

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURIMAC**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TESIS**

**“PREVALENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) Y DE BOVINOS  
PERSISTENTEMENTE INFECTADOS (PI) EN EL CENTRO POBLADO YUCAY,  
DISTRITO YUCAY , CUSCO”**

Presentado por:

Yeny Belén Mamani Mendoza

Para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista

Abancay, Perú

2023



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURIMAC

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia



TESIS

**PREVALENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) Y DE BOVINOS  
PERSISTENTEMENTE INFECTADOS (PI) EN EL CENTRO POBLADO  
YUCAY, DISTRITO DE YUCAY, CUSCO**

Presentado por **Yeny Belén Mamani Mendoza**, para optar el Título de:  
Médico Veterinario y Zootecnista

Sustentado y aprobado el 17 de octubre del 2023, ante el jurado evaluador:

**Presidente:**

MVZ. Martin Equicio Pineda Serruto

**Primer Miembro:**

M.Sc. Dora Yucra Vargas

**Segundo Miembro:**

M.Sc. Filiberto Oña Humpiri

**Asesores:**

Dr. Víctor Alberto Ramos De la Riva

M.Sc. Edgar Alberto Valdez Gutierrez



## Agradecimiento

*Quiero expresar mi sincero agradecimiento a todas aquellas personas que contribuyeron de manera significativa a la realización de esta investigación. Su tiempo, apoyo constante y palabras de aliento me ayudaron en el proceso de este proyecto.*

*Agradecer a Dios por poner en mi camino a personas increíbles como el Dr. Edgar Valdez e Ing. Fiorela Guzmán cuya orientación, conocimientos, consejos fueron indispensables para dar forma y dirección a mi investigación, también agradecer a mi docente y asesor el Dr. Víctor Ramos por todo su apoyo y asesoramiento en esta etapa.*

*No puedo dejar de mencionar a mi familia, amigos y manada, quienes me brindaron su apoyo durante esta travesía académica.*

*Finalmente, deseo expresar mi gratitud a la autora, este logro no hubiera sido posible sin ti.*

*Gracias a todos por ser parte de este viaje de felicidad, frustraciones y mucho aprendizaje.*



## **Dedicatoria**

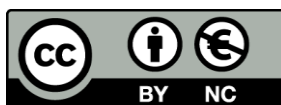
*Dedico este trabajo a aquellos seres vivos que han sido mi  
fuente inagotable de inspiración y fortaleza*



“Prevalencia de la diarrea viral bovina (DVB) y de bovinos persistentemente infectados (PI) en el centro poblado Yucay, distrito de Yucay, Cusco”

Línea de investigación: Ciencias veterinarias

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>7</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>7</b>
1.1 Descripción del problema .....	7
1.2 Enunciado del problema .....	9
1.2.1 Problema general.....	9
1.2.2 Problemas específicos .....	9
1.2.3 Justificación de la investigación.....	9
<b>CAPITULO II .....</b>	<b>11</b>
<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....</b>	<b>11</b>
2.1 Objetivos de la investigación .....	11
2.2.1 Objetivo general.....	11
2.2.2 Objetivos específicos.....	11
2.2 Operacionalización de las variables .....	11
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>13</b>
<b>MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>13</b>
3.1 Antecedentes .....	13
3.1.1 Antecedentes internacionales.....	13
3.1.2 Antecedentes nacionales.....	15
3.1.3 Antecedentes regionales .....	19
3.2 Marco teórico .....	21
3.2.1 Prevalencia.....	21
3.2.2 Diarrea viral bovina.....	21
3.2.3 Epidemiología.....	24
3.2.4 Diagnostico – detección de antígenos virales .....	29
3.2.5 Niveles de exposición según la detección del Ac .....	30



3.2.6 Prevención y control.....	30
3.3 Marco conceptual .....	31
3.3.1 Anticuerpo .....	31
3.3.2 Antígeno .....	32
3.3.3 Persistentemente infectado (PI) .....	32
3.3.4 Reacción antígeno-anticuerpo.....	32
3.3.5 Espectrofotometría .....	32
3.3.6 Densidad óptica.....	32
3.3.7 Suero sanguíneo .....	33
3.3.8 ELISA .....	33
<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>33</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>33</b>
4.1 Tipo y nivel de investigación .....	33
4.2 Diseño de la investigación .....	33
4.3 Población y muestra .....	34
4.4 Procedimiento .....	37
4.4.1 Toma de muestra.....	38
4.4.2 Obtención del suero.....	38
4.5 Técnicas e instrumentos.....	39
4.5.1 Materiales .....	40
4.5.2 Equipos de laboratorio.....	42
4.5.3 Kit de ELISA.....	42
4.5.4 Metodología de ELISA indirecta para detección de Anticuerpos frente al virus de la diarrea viral bovina .....	43
4.5.5 Metodología de ELISA para la detección de antígeno del virus de la diarrea viral bovina	46
4.6 Análisis estadístico .....	48
<b>CAPITULO V .....</b>	<b>50</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>50</b>



