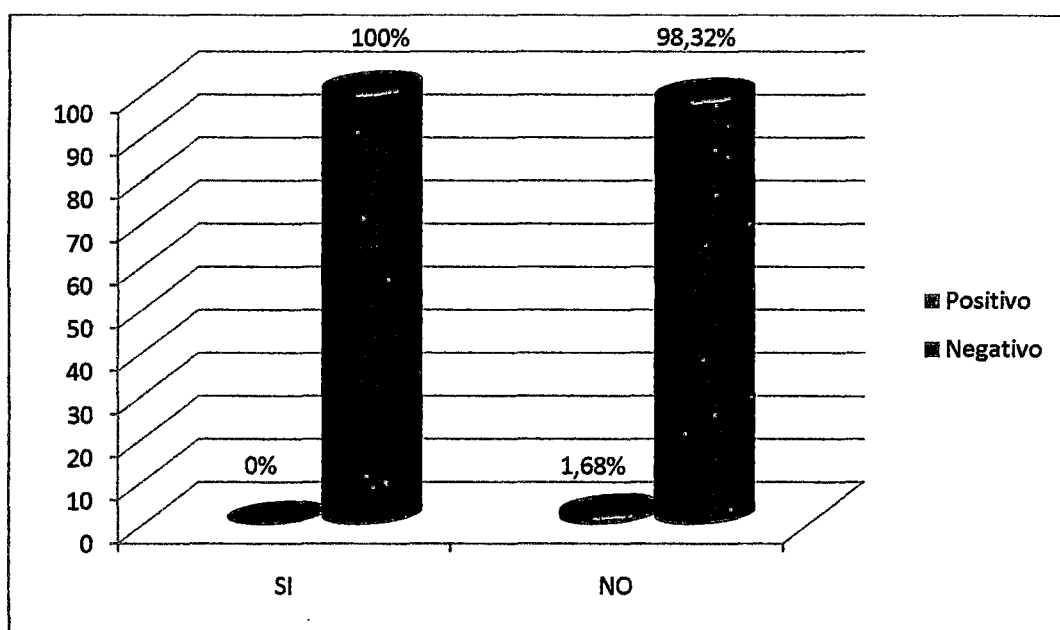
CUADRO 10: G) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESCARTE EN LABORATORIO DE DVB.

DESCARTE DE DVB	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
NO	19	1,68	1 109	98,32	1 128
SI	0	0,00	1	100,00	1
TOTAL	19	1,68	1 110	98,32	1 129

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 10 se observa un total de 1 129 bovinos muestreados, según descarte en laboratorio de DVB, aquellos sin descarte de un total de 1 128, 19 fueron positivos con 1,68% de seroprevalencia y un bovino con descarte no resulto positivo.

GRÁFICO 10: G) SEROPREVALENCIA DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS A DIARREA VIRAL BOVINA SEGÚN DESCARTE EN LABORATORIO DE DVB.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 10 observamos los casos positivos según descartado en laboratorio de DVB, con una seroprevalencia de 1,68% (19 positivos) de bovinos que no tienen descartado.

V. DISCUSIÓN.

Seroprevalencia general

Como resultado del estudio de investigación, se encontró una seroprevalencia general de 1,68% de animales persistentemente infectados con el virus de la Diarrea Viral Bovina.

Así mismo existen similitudes con los resultados encontrados en otros países como en Dinamarca Houe, H., Meyling, A.1991 con una prevalencia de 1,08%. Igualmente en Argentina Lértora,W.J. 2003 con una prevalencia de 1%. Además en Estados Unidos Houe, H. 1995 encontró una prevalencia de 1,7% de animales persistentemente infectados (PI) y en Inglaterra, Dinamarca, Suecia y Estados Unidos Obando R., 2005, una prevalencia de bovinos PI que varía entre 0,4% y 1,7%.

Por otro lado nuestros resultados son discordantes a los reportados por Chacón en 2001 en el valle de Lima con una prevalencia de 3,8% de animales PI en una crianza intensiva. Así mismo en Tacna el Senasa-2008 reportó una prevalencia de 5,7% (2/35 vaquillas) en el distrito de Inclán de crianza semi-intensiva.

Estas diferencias de resultados reportados se pueden atribuir a que en el presente estudio de investigación se ha trabajado con el 100% de la población de ganado en ambos sexos por lo cual los resultados encontrados en el presente estudio son reales.

Nuestros resultados obtenidos tienen similitud a los reportados por Olivera L. 2000, en Arequipa con una prevalencia de 0,9%. Así mismo a los resultados reportados por Morales. 2002, en Arequipa con una prevalencia de 0,76% en terneras portadores de hatos lecheros de crianza semi- intensiva. Igualmente tiene similitud con los resultados reportados por Jayashi F. y col 2005 en Arequipa con una prevalencia de 0,98% respectivamente.

Estas similitudes probablemente se atribuyen a que en la zona de estudio existe introducción de ganado de otras regiones del país especialmente de la zona de Arequipa, sin ningún control sanitario y de manejo, además en la zona de estudio no se realiza vacunación alguna contra la enfermedad de la DVB.

Seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados a diarrea viral bovina según edad.

Los resultados en el presente estudio de investigación en relación a la edad se encontró una mayor seroprevalencia de casos positivos con un 2,22% entre las edades de 16 a 24 meses.

Nuestros resultados tienen una similitud a los reportados por Chacón V. 2001, en la cuenca de Lima con una crianza intensiva, encontrándose una prevalencia de 2% de animales persistentemente infectados entre las edades de 12-18 meses. Además según Houe, 1999, informa que la diseminación que provocan estos animales puede ser tan grande que en 3 a 4 meses son capaces de infectar al 90% de los animales con los que conviven.

Estas similitudes probablemente se le atribuyen a que estos animales tienen una crianza mixta donde los animales de diferentes edades se encuentran juntos, así mismo no practican la selección, donde las vaquillas de reemplazo portadores sanos con el virus de la DVB continúan su vida reproductiva.

Seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados a diarrea viral bovina según sexo.

En el presente estudio de investigación se observaron los casos positivos, en machos con una seroprevalencia de 1,99% y en hembras con 1,54%.

Estos resultados son menores y discordantes a los reportados por Morales. 2002, en Arequipa, en la irrigación de Santa Rita con una prevalencia de 5,88% (1/17 hembras) de los 36 terneros nacidos en el establo A, 17 fueron hembras y el ternero PI perteneció a este grupo. Así mismo Huamán G.¹ y col; 2005, Arequipa encontró una prevalencia de 4,0% en terneras y vaquillas. Igualmente en Tacna en el distrito de Inclán, Senasa reportó una prevalencia de 5,7% (2/35) vaquillas PI.

Estas diferencias se atribuye al tamaño de muestra y a que pocos ganaderos crían ganado bovino macho para engorde y comercialización, así mismo algunos sólo utilizan la monta natural debido a la desconfianza de la Técnica de inseminación artificial, que algunas veces se ha visto frustrada, posiblemente se debe a que la vaca sea portadora de alguna otra enfermedad.

Seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados a diarrea viral bovina según factores asociados.

En el distrito de Inclán se encontró la seroprevalencia de los casos positivos según factores asociados: ciclo estral (infértiles con 6,49%), destino de la placenta (entierran con 2,6%), fetos momificados (presencia con 2,86%), curso de gestación (con término de gestación 2,86%), procedencia (de Inclán con 1,74%), descarte en laboratorio de DVB (no tienen descarte con 1,68%) y movimiento de los animales (estabulación permanente con 2,33%).

Así mismo Lértora, 2003 en Argentina menciona que el virus de la DVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros factores concurrentes.

Según Obando, 2005. Venezuela. Las infecciones con virus de la DVB dependen de; factores del huésped (el estado inmunitario, condición de preñez, edad del feto, estrés ambiental y si el animal es

inmunocompetente o inmunotolerante al virus de la DVB), del virus (hay diferencias antigénicas y de virulencia entre sus cepas) y condición ambiental.

Nuestros resultados son discordantes con los reportados por Huamán G; y col. 2004 en Arequipa en la irrigación de Majes, donde se encontró una prevalencia de 4,0% de animales P1, y donde la prevalencia está asociada con determinados factores epidemiológicos como la densidad de población de ganado, comercio de animales y las prácticas de pastoreo, algunos ganaderos por falta de espacio reubican sus animales a otras zonas.

Sin embargo se encuentra similitud con los resultados del presente estudio con respecto a la presentación de abortos, según Rivera H. 2001, la tasa de abortos y otras fallas reproductivas se incrementaron, tal vez como consecuencia del ingreso de nuevas cepas de virus con las importaciones de bovinos sin restricciones sanitarias respecto a infecciones virales o la intensificación de la ganadería lechera, donde la tasa de abortos puede ser alrededor del 7%, sugiriendo la existencia de algún factor o factores como el mejoramiento genético a base de la introducción de reproductores sin previo análisis, el libre transporte de

animales, entre otros. Habiéndose determinado el antígeno del VDVB en el 20% de fetos abortados en hatos lecheros del valle de Lima y hasta un 49% en fetos abortados en Arequipa, Junín, La Libertad.

Igualmente Jayashi, 2005. Arequipa en la irrigación de Santa Rita, la seroprevalencia en hatos no vacunados podría explicarse en parte por factores como la densidad de ganado, tamaño del hato y comercio animal.

Según Morales. 2002 en Arequipa, probablemente a la presencia de otras infecciones como la neosporosis.

Estas diferencias de resultados se atribuyen a que son zonas endémicas. También debido a los factores epidemiológicos favorables como el clima, la humedad y la temperatura del distrito de Inclán, además de falta de pruebas de serológicas en los establos.

VI. CONCLUSIONES

Encontrándose el distrito de Inclán con una seroprevalencia general de 1,68%.

1. La seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados a DVB según edad. Se observa mayores casos positivos en la edad de 16- 24 meses con 2,22%.

2. La seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados a DVB según sexo, se observa casos positivos en machos con 1,99%.

3. La seroprevalencia de antígenos del virus de animales persistentemente infectados a DVB según factores, se observa que el ciclo estral es un factor que influye en la seroprevalencia de animales persistentemente infectados.

VII. RECOMENDACIONES

- Control del ingreso de animales provenientes de otros lugares y al entendimiento por parte del gobierno por tomar medidas para el progreso de la ganadería en el Perú.
- Promover la crianza de ganado cerrado con escaso riesgo de contacto con otros animales de otras especies.
- Emplear los procedimientos exitosos para erradicar infecciones por estos virus mediante el uso de una prueba terminante y la política de eliminación de animales persistentemente infectados (PI) con VDVB acompañada de restricciones de circulación de los rebaños. El éxito de estos esfuerzos alentará a otros ganaderos a seguir los mismos procedimientos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Baker, J. 1995. The clinical manifestation of bovine viral diarrhoea infection. In: BVD virus. *Vet Clin North Am Food Anim Practice* 11(3):425–445.
2. Bezek, D.M. 1995. Bovine virus diarrhoea virus infection: Individual and herd diagnosis. *Compendium on Continuing Education* 17(8): 57-64.
3. Bolin, S. 1995. The pathogenesis of mucosal disease. *Vet Clin North Am.* 11:489-500.
4. Braun, U., Schonmann, M., Ehrensperger, F., Hilbe, M., Strasser, M. 1999. Intrauterine infection with bovine virus diarrhoea virus on alpine communal pastures in Switzerland. *Zentralbl Veterinarmed A.* Feb, 46(1):7-13.
5. Brownlie, J; L.B. Hooper; I. Thompson; M.E. Collins. 1998. Maternal recognition of fetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV)- the bovine pestivirus. *Clin Diagn Virol.* 19: 141-150.
6. Brownlie, J. 1991. The pathways for bovine virus diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch Virol* 3:79-96.