5.1	Análisis de resultados .....	50
5.1.1	Determinación de la prevalencia de diarrea viral bovina .....	50
5.1.2	Determinación de la diarrea viral bovina según edad y sexo.....	50
5.1.3	Determinación de la prevalencia de PI.....	52
5.2	Discusión .....	53
5.2.1	Prevalencia de DVB en bovinos del centro poblado Yucay.....	53
5.2.2	Prevalencia de bovinos PI del centro poblado Yucay .....	55
	<b>CAPITULO VI.....</b>	<b>56</b>
	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>56</b>
5.3	Conclusiones .....	56
5.4	Recomendaciones .....	56
	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>47</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>55</b>





## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Operacionalización de variables.....</b>	<b>12</b>
<b>Tabla 2. Bovinos hembras y machos, divididos en tres grupos según edad.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 3. Frecuencia de casos positivos a Ac y de bovinos PI.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 4. Prevalencia Ac de DVB según la edad del animal .....</b>	<b>51</b>
<b>Tabla 5. Prevalencia de casos positivos Ac de la DVB por sexo del animal .....</b>	<b>51</b>
<b>Tabla 6. Frecuencia de bovinos PI según edad.....</b>	<b>52</b>
<b>Tabla 7. Prevalencia de bovinos PI según sexo.....</b>	<b>52</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Mapa de distritos de la Provincia de Urubamba.....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 2. Mapa del centro poblado Yucay. ....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 3,4. Recolección de muestras de sangre en bovinos de Yucay.....</b>	<b>60</b>
<b>Figura 5. Toma de muestra sanguínea.....</b>	<b>60</b>
<b>Figura 6. Toma de muestras sanguínea a vacunos positivos al antígeno.....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 7,8. Muestras centrifugadas .....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 9. Viales rotulados conteniendo las muestras de suero. ....</b>	<b>62</b>
<b>Figura 10. Descongelamiento y homogenización de muestras .....</b>	<b>62</b>
<b>Tabla 11. Distribución de las muestras de bovinos de Yucay, ELISA DVB Ab.....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 12,13. Adición del diluyente y controles a cada pocillo de la placa.....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 14. Adición de la solución STOP.....</b>	<b>64</b>
<b>Figura 15, 16. Dueños de los hatos muestreados .....</b>	<b>64</b>
<b>Figura 17, 18. Dueños de los hatos muestreados .....</b>	<b>65</b>



## INTRODUCCIÓN

En nuestro país la actividad ganadera tiene un gran valor económico y es crucial para el área rural, para la seguridad alimentaria del Perú representa el 40.2% (Valor Bruto de la Producción) VBP y emplea a más de 7 millones de personas. En la última década, la crianza de vacunos experimentó un crecimiento promedio elevado del 3.2 % ubicándose en el tercer puesto después de la avicultura y porcicultura (65).

En el departamento de Cusco la actividad ganadera tiene gran valor económico para familias en las zonas rurales, en el centro poblado Yucay, la mayoría de la crianza de bovinos es de carácter familiar, ya sea para la producción de carne, leche o una combinación de ambas. Sin embargo, también existen granjas lecheras cuyo objetivo es la producción de lácteos y sus derivados los cuales abastecen a todo el Valle Sagrado llegando hasta la provincia de Cusco.

La presencia de enfermedades virales, bacterianas y parasitarias tienen un impacto directo en la productividad y el desarrollo económico de la crianza bovina. Una de estas enfermedades es la DVB, esta patología de origen viral causante de una amplia variedad de síntomas desde infecciones agudas, subclínicas y clínicas (66). Estas manifestaciones clínicas afectan de primera mano a la producción y reproducción bovina originando grandes mermas en producción lechera, disminución en la tasa de fecundación, abortos en hembras gestantes, momificaciones fetales, nacimiento de terneros débiles, persistentemente infectados (PI) y en algunos casos existe incremento en la tasa de



mortalidad de recién nacidos. El vDVB (virus de diarrea viral bovina) se difunde en la ganadería por la presencia de bovinos aparentemente sanos pero que adquirieron la infección congénitamente, a estos se denomina animales persistentemente infectados (PI) (67). Si bien, esta enfermedad no se transmite a los seres humanos, tiene un impacto económico significativo. Por lo tanto, es fundamental identificarla para conocer la prevalencia de la DVB en el centro poblado Yucaj, tomar medidas de control y delimitar su propagación para ayudar a las familias cuya economía está estrechamente ligada a la actividad ganadera.



## RESUMEN

El presente estudio se realizó en el centro poblado Yucay, perteneciente al distrito de Yucay, provincia de Urubamba, departamento del Cusco, la necesidad de conocer la presencia de la enfermedad de DVB en la zona fue la razón para iniciar esta investigación, el objetivo fue determinar la prevalencia de bovinos enfermos de DVB y la prevalencia de bovinos PI. La investigación se realizó con la ayuda del municipio, para la identificación de los animales enfermos se usó la técnica de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) del laboratorio IDEXX para la detección de anticuerpos (Ac), para la detección de los PI se utilizó ELISA para detección *in vitro* del antígeno (Ag) del virus del laboratorio PrioCHECK, la población de bovinos del centro poblado Yucay fue de 104 animales, nuestra muestra fue de 82 animales tanto hembras y machos a partir de los seis meses de edad en adelante divididos en tres grupos (mayores a seis meses, de uno a dos años y mayores de dos años), posteriormente las muestras sanguíneas obtenidas fueron trasladadas al laboratorio de sanidad animal de la UNSAAC para su procesamiento e identificación de los animales positivos a Ac y Ag. Los resultados obtenidos mostraron una prevalencia de DVB del 43,9%, en cuanto a la prevalencia de PI no se halló ningún portador. La asociación de DVB con la edad, se encontró que no existe una relación significativa ( $p>0.05$ ), lo mismo para el sexo. En conclusión, la prevalencia de la enfermedad de DVB en el centro poblado Yucay fue menor al 50% y 0% de PI. No se encontró asociación significativa entre la presencia de la enfermedad y la edad o el sexo de los animales.



*Palabras clave:* prevalencia, diarrea viral bovina (DVB), bovinos persistentemente infectados (PI), ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).



## ABSTRACT

The present study was carried out in the Yucay town center, belonging to the district of Yucay, province of Urubamba, department of Cusco, the need to know the presence of bovine viral diarrhoea disease (BVD) in the area was the reason for starting this study. research, the objective was to determine the prevalence of cattle sick with BVD and the prevalence of PI cattle. The research was carried out with the help of the municipality, to identify the sick animals the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique from the IDEXX laboratory was used for the detection of antibodies (Ac), ELISA was used to detect PIs. For in vitro detection of the antigen (Ag) of the virus from the PrioCHECK laboratory, the bovine population of the Yucay town center was 104 animals, our sample was 82 animals, both female and male, from six months of age onwards, divided into three groups (under one year, one to two years and over two years), subsequently the blood samples obtained were transferred to the UNSAAC animal health laboratory for processing and identification of the animals positive for Ac and Ag. The results obtained showed a prevalence of BVD of 43.9%, regarding the prevalence of PI, no carrier was found. The association of DVB with age, it was found that there is no significant relationship ( $p>0.05$ ), the same for sex. In conclusion, the prevalence of BVD disease in the Yucay population center was less than 50% and 0% PI. No significant association was found between the presence of the disease and the age or sex of the animals.





Keywords: prevalence, bovine viral diarrhoea (BVD), persistently infected cattle (PI), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).



## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción del problema

La diarrea viral bovina (DVB) es una infección viral de distribución mundial desde su primer caso detectado en Estados Unidos en 1946, ha llegado a ser una enfermedad endémica en gran parte de los hatos bovinos ocasionando pérdidas económicas en la producción, dicha enfermedad está relacionada a varias formas clínicas desde una infección imperceptible hasta llegar a la patología llamada enfermedad de las mucosas (68).

Según estudios realizados en Argentina desde el punto de vista económico, se calcula pérdidas millonarias en los tambos que está presente dicha enfermedad en sus animales, afectando directamente la producción láctea, rendimiento reproductivo y aumento en la predisposición de los animales a otras enfermedades; el 2013 se valoró una pérdida anual \$15.651,49 por vaca lechera en su ciclo anual reproductivo (1). Estudios realizados en Chile en rastreo de bovinos PI e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina la prevalencia encontrada fue de un 65% de 238 bovinos muestreados (2). Por otra parte, se encontró una prevalencia del 50 % de DVB en un estudio desarrollado en Cauca, Colombia (3).