7. Chacón Villanueva, Jorge Luis. 2001. Lima. Tesis: Identificación de Animales persistentemente infectados con el virus de la Diarrea Viral Bovina en dos establos lecheros de crianza intensiva en Lima. Pag.49 (28)
8. Corrales, J., Sanjuán, M.; García, C. J. 1999. Epidemiología e importancia económica de la diarrea vírica bovina. En E.Yus y M.L. Sanjuán. Eds. Diarrea vírica bovina. Consejo General de Médicos Veterinarios de España. 24:9-24.
9. Duffel S, Harkness J. 1985. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet Rec* 117: 240-245.
10. Harkness, J., Roeder, P., Drew, T., Wood, L., Jeffrey, M. 1987. The efficacy of an experimental inactivated BVD-MD vaccine. In: pestivirus infections of ruminants. Ed. Brussels. Pp: 233-250.
11. Houe, H., Meyling, A. 1991. Dinamarca Prevalence of Bovine Virus Diarrhea (BVD) in 19 Danish Dairy Herd and Estimation of incidence of Infection in Early Pregnancy. *Prev. Vet. Med* 11: 9-16.
12. Houe, H. 1995. Dinamarca. Epidemiology of Bovine Viral Diarrhea Virus. *Vet. Clin. North Am Food Animal Practice* 11(3): 521-548.

13. Houe, H. 1999. Dinamarca. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64:89-107.
14. Huamán G.¹, Juan C.; Hermelinda Rivera G.^{1,2}; Mariluz Araínga R.¹; César Gavidia Ch.³; Alberto Manchego S.¹. Lima. Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche de la irrigación de Majes, Universidad Mayor de San Marcos *Rev Inv. Vet., Perú* 18: 141-149. E-mail: hriverag2005@yahoo.es
15. Jayashi F¹, Cesar; Gavidia C², Cesar; Araínga R³, Mariluz; Manchego S³, Alberto y Rivera G^{3,4}, Hermelinda. 2005. Arequipa. *Rev. Inv. Vet. Perú.* Dinámica de la seroconversión en Hembras Bovinas Post eliminación de animales portadores el virus de la Diarrea Viral Bovina. 16(1): 56-64.
16. Kobrak A, Wever EL. 1997. Bovine diarrhoea virus: an update. *Rev. Argent. Microbiol.* 29: 47-61.
17. Lértora, W. J. Diarrea Viral Bovina: actualización. Argentina, 2003. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. Sargento Cabral 2139, Corrientes(3400), Argentina. E-mail: patgral@vet.unne.edu.ar. *Rev. Vet.* 14: 1.

18. Lindberg, A.L.E; S. Alenius. 1999. Principles for eradication of bovine virus diarrhoea virus infections in cattle populations. *Vet Microbiol.* 64:197-222.
19. Mars M, Van Maanen C. 2005. Diagnostic assays applied in BVDV control in the Netherlands. *Prev. Vet. Med* 72: 43-48.
20. McGowan, M. R.; P.D. Kirkland. 1995. Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Br Vet J.* 151: 262-269.
21. Meyers, G., Tautz, N. 1992. Insertion of a sequence encoding light chain 3 of microtubuleassociated proteins 1A and 1B in a pestivirus genome: connection with virus cytopathogenicity and induction of lethal disease in cattle. *J Virol* 72: 4139-4148.
22. McClurkin, A., Littledike, E., Cutlip, R., Coria, H., Bolin, S. 1984. Production of cattle immunotolerant to BVD virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine.* 27:162-164.
23. Morales Cauti, Siever Miguel. Lima- Perú. 2002 Detección de terneros con infección congénita con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. Pag. 42.(31,33)

24. Obando R, César A. MV, MSc, Josefa M. Rodríguez, MV, MSc, 2005. Maracay, Venezuela. Diarrea viral bovina Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias – INIA,. cobando@inia.gov.ve
25. Olivera L. 2001. Sanidad del ganado lechero de la cuenca del sur. *Rev. Inv. Vet. Perú* 12(2): 78-86.
26. Paton DJ. 1995. Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112: 215–236.
27. Pritchard G. 2001. Milk antibody testing in cattle. *Farm Anim Pract* 2001: 542-549.
28. Rivera, H. 2001 Causas frecuentes de aborto bovino, *Rev Inv Vet Perú.* 12(2):117-122.
29. Rüfenatch, J., Schaller, P., Audige, L., Knutti, B., Küpfer, U., Peterhans, E. 2001. The effect of infection with bovine viral diarrhea virus on the fertility of swiss diary cattle. *Theriogenology.* 56:199-210.
30. Samaniego, Luis Olivera MV Msc. 2000. Arequipa. Diarrea Viral Bovina. UCDSA Laboratorio de Patología, Senasa Perú.
31. Sanjuán, M., García, C., Corrales, J. 1999. Etiopatogenia de la diarrea vírica bovina: aspectos de interés. En E.Yus y M.L. Sanjuán. Eds. Diarrea vírica bovina. Consejo General de Médicos Veterinarios de España. 24:9-24.

32. Stahl, K., Rivera, H., Vagsholm, I., Moreno- López, J. 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. *Prev. Vet. Med.* 56:193-202.
33. Valencia Morales, Edna Vianey y col. 2006. Santiago-Chile. PANVET; Detecci3n del virus de la diarrea viral bovina por Inmunohistoquímica y Elisa de captura de antígenos en animales persistentemente infectados.
34. Weber, Laura. M, Isabel Craig. Lima. Estudio de las cuasiespecies del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en fetos bovinos infectados a campo. Relaci3n con tropismo y virulencia.
35. Winslow, Frank. 2006. Estados Unidos. IDEXX BVD Newsletter Cual es el verdadero impacto econ3mico del BVDV en la industria ganadera?-al.idexx.com Pag4: 1
36. Zúniga. H, Alfonso, Rivera G., Hermelinda, Arainga R, Mariluz *et al.* Evaluaci3n de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina de un hato en proceso de erradicaci3n de la enfermedad. *Rev. investig. vet. Perú*, ene./jun. 2006, vol.17, no.1, p.44-50. ISSN 1609-9117.
37. El Manual Merck de Veterinaria. Cuarta Edici3n. Barcelona, España 1993. Oceano/ Centrum pag. 2092.
38. SENASA-Tacna, rea de sanidad animal. Tacna 2008.

IX. ANEXOS



PERÚ

Ministerio
de Agricultura



Dirección
Ejecutiva Tacna

"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"
"Año de la Consolidación Económica y Social del Perú"

CONSTANCIA

El que suscribe Médico Veterinario Oscar Pérez Chavez, Jefe del Área de Sanidad Animal de la Dirección Ejecutiva del SENASA TACNA., hace CONSTAR que el Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

ROCIO MARITSA MAMANI GARCÍA

Ha realizado prueba de ELISA de captura de antígenos en 1129 muestras de suero, para el diagnóstico de **animales persistentemente infectados con la Diarrea Viral Bovina**. Las muestras fueron tomadas del Distrito de Inclán del Valle de Sama, Región Tacna 2009.

Estas muestras corresponden a su trabajo de Tesis.

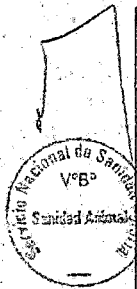
Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para fines académicos.

Tacna, 27 de Julio del 2010.

**PERÚ**Ministerio
de AgriculturaServicio Nacional
de Sanidad Agraria
SENASADirección
Ejecutiva Tacna*"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"*
*"Año de la Consolidación Económica y Social del Perú"***CERTIFICADO DE TOMA DE MUESTRAS**

El que suscribe el presente Jefe del Área de Sanidad Animal de la Dirección Ejecutiva del SENASA-TACNA, certifica que conjuntamente con el Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia Rocio Maritsa Mamani García, realizo la toma de muestras de sangre en bovinos para la obtención de suero sanguíneo para el trabajo de tesis "Determinar la Seroprevalencia antígenos de animales persistentemente infectados con la Diarrea Viral Bovina (DVB) en bovinos del Distrito de Inclán del valle de Sama, Región Tacna 2009", mediante punción en la arteria caudal utilizando tubos al vacío, a los cuales se identifico y fueron conservados en plano inclinado a temperatura ambiente en sombra, dejándolos coagular durante 1-2 horas; luego de lo cual se extrajo el suero, el cual se extravaso en un criovial debidamente identificado. Los sueros así obtenidos fueron conservados en congelación a - 20°C y remitidos en una caja de isotérmica con refrigerantes a la Unidad del Centro de Diagnostico de Sanidad Animal (UCDSA) del SENASA, para su análisis mediante la prueba de Elisa de captura.

Encontrándose un total de 19 bovinos positivos, siendo:



Nº	SECTOR	INFORME DE ENSAYO N°	PROPIETARIO	CANT. BOVINOS	FECHA DE COLECCIÓN	CANT. POSIT.	IDENTIF.	EDAD MESES	SEXO
1	V.Inclán	200902133	Velasquez Catacora, Walter	17	29/04/2009	1	PILAR	7	H
2	V.Inclán	200902228	Poma Huarahuara, Constantino.	14	12/05/2009	1	MOISES	6	M
3	Proter	200902250	Pineda Flores, Rosario.	10	14/05/2009	1	JULIO	9	M
4	V.Inclán	200902247	Vega Fernandez, Julio.	20	14/05/2009	1	HILDA	21	H
5	V.Inclán	200905080	Mamani Ochoa, Elvira.	14	14/05/2009	1	MACHO 6	4	M
6	V.Inclán	200902420	Mamani Miranda, Sabino.	17	12/05/2009	1	NENA	15	H
7	Proter	200902491	Carpio Mamani, Félix.	8	14/05/2009	1	PEPE	18	M
8	Proter	200902480	Capia Soto, Teófila.	27	14/05/2009	2	ELSA LICHA	14 18	H H
9	V.Inclán	200902685	Laura Mamani, Juan.	8	15/05/2009	1	LUNA	4	H
10	Proter	200902728	Mamani Mamani, Elida.	3	12/05/2009	1	CUY	19	H
11	V.Inclán	200902879	Maquera Maquera, Rufina.	20	11/05/2009	1	BEBE	12	H
12	V.Inclán	200902866	Layme Machaca, Juan Carlos.	8	05/05/2009	1	LUCERITO	5	H
13	V.Inclán	200902965	Huanca Ramos, Florencio	8	01/06/2009	2	MARUJA2 S/N 2	18 5	H M
14	V.Inclán	200903564	Mamani Ochoa, Ema.	10	16/06/2009	1	13	6	M
15	V.Inclán	200903309	Lupaca Guevara, Artemio.	16	01/06/2009	1	GLORIA	17	H
16	Coruca	200903405	Mamani Espinoza, Guzman.	16	03/06/2009	1	MARIO	12	M
17	V.Inclán	200903659	Rodriguez Velasquez, Adrián.	4	14/05/2009	1	ANDREA	24	H
TOTAL						19			

Se expide el presente para los fines del interesado y que crea por conveniente, siendo el 27 de Julio del 2010.

ANEXO 2

FICHA DE ENCUESTA Y TOMA DE MUESTRA

Propietario:
Localidad:
Fecha de muestreo:
Explotación: ()intensivo ()extensivo ()mixta
Tecnificación: ()si ()no
Propósito: ()leche ()carne ()mixta
Total de animales: ()bovinos
Total de muestras:

Calendario sanitario

Esp.	Animales vacunados	Prevención enfermedad	fecha	Lote	Nº. certif.

DESCRIPCIÓN

nº	Identificación (arete)	Raza	Edad	Sexo	Origen	Foráneo	Observaciones

Manejo y conocimiento de la enfermedad.

1. ¿Ha oído hablar de la diarrea viral bovina? ()si ()no
2. ¿Cuáles son los problemas que ocasiona principalmente? Grado de conocimiento:
()bueno ()regular ()ninguno
3. ¿Saben como prevenir y controlar la enfermedad?
()bueno ()regular ()ninguno
4. Tipo de manejo
 - a) Compra de animales de reposición: ()si ()no
 - b) Ha comprado animales para su hato: ()hace un año ()hace meses
()hace semanas ()hace muy poco
 - c) Cuando los compra, previamente hace una prueba de descarte a DVB: ()si ()no
 - d) Sus bovinos comparten bebederos y pastizales comunes: ()si ()no
 - e) Si el semen que utiliza para I.A. saben si son de toros negativos a DVB: ()si ()no
 - f) Se utiliza una aguja por animal para tratamientos y vacunaciones: ()si ()no
 - g) limpia y desinfecta sus bebederos y comederos frecuentemente: ()si ()no
 - h) Vacuna a sus bovinos contra la DVB: ()si ()no
 - i) Tiene problemas reproductivos (abortos): ()si ()no
 - j) Tiene problemas respiratorios: ()si ()no

.....
Firma del propietario.

ANEXO 3

(Procedimiento del kit de ELISA para captura de antígenos)

Kit para la detección de antígenos del virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVDV)/Suero Plus HerdChek® BVDV Ag/Suero Plus

Nombre y uso previsto

HerdChek BVDV Ag/Suero Plus es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de antígenos del virus de la diarrea vírica bovina (BVDV) a partir de muestras de suero, de plasma, o de sangre entera o de tejido de muesca de oreja.

Información general

El Virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVDV), el Virus de la Enfermedad de la Frontera (Border Disease, BDV) y el Virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV) pertenecen al género Pestivirus, de la familia Flaviviridae. El BVDV es uno de los virus más patógenos de la especie bovina y causa pérdidas considerables en la ganadería de vacuno de leche y carne en todo el mundo. Los síntomas típicos de la infección por BVDV son diarrea, fiebre, seguida de un descenso en la producción lechera. Su efecto de inmunosupresión puede potenciar infecciones por otros microorganismos. El virus puede atravesar la barrera placentaria en vacas gestantes infectadas, comportando pérdidas reproductivas: abortos, terneros nacidos muertos o de muerte precoz. Algunos de los terneros que sobreviven son inmunotolerantes y excretan grandes cantidades de virus infecciosos durante el resto de su vida. Es importante identificar las crías "portadoras" para interrumpir el ciclo de infecciones en los rebaños. Estos animales portadores suelen morir de la Enfermedad de las Mucosas durante los primeros dos años de vida. Debido a la infección en el útero, el virus BVDV es un contaminante frecuente de productos biológicos, tales como vacunas y medicamentos. El virus de la Border Disease o Enfermedad de la Frontera (BDV) produce una enfermedad similar en las ovejas, mientras que el de la peste porcina clásica (CSFV) provoca serias pérdidas económicas por su alta patogenicidad y por causar tasas de mortalidad muy altas. Este kit sólo es para diagnóstico veterinario in vitro.

Descripción/Principios

HerdChek BVDV Ag/Suero Plus es un inmunoensayo enzimático diseñado para detectar antígenos (Ag) en suero, plasma, sangre entera y tejido de muesca de oreja. Se ha configurado un formato de placas de microtitulación (apiladas) con anticuerpos monoclonales específicos de BVDV (E⁺). El antígeno del BVDV de la muestra es capturado en las placas. Tras incubación de la muestra en el pocillo, el antígeno es detectado por anti-cuerpos específicos y conjugado de peroxidasa de rábano picante. Después se lava el conjugado sin enlazar para eliminarlo y se añade una solución de sustrato/cromógeno. En presencia del enzima, el sustrato se convierte en un producto que funciona con el cromógeno, generando una coloración azul. 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 [A(450)] o doble de 450 nm y 650 nm [A(450/650)]. El valor de la densidad óptica (DO) corregida de las muestras se calcula usando la absorbancia [A(450)] o [A(450/650)] obtenida con la muestra del ensayo y corregida con la absorbancia del control negativo.

Reactivos

Conserve todos los reactivos entre 2° y 8°C

	Volumen	Volumen
1. Placas/tiras de microtitulación (apiladas) con anticuerpos monoclonales E ⁺	2 placas	5 placas
2. Control positivo	1 ml	2 ml
3. Control negativo	1 ml	2 ml
4. Conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRPO)	25 ml	60 ml
5. Solución tamponada (buffer) para sumergir la muesca de oreja (10x)	10 ml	10 ml
6. Anticuerpos de detección	15 ml	30 ml
A. Solución de lavado concentrada (10x)	125 ml	480 ml
B. Solución de sustrato TMB, solución de TMB/H ₂ O	30 ml	60 ml
C. Solución de frenado = 1 M HCl (ATENCIÓN! Es un ácido fuerte)	30 ml	60 ml

Materiales necesarios pero no suministrados

- Pipetas de precisión monocanal o multicanal apropiadas para distribuir de 10 a 1000 µl
- Puntas de pipeta desechables
- Cilindro graduado de 500 ml para la solución de lavado
- Lector de microplacas
- Agua destilada o desionizada
- Dispositivo para la aplicación y aspiración de solución de lavado
- Trampa de retención de aspirado y desinfectante
- Cámara húmeda o selladores de placas
- Agitador vórtex
- Tubos para sumergir las moscas de oreja

Precauciones a tomar y advertencias a los usuarios

- Maneje todo el material biológico como material potencialmente infectado.
- No use la boca para pipetear.
- No coma, beba ni fume en los lugares donde se esté trabajando con las muestras o los reactivos del kit.
- La solución del sustrato irrita los ojos, las vías respiratorias y la piel. Evite el contacto con la piel y los ojos.
- La solución de frenado contiene HCl 1 M y puede producir quemaduras.
- No exponga la solución TMB a una luz intensa ni a agentes oxidantes. Maneje dicha solución con material limpio de plástico o vidrio.
- Almacene todos los reactivos entre 2° y 8°C. Deje que adquieran la temperatura ambiente (de 18° y 25°C) antes de utilizarlos, y refrigérelos de nuevo a entre 2° y 8°C después del uso.
- Todo el material usado deberá descontaminarse adecuadamente antes de su eliminación.
- Manipule con cuidado los componentes del kit para evitar contaminaciones.
- No use componentes que hayan caducado y no mezcle componentes de diferentes lotes.
- Obtendrá resultados óptimos si sigue escrupulosamente este protocolo. Para mantener la precisión y reproducibilidad es necesario un pipeteo correcto, respetar los tiempos de incubación y un lavado adecuado.
- Los dos controles deben usarse para cada serie de ensayos.
- Utilice sólo agua desionizada o destilada para la preparación de los reactivos que se empleen en el ensayo.
- Los pocillos que no se usen deberán almacenarse bien cerrados dentro de su bolsa de plástico entre 2° y 8°C.
- Sólo para uso veterinario.

Preparación de los reactivos

Solución de lavado

La solución de lavado concentrada (10x) debe dejarse que adquiera la temperatura ambiente y agitarse para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. Esta solución deberá diluirse 1/10 con agua destilada/desionizada antes de emplearla (por ej., 30 ml de concentrado más 270 ml de agua por placa a analizar). Preparándose en condiciones estériles, la solución de lavado puede almacenarse durante una semana entre 2° y 8°C.

Solución tamponada (buffer) para sumergir la mosca de oreja

La solución tamponada (buffer) para sumergir la mosca de oreja a concentración 10x debe de agitarse y debe de alcanzar temperatura ambiente antes de ser utilizada. La solución tamponada (buffer) para sumergir la mosca de oreja debe de diluirse a una proporción 1:10 con agua destilada/desionizada antes de usarse (por ejemplo 1,5 ml de concentrado más 13,5 ml de agua para analizar 92 muestras). La solución tamponada (buffer) para sumergir la muestra puede almacenarse refrigerada durante dos semanas.

Preparación de las muestras

Pueden analizarse muestras frescas o congeladas de suero, plasma, sangre entera o muestra de oreja.

Muestras de muestra de oreja:

- Utilice recipientes para la muestra de la oreja (muestras) de unos 2-3 mm de diámetro (por ejemplo tome la muestra cuando se apliquen en la oreja los cortales, provistos de un dispositivo para la toma de muestra).
- Transfiera la muestra de la oreja del dispositivo a un tubo de dilución. Son preferibles los tubos de dilución de pequeño tamaño, hasta unos 500 µl, con forma cónica.
NOTA: sólo pueden utilizarse muestras de muestra de oreja frescas, muestras que hayan sido correctamente conservadas mediante desecación, o muestras congeladas. No deben de usarse tejidos macerados para la prueba.
- Añada 150 µl de 1x Solución tamponada (buffer) para sumergir la muestra de oreja. Asegúrese de que toda la muestra quede cubierta por la solución (sacudir con cuidado o agitar).
- Cierre el tubo y deje las muestras sumergidas durante la noche a una temperatura de 2°-8°C.
- Mezcle la solución con una pipeta antes de aspirar los 50 µl de la solución necesaria para la prueba.

NOTA: la solución restante puede separarse del tejido de la muestra de oreja y conservarse congelada (-20°C) para pruebas posteriores o si necesita repetirse la prueba.

Protocolo del ensayo

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran la temperatura ambiente (de 18° a 25°C), antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse agitándolos o volviéndolos suavemente. Use una pipeta de pipeta diferente para cada muestra.

1. Tome la placa(s) tapada(s) y marque la posición de la muestra en una hoja de trabajo.
2. Dispense 50 µl de los microporos de detección en cada pocillo. En esta operación puede usarse una pipeta multicanal (8 o 12 canales).
3. Dispense 50 µl de control negativo en los pocillos apropiados.
4. Dispense 50 µl de control positivo en los pocillos apropiados.
5. Dispense muestras de 50 µl en los pocillos restantes. Use una punta de pipeta diferente para cada muestra.
6. Mézcle el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa o use un aplastador de placas de microtitulación.
7. Incube durante 2 horas a 37°C o toda la noche (12-18 horas) entre 2°C y 8°C (en un refrigerador). En cualquier opción de incubación, las placas deben sellarse firmemente para evitar evaporaciones, o incubarse en una cámara húmeda.
8. Aspire los contenidos líquidos de los pocillos en un recipiente de desechos apropiado.
9. Lave cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado cinco veces. Aspire los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Después de la aspiración final, elimine el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente. Evite que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente.
IMPORTANTE! Controle cuidadosamente que no queden restos de sangre en las paredes o bordos de los pocillos. Para eliminar la sangre antes de pasar a la siguiente fase puede ser necesario realizar 2 ó 3 lavados más.
10. Dispense 100 µl de conjugado en cada pocillo.
11. Incube durante 30 minutos a la temperatura ambiente (18° y 25°C).
12. Repita los pasos 8 y 9.
13. Dispense 100 µl de solución de sustrato TMB en cada pocillo.
14. Incube 10 minutos a la temperatura ambiente (de 18° y 25°C) en la oscuridad. Empezar a cronometrar después de llenar el primer pocillo.
15. Para detener la reacción, dispense 100 µl de solución de frenado en cada muestra. Añada la solución de frenado en el mismo orden en que añadió la solución de sustrato en el paso 13.
16. Calibre el espectrofotómetro en aire.
17. Mida y anote la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando doble longitud de onda, a 450 nm y 650 nm.
18. Calcule los resultados.

Resultados

Para que el ensayo sea válido, la diferencia (M - N) entre la media del control positivo (PCx) y la media del control negativo (NCx) debe ser mayor o igual a 0,150 de densidad óptica (DO). Además, la media del control negativo (NCx) debe ser inferior o igual a 0,250 DO.

En los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica, y el ensayo tiene que repetirse siguiendo una revisión minuciosa del material suministrado.

La presencia o ausencia de antígenos de BVDV en la muestra se determina mediante el valor de la densidad óptica corregida (M - N) de cada muestra.

Para ejemplos, vea "Cálculos."

NOTA: IDEXX tiene a disposición instrumentos y sistemas de software para el cálculo de valores medios y diferencias M - N, y la elaboración de resúmenes de datos.

Cálculos

Cálculo de la media del control negativo (NCx)

$$NCx = \frac{NC1 A^{450} + NC2 A^{450}}{2}$$

Ejemplo:

$$\frac{0,056 + 0,060}{2} = 0,058$$

Cálculo de la media del control positivo (PCx)

$$PCx = \frac{PC1 A^{450} + PC2 A^{450}}{2}$$

Ejemplo:

$$\frac{1,100 + 1,000}{2} = 1,050$$

Cálculo del resultado de las muestras analizadas

$$M - N = \text{Muestra } A^{450} - NCx A^{450}$$

Ejemplo: resultado de las muestras 1,558

$$M - N = 1,558 - 0,058 = 1,500$$

Interpretación de los resultados

Muestras de suero, plasma o sangre entera

1. Las muestras con valores M - N iguales o inferiores a 0,3 se clasifican como negativas a antígenos de BVDV.
2. Las muestras con valores M - N superiores a 0,3 se clasifican como positivas.

Los resultados positivos para esta prueba son válidos para terneros de cualquier edad. Sin embargo, titulaciones elevadas de anticuerpos maternos pueden interferir con la detección del antígeno de BVDV en terneros. Por ello, para los terneros que presentan un resultado negativo, en particular los de menor de 3 meses de edad, se recomienda repetir el análisis cuando tengan 12 o 15 semanas de vida.

Muestras de muestra de oreja

1. Muestras con un valor de DO corregido menor o igual a 0,2 son clasificadas como negativas para el antígeno de BVDV.
2. Muestras con un valor de DO corregido mayor que 0,2 pero menor o igual que 0,3 son consideradas sospechosas.
3. Muestras con un valor de DO corregido mayor que 0,3 son clasificadas como positivas para el antígeno de BVDV.

Las muestras sospechosas deben de analizarse de nuevo utilizando otros 50 µl de la solución tamponada de inmersión restante. Si quedarán menos de 50 µl, se puede repetir la prueba sumergiendo la muestra de la muestra de oreja en otros nuevos 150 µl de solución de inmersión durante la noche a 2°-8° C. Si la muestra vuelve a dar un resultado sospechoso, debe tomarse una muestra de sangre para analizarla con el kit de IDEXX BVDV Ag/Suero Plus ELISA, con-VI o con-PCR para BVDV.

Si hubiera alguna duda sobre el estado de un animal vivo positivo, que se considere vago, para la confirmación de una infección persistente se debe realizar un nuevo análisis con otra muestra obtenida entre 7 y 14 días después de haberse tomado la primera muestra. Recomendamos que los resultados positivos obtenidos con sangre entera se confirmen empleando suero o plasma del mismo animal.

Resumen del protocolo del test

Se recomienda antes de la realización del test por primera vez, realizar una lectura completa del manual de instrucciones.

Paso	Acción								
1. Preparación de muestras de oreja	<ul style="list-style-type: none"> Utilice recipientes para la muestra de la oreja (muestras) de unos 2-3 mm de diámetro (por ejemplo como la muestra cuando se aplican en la oreja los cordales, provistos de un dispositivo para la toma de muestra). Transfiera la muestra de la oreja del dispositivo a un tubo de dilución. Son preferibles los tubos de dilución de pequeño tamaño, hasta unos 500 µl, con forma cónica. Añada 150 µl de 1x Solución tamponada (buffer) para sumergir la muestra de oreja. Acaprosese de que toda la muestra quede cubierta por la solución (agite con cuidado o agitar). Cierre el tubo y deje las muestras sumergidas durante la noche a una temperatura de 2°-8°C. Mezcle la solución con una pipeta antes de aspirar los 50 µl de la solución necesarias para el prueba. 								
2. Distribución de los anticuerpos de detección	<ul style="list-style-type: none"> Tomar la placa(s) tapada(s) y marque la posición de la muestra en una hoja de trabajo. Dispense 50 µl de los anticuerpos de detección en cada pocillo. En esta operación puede usarse una pipeta multicanal (8 o 12 canales). Dispense 50 µl de control negativo en los pocillos apropiados. Dispense 50 µl de control positivo en los pocillos apropiados. Dispense muestras de 50 µl en los pocillos restantes. Use una punta de pipeta diferente para cada muestra. Mezcle el contenido de los pocillos golpeando suavemente la placa o use un agitador de placas de microtitulación. 								
3. Distribución de las muestras (muestras de suero, plasma, sangre entera o muestra de oreja)	<ul style="list-style-type: none"> Dispense 50 µl de control negativo en los pocillos apropiados. Dispense 50 µl de control positivo en los pocillos apropiados. Dispense muestras de 50 µl en los pocillos restantes. Use una punta de pipeta diferente para cada muestra. Mezcle el contenido de los pocillos golpeando suavemente la placa o use un agitador de placas de microtitulación. 								
4. Incubación de las muestras	<ul style="list-style-type: none"> Incube durante 2 horas a 37°C o toda la noche (12-18 horas) entre 2°C y 8°C (en un refrigerador). En cualquier opción de incubación, las placas deben sellarse firmemente para evitar evaporaciones, o incubadas en una cámara húmeda. Aspire los contenidos líquidos de los pocillos en un recipiente apropiado. 								
5. Lavado de la placa	<ul style="list-style-type: none"> Lave cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de Lavado 5 veces. Aspire los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Tras la aspiración final, elimine el líquido de lavado residual de cada placa golpeándola firmemente sobre material absorbente. 								
6. Dilución del conjugado	<ul style="list-style-type: none"> Dispense 100 µl de conjugado en cada pocillo. 								
7. Incubación del conjugado	<ul style="list-style-type: none"> Incube durante 30 minutos a la temperatura ambiente (18° a 25°C). 								
8. Repita la etapa 5									
9. Distribución sustrato	<ul style="list-style-type: none"> Dispense 100 µl de solución de sustrato TMB en cada pocillo. 								
10. Incubación del sustrato	<ul style="list-style-type: none"> Incube 10 minutos a la temperatura ambiente (18° a 25°C) en la oscuridad. Empiece a cronometrar después de llenar el primer pocillo. 								
11. Frenado de la reacción	<ul style="list-style-type: none"> Para detener la reacción, dispense 100 µl de solución de frenado en cada muestra. Añada la solución de frenado en el mismo orden en que añadió la solución de sustrato en el paso 9. 								
12. Medición de la placa	<ul style="list-style-type: none"> Calibre el espectrofotómetro en aire. Mida y anote la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando doble longitud de onda, a 450 nm y 650 nm. Calcule los resultados. 								
13. Interpretación (M-N)	<table border="1"> <tr> <td>Muestras de oreja</td> <td>≤ 0.2</td> <td>$0.2 < \leq 0.3$</td> <td>> 0.3</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Negativo</td> <td>Dudoso</td> <td>Positivo</td> </tr> </table>	Muestras de oreja	≤ 0.2	$0.2 < \leq 0.3$	> 0.3		Negativo	Dudoso	Positivo
	Muestras de oreja	≤ 0.2	$0.2 < \leq 0.3$	> 0.3					
	Negativo	Dudoso	Positivo						
Muestras de suero, plasma o sangre entera	≤ 0.3	> 0.3							
	Negativo	Positivo							

Fabricado por:

IDEXX Switzerland AG
 Stationsstrasse 12
 3097 Liebfeld-Bern, Switzerland

Para asistencia técnica:

contacte el representante local IDEXX
 o visite:
www.idexx.com/production/contact
 IDEXX U.S. Technical Support: 00-800-727-43399

ANEXO 4

LISTA DE MUESTRAS ANALIZADAS DEL DISTRITO DE INCLÁN - 2009

Nº	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESPECIE	MUESTRA	FECHA DE ENVÍO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
1	Hilda Escobar Gutierrez	21/04/2009	7	Bovino	suero	12/05/2009	0	7
2	Sixto Osco Mancilla	21/04/2009	13	Bovino	suero	12/05/2009	0	13
3	Gerardo Escobar	21/04/2009	8	Bovino	suero	12/05/2009	0	8
4	Juan Chambilla Mamani	21/04/2009	4	Bovino	suero	12/05/2009	0	4
5	Julio Cahuana Gutierrez	21/04/2009	16	Bovino	suero	12/05/2009	0	16
6	Esteban Gutierrez Layme	21/04/2009	4	Bovino	suero	12/05/2009	0	4
7	Lidia Maquera Arpasi	21/04/2009	2	Bovino	suero	12/05/2009	0	2
8	Santiago Nina Ninaja	21/04/2009	7	Bovino	suero	12/05/2009	0	7
9	Esteban Nieto Huanca	27/04/2009	6	Bovino	suero	12/05/2009	0	6
10	Raul Nieto Cabrera	27/04/2009	4	Bovino	suero	12/05/2009	0	4
11	Santos Ticona Ninaja	27/04/2009	6	Bovino	suero	12/05/2009	0	6
12	Guillermo Laca Quispe	27/04/2009	4	Bovino	suero	12/05/2009	0	4
13	Pedro Carpio Liendo	27/04/2009	3	Bovino	suero	12/05/2009	0	3
14	Hector Layme Valeriano	27/04/2009	2	Bovino	suero	12/05/2009	0	2
15	Victoria Condori de Tuyo	27/04/2009	7	Bovino	suero	12/05/2009	0	7
16	Carlos Cuadros	27/04/2009	13	Bovino	suero	12/05/2009	0	13
17	Ever Rodriguez Maldonado	27/04/2009	2	Bovino	suero	12/05/2009	0	2
18	Damasco Ayala Sayuca	27/04/2009	4	Bovino	suero	12/05/2009	0	4
19	Reymer Mamani Mamani	27/04/2009	15	Bovino	suero	12/05/2009	0	15
20	Juan Nieto Cabrera	27/04/2009	6	Bovino	suero	12/05/2009	0	6
21	Rogelio Fora Ninaja	27/04/2009	2	Bovino	suero	12/05/2009	0	2
22	Alberto Rosado Lopez	27/04/2009	7	Bovino	suero	12/05/2009	0	7
23	Ronal Ancco Rondon	27/04/2009	23	Bovino	suero	12/05/2009	0	23
24	Teofilo Conde Linares	27/04/2009	4	Bovino	suero	12/05/2009	0	4
25	Silveria Machaca Huanacuni	29/04/2009	6	Bovino	suero	12/05/2009	0	6
TOTAL			175				0	175

Continúa página siguiente

Viene página anterior

Nº	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP.	MUESTRA	FECHA DE ENVIO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
26	Carla Layme Machaca	29/04/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
27	Regis Laura Morales	29/04/2009	1	Bovino	suero	20/05/2009	0	1
28	Clestino Rosas Ayala	29/04/2009	6	Bovino	suero	20/05/2009	0	6
29	Benito Qqehue Huanacuni	29/04/2009	5	Bovino	suero	20/05/2009	0	5
30	Jorge Morales Cardenas	05/05/2009	9	Bovino	suero	20/05/2009	0	9
31	Inocencio Aguilar Valeriano	05/05/2009	6	Bovino	suero	20/05/2009	0	6
32	Julio Rosado Vilca	05/05/2009	7	Bovino	suero	20/05/2009	0	7
33	Sonia Cafii Atencio	05/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
34	Francisco Cruz Mamani	05/05/2009	4	Bovino	suero	20/05/2009	0	4
35	Walter Velasquez Catacora	29/04/2009	3	Bovino	suero	20/05/2009	1	2
36	Hilario Layme Maquera	05/05/2009	3	Bovino	suero	20/05/2009	0	3
37	Mauro Condori Velasquez	05/05/2009	4	Bovino	suero	20/05/2009	0	4
38	Eusebio Quispe Cruz	05/05/2009	1	Bovino	suero	20/05/2009	0	1
39	Santos Ticona Ninaja	05/05/2009	5	Bovino	suero	20/05/2009	0	5
40	Juana Atencio Lupaca	29/04/2009	3	Bovino	suero	20/05/2009	0	3
41	Jorge Mamani Condori	05/05/2009	6	Bovino	suero	20/05/2009	0	6
42	Laureano Cruz Mamani	05/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
43	Wilson Calisaya Cohaila	05/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
44	Eusebio Onofre Chipana	05/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
45	Florentino Maquera Aquino	29/04/2009	4	Bovino	suero	20/05/2009	0	4
46	Juliana Vizcarra de Cruz	05/05/2009	6	Bovino	suero	20/05/2009	0	6
47	Francisco Mamani Mamani	05/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
48	Alvaro Toledo Huancani	05/05/2009	4	Bovino	suero	20/05/2009	0	4
49	Luis Chire Cusi	12/05/2009	1	Bovino	suero	20/05/2009	0	1
50	Constantino Poma Huarahuara	12/05/2009	7	Bovino	suero	20/05/2009	1	6
51	Felix Pariguana Kebedo	12/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
52	Bernardina Pucho Cordova	05/05/2009	9	Bovino	suero	20/05/2009	0	9
53	Eliseo Lopez Maquera	29/04/2009	8	Bovino	suero	20/05/2009	0	8
54	Rosario Pineda Flores	14/05/2009	7	Bovino	suero	20/05/2009	1	6
55	Leonardo Lupaca Lupaca	14/05/2009	5	Bovino	suero	20/05/2009	0	5
56	Julio Vega Fernandez	14/05/2009	6	Bovino	suero	20/05/2009	1	5
57	Andres Rosas Lupaca	14/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
58	Valentin Cohaila Pacompia	14/05/2009	2	Bovino	suero	20/05/2009	0	2
TOTAL			138				4	134

Continúa página siguiente

Viene página anterior

N°	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP.	MUESTRA	FECHA DE ENVÍO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
59	Porfiria Arias Liendo	12/05/2009	4	Bovino	suero	21/05/2009	0	4
60	Agustin Zanga Ururi	12/05/2009	4	Bovino	suero	21/05/2009	0	4
61	Florentino Maquera Aquino	12/05/2009	5	Bovino	suero	21/05/2009	0	5
62	Otilia Vargas de Loza	12/05/2009	4	Bovino	suero	21/05/2009	0	4
63	Felix Gutierrez Layme	12/05/2009	2	Bovino	suero	21/05/2009	0	2
64	Vicente Quispe Laura	14/05/2009	2	Bovino	suero	21/05/2009	0	2
65	Ana Quispe Mamani	15/05/2009	5	Bovino	suero	21/05/2009	0	5
66	Isidora Cosi Maquera	14/05/2009	1	Bovino	suero	21/05/2009	0	1
67	Alejandrina Machaca	14/05/2009	2	Bovino	suero	21/05/2009	0	2
68	Manuel Chavez Chavez	15/05/2009	3	Bovino	suero	21/05/2009	0	3
69	Jose Soto Vargas	15/05/2009	9	Bovino	suero	21/05/2009	0	9
70	Leoncio Apaza Cutipa	12/05/2009	4	Bovino	suero	21/05/2009	0	4
71	Alberto Chahua Perca	12/05/2009	1	Bovino	suero	21/05/2009	0	1
72	Wilson Laqui Mamani	12/05/2009	1	Bovino	suero	21/05/2009	0	1
73	Juan Mamani Maquera	12/05/2009	8	Bovino	suero	21/05/2009	0	8
74	Javier Chanini Cama	14/05/2009	3	Bovino	suero	21/05/2009	0	3
TOTAL			58				0	58
75	Wili Carpio Curo	14/05/2009	2	Bovino	suero	28/05/2009	0	2
76	Juan Quispe Choque	15/05/2009	1	Bovino	suero	28/05/2009	0	1
77	Elvira Mamani Ochoa	14/05/2009	12	Bovino	suero	28/05/2009	1	11
78	Florencio Villanueva Miranda	15/05/2009	9	Bovino	suero	28/05/2009	0	9
79	Samuel Vargas Mancilla	12/05/2009	7	Bovino	suero	28/05/2009	0	7
80	Ernesto Calizaya Vargas	14/05/2009	6	Bovino	suero	28/05/2009	0	6
81	Sabino Mamani Miranda	12/05/2009	10	Bovino	suero	28/05/2009	1	9
82	Mónica del Carmen Huanacune	14/05/2009	6	Bovino	suero	28/05/2009	0	6
83	Félix Carpio Mamani	14/05/2009	4	Bovino	suero	28/05/2009	1	3
84	Teófila Capia Soto	14/05/2009	10	Bovino	suero	28/05/2009	2	8
85	Juan Crisóstomo Blas Quispe	14/05/2009	4	Bovino	suero	28/05/2009	0	4
86	Anselmo Salazar Yañez	15/05/2009	6	Bovino	suero	28/05/2009	0	6
87	Amelia Pihuaycho Vargas	12/05/2009	6	Bovino	suero	28/05/2009	0	6
88	Nemesio Plata Fuentes	12/05/2009	1	Bovino	suero	28/05/2009	0	1
89	Ventura Clavitea Anchapuri	15/05/2009	1	Bovino	suero	28/05/2009	0	1

Continúa página siguiente

Viene página anterior

Nº	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP.	MUESTRA	FECHA DE ENVÍO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
90	Anacleto Flores Paco	14/05/2009	3	Bovino	suero	28/05/2009	0	3
91	Graciela Guevara Huanacune	14/05/2009	2	Bovino	suero	28/05/2009	0	2
92	Segundo Loza Carpio	15/05/2009	3	Bovino	suero	28/05/2009	0	3
93	Juan Laura Mamani	15/05/2009	3	Bovino	suero	28/05/2009	1	2
94	Gregoria Condori Mamani	15/05/2009	4	Bovino	suero	28/05/2009	0	4
95	Horestes Cosi Maquera	15/05/2009	9	Bovino	suero	28/05/2009	0	9
TOTAL							6	103
96	Eida Mamani Mamani	12/05/2009	2	Bovino	suero	29/05/2009	1	1
97	Edgar Mamani Mamani	12/05/2009	6	Bovino	suero	29/05/2009	0	6
98	Wilfredo Vega Melendez	14/05/2009	2	Bovino	suero	29/05/2009	0	2
99	Aldo Chambe Mamani	14/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
100	Sixto Osco Mancilla	12/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
101	Danislao Eugenio Mamani Cáceres	12/05/2009	6	Bovino	suero	29/05/2009	0	6
102	Graciela Flores Vilca	22/05/2009	5	Bovino	suero	29/05/2009	0	5
103	Lucia Chipana Flores	22/05/2009	2	Bovino	suero	29/05/2009	0	2
104	David Maquera Maquera	22/05/2009	4	Bovino	suero	29/05/2009	0	4
105	Paulo Pacci Paniagua	22/05/2009	8	Bovino	suero	29/05/2009	0	8
106	Dominga Machaca Basurco	22/05/2009	14	Bovino	suero	29/05/2009	0	14
107	Cipriano Quispe Quispe	22/05/2009	8	Bovino	suero	29/05/2009	0	8
108	Adriana Mamani de Catacora	22/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
109	Humberto Morales Valdez	22/05/2009	1	Bovino	suero	29/05/2009	0	1
110	Leon Mamani Esquia	22/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
111	Lorenza Condori Viuda de Ortiz	22/05/2009	8	Bovino	suero	29/05/2009	0	8
112	Pio Catacora Mamani	22/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
113	Toribia Paniagua Conde	22/05/2009	6	Bovino	suero	29/05/2009	0	6
114	Prudencio Plata Fuentes	22/05/2009	8	Bovino	suero	29/05/2009	0	8
115	Fernan Maldonado Gil	22/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
116	Mario Maldonado Gil	22/05/2009	3	Bovino	suero	29/05/2009	0	3
117	Justo Roman Gutierrez	22/05/2009	8	Bovino	suero	29/05/2009	0	8
118	Miguel Morales Lucana	22/05/2009	2	Bovino	suero	29/05/2009	0	2
119	Tomas Yacub Rios	29/05/2009	14	Bovino	suero	29/05/2009	0	14
TOTAL							1	124

Continúa página siguiente

Viene página anterior

Nº	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP	MUESTRA	FECHA DE ENVIO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
120	Rufina Maquera Maquera	11/05/2009	12	Bovino	suero	15/06/2009	1	11
121	Cruza Ayca Canavire.	22/05/2009	13	Bovino	suero	15/06/2009	0	13
122	Otilia Flores viuda de Amachi.	14/05/2009	3	Bovino	suero	15/06/2009	0	3
123	Maximo Flores Castillo	14/05/2009	2	Bovino	suero	15/06/2009	0	2
124	Nicolasa Conde Linares	14/05/2009	2	Bovino	suero	15/06/2009	0	2
125	Floro Pihuaycho Vargas.	14/05/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
126	Walter Andres Layme Machaca	12/05/2009	3	Bovino	suero	15/06/2009	0	3
127	Juan Carlos Layme Machaca	05/05/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	1	3
128	Sefarin Cerapio Sosa Villegas.	22/05/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
129	Rosa Mamani Mamani.	01/06/2009	8	Bovino	suero	15/06/2009	0	8
130	Florencio Huanca Ramos	01/06/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	2	2
131	Gabriel Maldonado Marin.	01/06/2009	12	Bovino	suero	15/06/2009	0	12
132	Francisco Jinez Maquera.	01/06/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	0	4
133	Adelina Flores Caso.	15/05/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
134	Carlos Huaqui Callata.	01/06/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	0	4
135	Alberto Liendo Pizarro.	15/05/2009	10	Bovino	suero	15/06/2009	0	10
136	Juan Sanchez Neyra.	03/06/2009	14	Bovino	suero	15/06/2009	0	14
137	Luis Carlos Chahua Flores.	03/06/2009	1	Bovino	suero	15/06/2009	0	1
138	Edwin Fredy Paniagua Vega.	01/06/2009	3	Bovino	suero	15/06/2009	0	3
139	Jose Luis Arocutipa Callomamani	01/06/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	0	4
140	Celestina Justina Cornejo Centellas.	01/06/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
141	Inocencia Quispe Carrillo.	01/06/2009	7	Bovino	suero	15/06/2009	0	7
142	Amelia Ninaja Acero.	03/06/2009	3	Bovino	suero	15/06/2009	0	3
143	Narcizo Ticona Flores	03/06/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	0	4
144	Rosalvira Alanias de Alania.	03/06/2009	10	Bovino	suero	15/06/2009	0	10
145	Samuel Valeriano Aguilar.	01/06/2009	1	Bovino	suero	15/06/2009	0	1
146	Lucia Mamerta Valeriano Cardenas.	01/06/2009	8	Bovino	suero	15/06/2009	0	8
147	Maria Rosa Maquera Jimenez.	01/06/2009	6	Bovino	suero	15/06/2009	0	6
148	Ignacia Diaz Jacu.	03/06/2009	20	Bovino	suero	15/06/2009	0	20
149	Luis Carlos Chahua Flores	03/06/2009	2	Bovino	suero	15/06/2009	0	2

Continúa página siguiente

Viene página anterior

N°	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP.	MUESTRA	FECHA DE ENVIO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
150	Fausto Ecequiel Carpio Fernandez.	03/06/2009	8	Bovino	suero	15/06/2009	0	8
151	Felipe Hipolito Ticona.	03/06/2009	6	Bovino	suero	15/06/2009	0	6
152	Delia Chambilla de Medina.	01/06/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
153	Manuel David Quispe Choque	01/06/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
154	Fredy Ururi Chino.	01/06/2009	4	Bovino	suero	15/06/2009	0	4
155	Walter Donato Mamani Espinoza.	03/06/2009	5	Bovino	suero	15/06/2009	0	5
TOTAL			217				4	213
156	Mauricio Lopez Pihuyaycho	03/06/2009	16	Bovino	suero	23/06/2009	0	16
157	Wiliam Calizaya Marquina	03/06/2009	14	Bovino	suero	23/06/2009	0	14
158	Carlos Lea X	14/06/2009	7	Bovino	suero	23/06/2009	0	7
159	Hernan Mamani Conde	03/06/2009	10	Bovino	suero	23/06/2009	0	10
160	Serapio Marca Molle	03/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
161	Faustín Alania Perca	03/06/2009	7	Bovino	suero	23/06/2009	0	7
162	German Lupaca Quispe	14/05/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
163	Franz Mamani Laqui	03/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	0	5
164	Miguel Portugal Olivera	10/06/2009	6	Bovino	suero	23/06/2009	0	6
165	I.E. Jose Joaquin Inclan	29/04/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
166	Victor Portugal Eyzaguirre	10/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
167	Adrian Turpo Chata	10/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
168	Ema Mamani Ochoa	16/06/2009	10	Bovino	suero	23/06/2009	1	9
169	Javier Llunca Chipana	16/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
170	Artemio Lupaca Guevara	01/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	1	4
171	Hernan Mansilla Sanchez	01/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
172	Ascencio gonzales soto	01/06/2009	7	Bovino	suero	23/06/2009	0	7
173	Fabiana Pari Flores	01/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
174	Luis Saul Rojas Chambe	01/06/2009	7	Bovino	suero	23/06/2009	0	7
175	Miguel Morales Lucana	03/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	0	5
176	Carmen Carbajal Vda de Quispe	03/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
177	Hernan Mamani Condori	03/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	0	5
178	Salvador Arias Cardenas	03/06/2009	10	Bovino	suero	23/06/2009	0	10

Continúa página siguiente

Viene página anterior

N°	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP.	MUESTRA	FECHA DE ENVÍO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
179	Rey Mamani Marquina	03/06/2009	8	Bovino	suero	23/06/2009	0	8
180	Jorge Fernandez Carpio	03/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
181	Luis Alberto Zuñiga Huaman	03/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
182	Solome Ygnacio Mamani Luque	03/06/2009	7	Bovino	suero	23/06/2009	0	7
183	Guzman Mamani Espinoza	03/06/2009	9	Bovino	suero	23/06/2009	1	8
184	Doroteo Rospigliosi Carpio	03/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
185	Pablo Loza Carpio	05/06/2009	13	Bovino	suero	23/06/2009	0	13
186	Jose Yapu Vargas	10/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
187	Teodoro Lopez Maquera	10/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	0	5
188	Juana Vargas Castro	10/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
189	Marlene Quispe Vargas	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
190	Floro Pihuaycho Vargas.	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
191	Lorenza Llaca Osco	10/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
192	Paulo Medina Juanillo	10/06/2009	7	Bovino	suero	23/06/2009	0	7
193	Buenaventura Mamani Catacora	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
194	Pedro Salas Gil	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
195	Luzmila Quispe Vargas	10/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
196	Adolfo Carpio Loza	10/06/2009	6	Bovino	suero	23/06/2009	0	6
197	Alicia Eudeli Portales Navarro	10/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
198	Lorenzo Mamani Mamani	10/06/2009	8	Bovino	suero	23/06/2009	0	8
199	Raul Alarcon Rondon	10/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
200	Lucia Soledad Canchaco Huanca	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
201	Pedro Alex Portugal Rosado	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
202	Claudia Huilca Huilca	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
203	Digeloge Ejercito del Peru	10/06/2009	11	Bovino	suero	23/06/2009	0	11
204	Pedro Portugal Eyzaguirre	10/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
205	Edwin Portugal Liendo	10/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
206	Edgar Choque Cutipa	10/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
207	Beto Henry Gutierrez Maquera	10/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
208	Angela Vegas de Salas	10/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2

Continúa página siguiente

Viene página anterior

Nº	PROPIETARIO	FECHA DE MUESTREO	CANTID.	ESP.	MUESTRA	FECHA DE ENVIO	RESULTADO	
							POSIT.	NEGAT.
209	Jose Canque Cutipa	14/05/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
210	Hilarion Mamani Huayna	16/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	0	5
211	Alicia Ayala Arpaci	16/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
212	Lucio Quispe Flores	16/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
213	Grover Gallegos Davalos	16/06/2009	5	Bovino	suero	23/06/2009	0	5
214	Pedro Lucas Quea Chipana	16/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
215	Salvador Arias Cardenas	16/06/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
216	Demetrio Vargas Mancilla	16/06/2009	8	Bovino	suero	23/06/2009	0	8
217	Olivia Vargas Quea	16/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
218	Ramon Escobar Zapana	16/06/2009	4	Bovino	suero	23/06/2009	0	4
219	Eusebia Chambilla Coronado	03/06/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
220	Carlos Layme Atencio	05/06/2009	8	Bovino	suero	23/06/2009	0	8
221	Adrian Rodriguez Velasquez	14/05/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	1	1
222	Ema Copaja Vda de Parihuana	03/06/2009	2	Bovino	suero	23/06/2009	0	2
223	Valentin Mamani Mamani	05/05/2009	3	Bovino	suero	23/06/2009	0	3
224	Pedro Arcata	12/05/2009	1	Bovino	suero	23/06/2009	0	1
TOTAL			307				4	303

TOTAL DE MUESTRAS Y POSITIVOS:

Fecha de envíos	Cant. de muestras	Cant. de positivos
12/05/2009	175	0
20/05/2009	138	4
21/05/2009	58	0
28/05/2009	109	6
29/05/2009	125	1
15/06/2009	217	4
23/06/2009	307	4
TOTAL	1129	19

Fuente: Elaboración propia

TRABAJO EN EL CAMPO

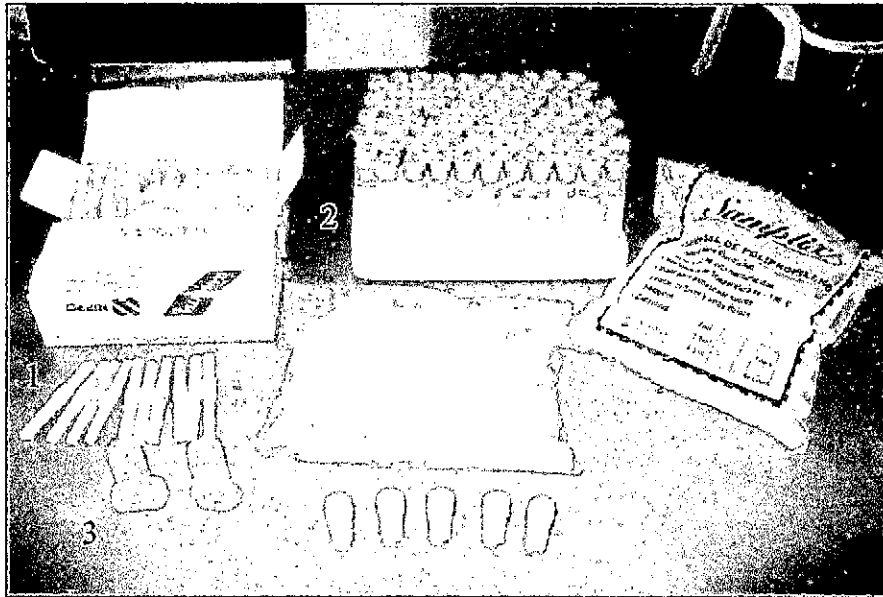


Imagen 1.- agujas vacutainer (1), tubos al vacío (2) y holders (3).

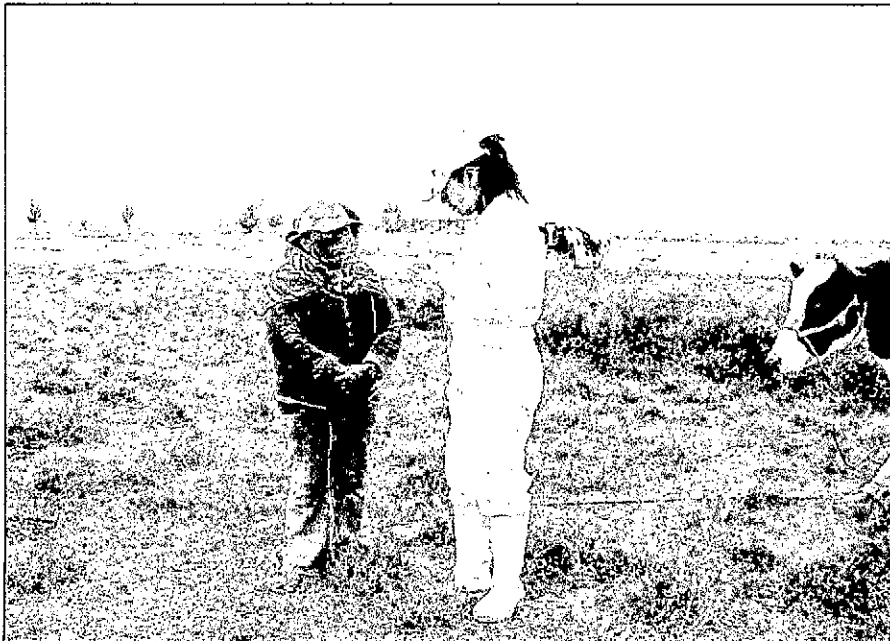


Imagen 2.- Llenado de la ficha de encuesta.



Imagen 3. -Toma de muestra sanguínea no menor a 7 ml, por la vena coccígea.

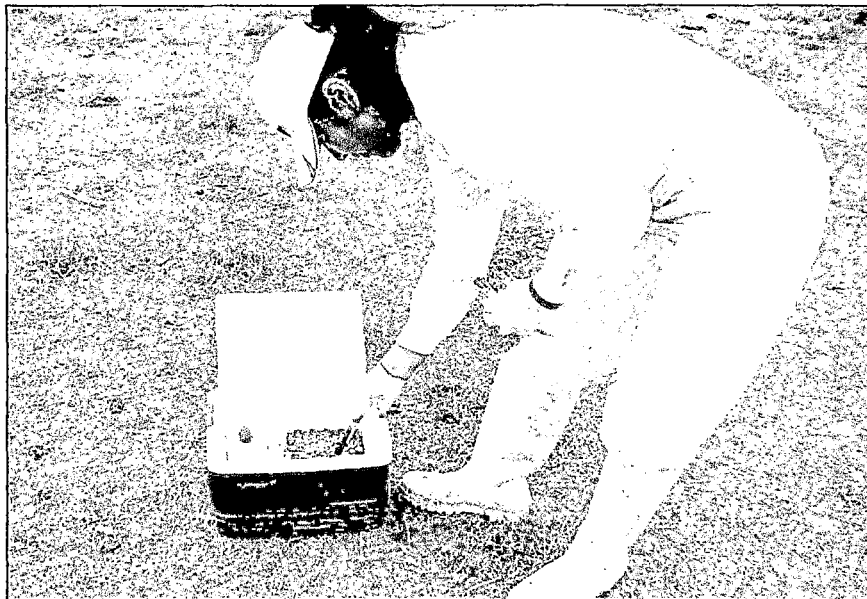


Imagen 4. - Conservación de la muestra de sangre en un cooler con hielo, hasta su llegada a UCDSA (SENASA-TACNA).

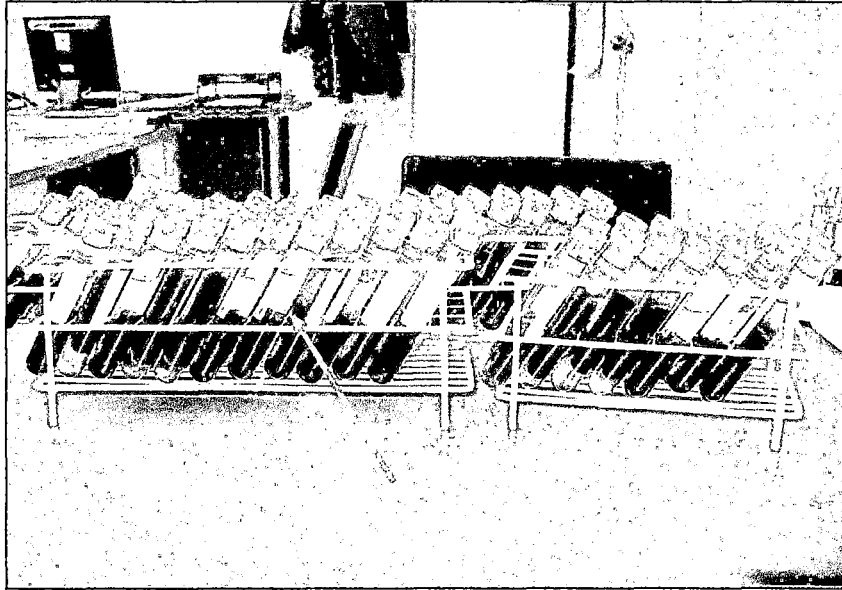


Imagen 5.- Separación del suero.

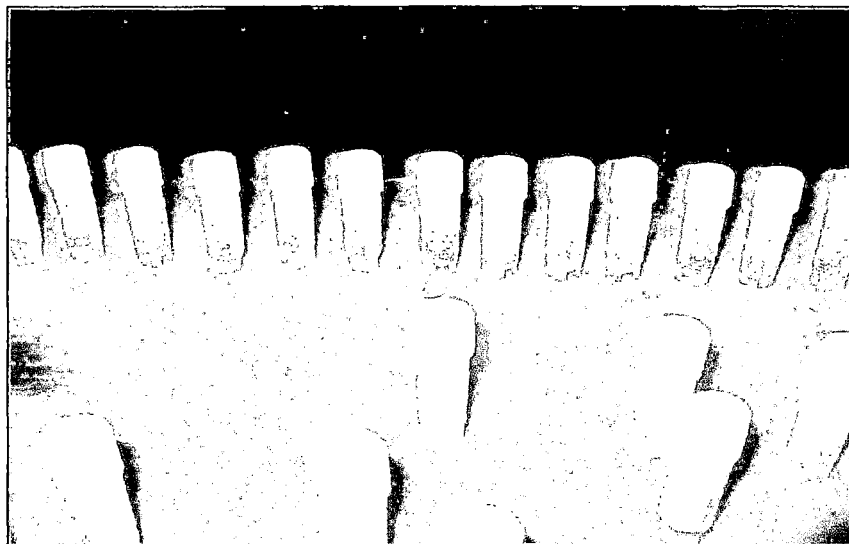


Imagen 6.- Extravasación del suero a viales criogénicos previamente rotulados.

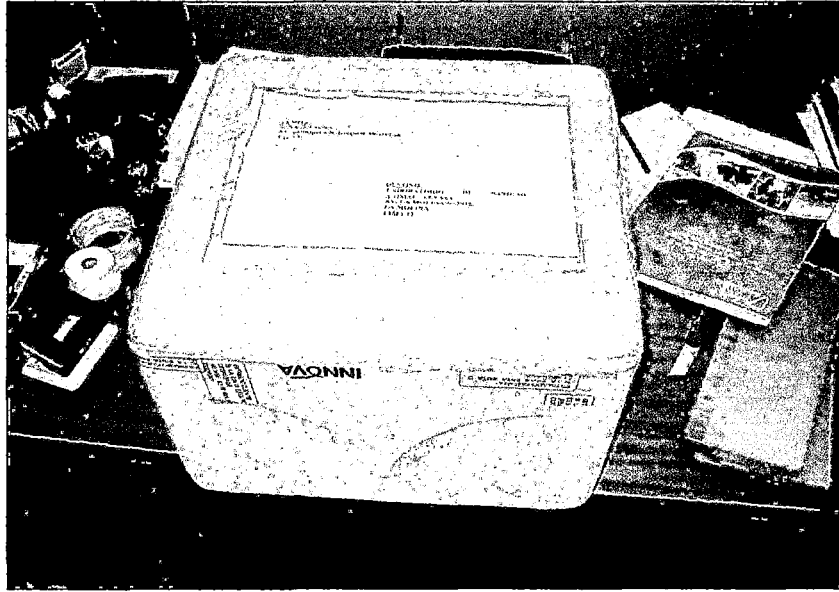


Imagen 7.- Remisión de muestras de suero a UCDSA SENASA-LIMA, la Molina.

TRABAJO EN LABORATORIO, SEGÚN PROTOCOLO DE ENSAYO.

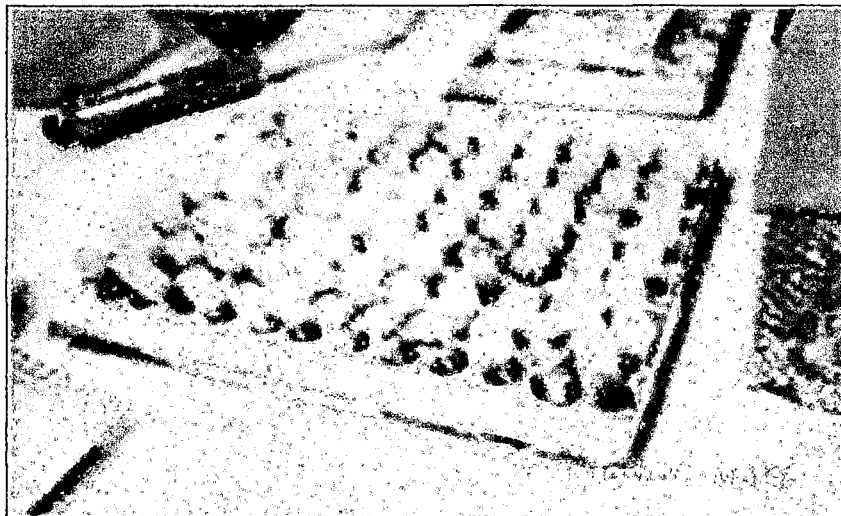


Imagen 8.- Recepción de las muestras.

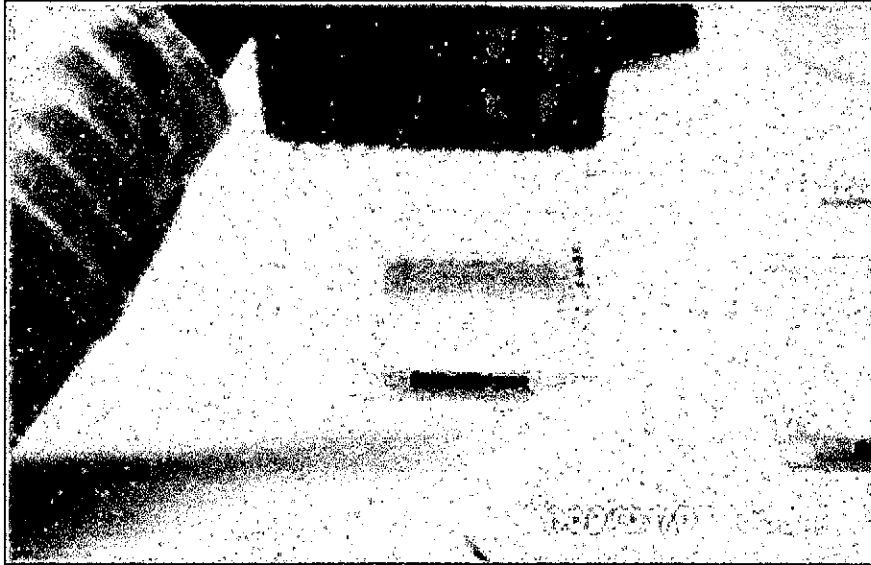


Imagen 9.- Distribución de 50 μ l anticuerpos de detección.



Imagen 10.- Distribución de 50 μ l muestras de suero.

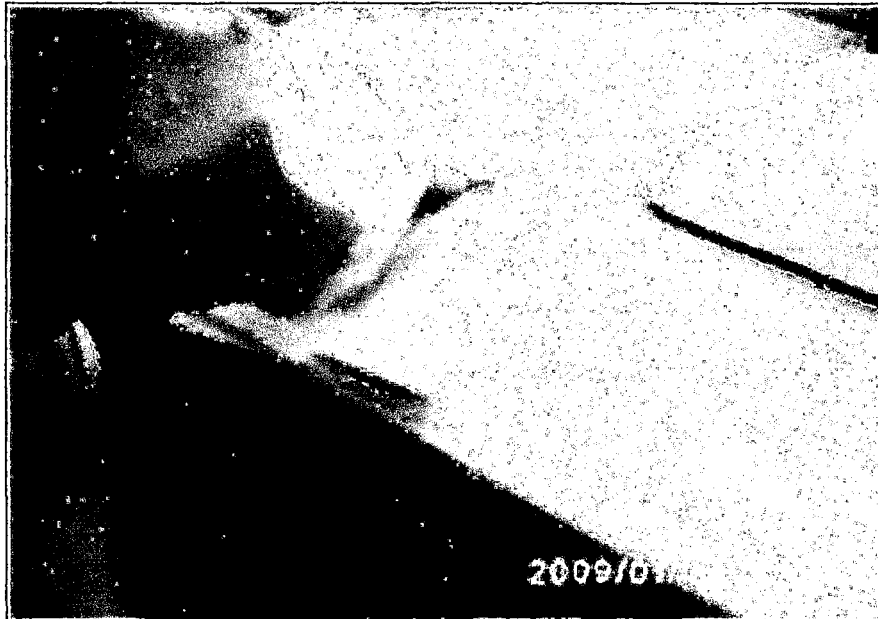


Imagen 11.- Eliminación del fluido de lavado restante.



Imagen 12.- Dilución con 100 μ l e incubación del conjugado por 30 min de 18-25°C (5) y Repetir el lavado.

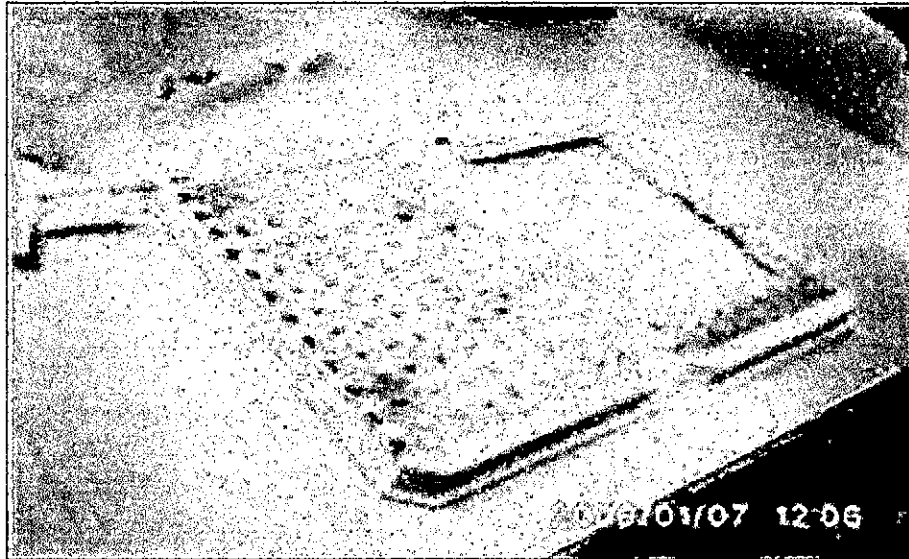


Imagen 13.- Distribución (100 μ l) e incubación del sustrato por 10 min. de 18-25°C.

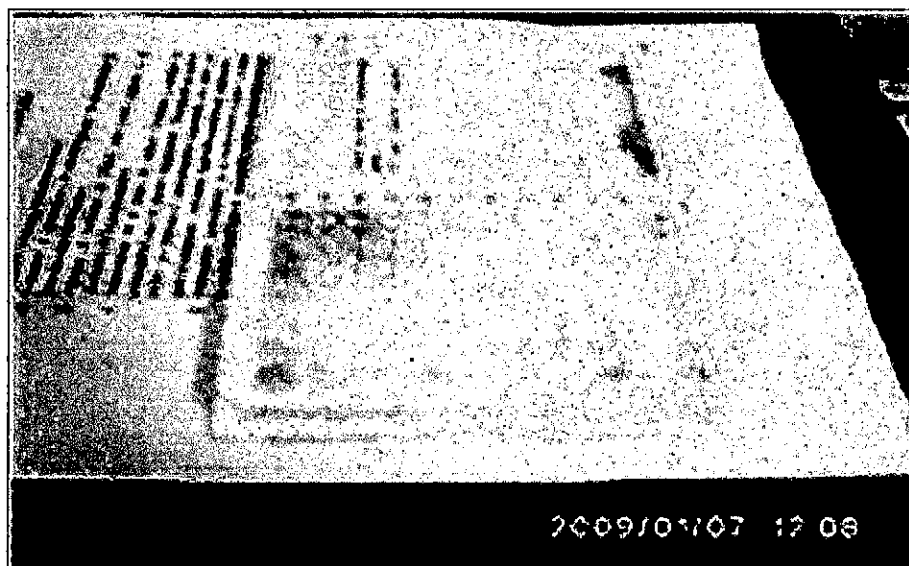


Imagen 14.- Frenado de la reacción 100 μ l.

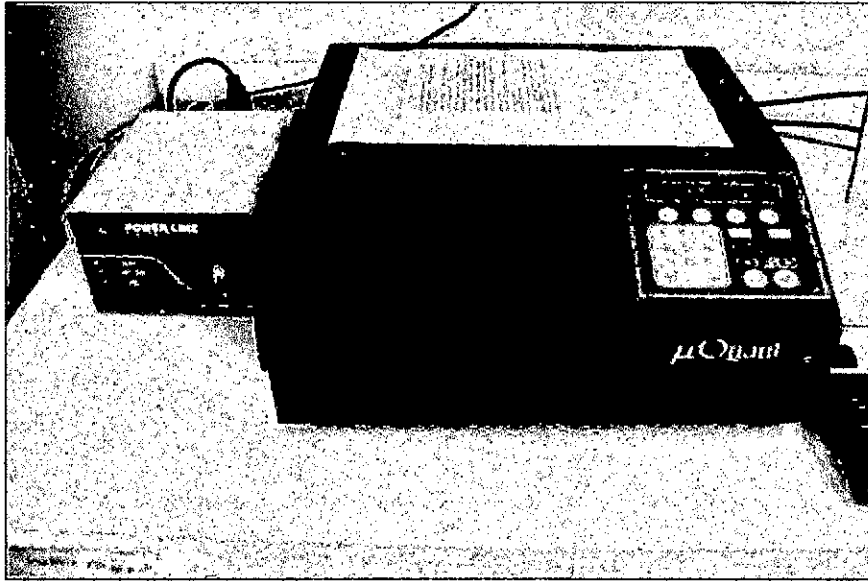


Imagen 15. - Medición de la microplaca de Elisa e interpretación.

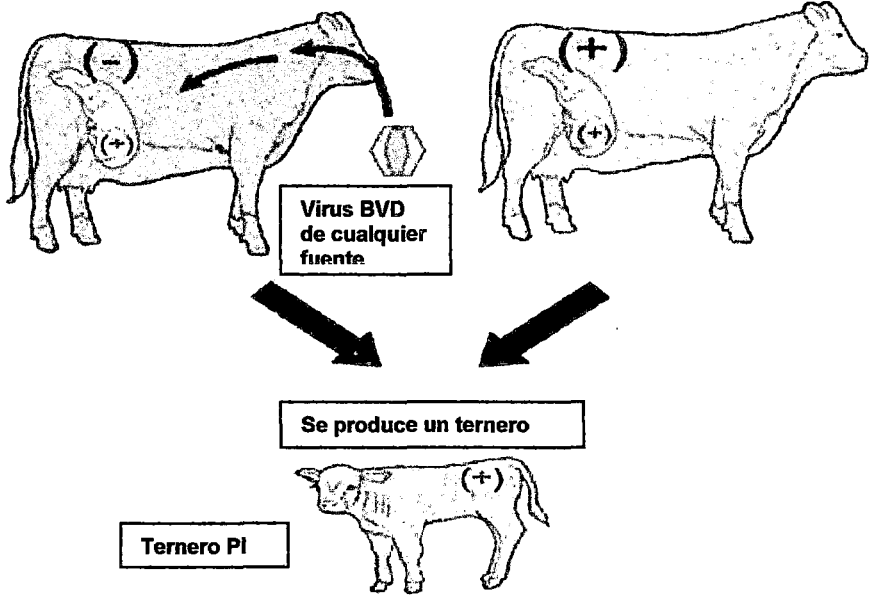
Dos vías para producir terneros PI

**Ruta más común
(más del 90%)**

**Ruta menos común
(menos del 10%)**

**Hembra preñada susceptible (no-PI)
infectada con BVDV de los 1½ a 4
meses de gestación.**

**Hembra persistentemente infectada
con BVDV queda preñada.**



UBICACIÓN DEL DISTRITO DE INCLÁN, VALLE DE SAMA,
REGIÓN DE TACNA-2009.