En estudios realizados en nuestro país se obtienen similares resultados como, por ejemplo: en Melgar, Puno el  $47.8 \pm 0.1\%$  (166/347) de especímenes obtuvieron anticuerpos neutralizantes contra el vDVB y se halló animales seroreactores en todos los distritos muestreados (4). Así mismo en un estudio de seroprevalencia de DVB en



vacas en la Región de Junín el 16.3 % (25/92) de los especímenes presentaron anticuerpos contra el vDVB (5). En el departamento de Huancayo, Valle del Mantaro se halló anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de productos lácteos (leche) dando como resultado el 72.4% (165/228) de las muestras tuvieron anticuerpos contra el vDVB (6). Servicio Nacional de Sanidad Agraria realizó un proyecto de fortalecimiento y vigilancia zoonosaria de tres enfermedades en todo el Perú (neosporosis, DVB y rinotraqueitis infecciosa) encontrando en Cusco una prevalencia que oscila entre el 2.72% de antígeno al vDVB.

A nivel del departamento de Cusco se hicieron estudios en la provincia de Espinar, donde se encontró una prevalencia del virus de la DVB, hallando un 56.2 % de las muestras positivas a anticuerpos contra el vDVB. Todos los grupos tuvieron especímenes positivos contra el vDVB (7).

En un estudio realizado en Canchis, Cusco, se encontró una seroprevalencia al vDVB y a la EF de 73.7% (28/38) y 76.3% (29/38) en bovinos, respectivamente (8).

De acuerdo con lo expuesto previamente la DVB es una enfermedad que está latente en bovinos tanto hembras como machos de diferentes edades, al no haber estudios previos de prevalencia en el distrito de Yucay, se requiere conocer la presencia de esta enfermedad (positivos al Ac y PI) para tomar medidas de control por parte de la autoridad competente -SENASA.

Por tal razón se quiere conocer la prevalencia de diarrea viral bovina (DVB) y PI en bovinos del centro poblado Yucay, distrito de Yucay.



## 1.2 Enunciado del problema

La enfermedad de diarrea viral bovina y PI es de importancia en la ganadería, puesto que afecta la productividad, desarrollo económico ganadero generando pérdidas a los productores; conocer la prevalencia de esta enfermedad ayudará a plantear medidas de control sanitarias. Por estas razones se determinó la prevalencia de dicha enfermedad.

### 1.2.1 Problema general

¿Cuáles son las prevalencias de la diarrea viral bovina (DVB) y de bovinos persistentemente infectados (PI) en el centro poblado Yucay, distrito de Yucay, Cusco?

### 1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es la prevalencia de diarrea viral bovina (DVB) en bovinos en el centro poblado Yucay?
- ¿Cuál es la prevalencia de bovinos persistentemente infectados (PI) en el centro poblado Yucay?

### 1.2.3 Justificación de la investigación

La diarrea viral bovina tiene un impacto negativo en la productividad y el desarrollo económico de la crianza de bovinos. Esta enfermedad puede resultar en pérdidas significativas en la producción de leche, disminución en la tasa de fecundación, abortos y nacimientos de terneros débiles (66). Realizar esta investigación en el centro poblado Yucay nos permite conocer la existencia de casos positivos, negativos y PI en esta zona y a su vez conocer si el sexo y la edad del animal tienen relación con la enfermedad



(10), de esta manera proporcionar información e implementar medidas de control y prevención a futuro de parte de las entidades encargadas de la sanidad animal en el Perú.

Así mismo, puesto que la ganadería es una actividad importante para la producción de carne, leche o mixta, es una fuente de ingresos vital (8), investigar sobre esta enfermedad en este centro poblado ayuda a proteger los medios de subsistencia de estas familias al proporcionar conocimientos para prevención y control de la enfermedad.

La investigación sobre la diarrea viral bovina en el centro poblado Yucay tiene valor científico al agregar nuevos conocimientos sobre la epidemiología y la forma de transmisión de la enfermedad de un contexto geográfico específico. Los hallazgos contribuirán a la literatura científica y beneficiar a otros investigadores veterinarios y profesionales involucrados en la salud animal.

En resumen, la investigación sobre la diarrea viral bovina en el centro poblado Yucay se justifica por el impacto económico de la enfermedad, la necesidad de tomar medidas de prevención y control por entidades involucradas en la sanidad animal como SENASA, su importancia para las familias y la contribución al conocimiento científico en el campo de la sanidad animal.



## CAPITULO II

### OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### 2.1 Objetivos de la investigación

##### 2.2.1 Objetivo general

Determinar la prevalencia de la diarrea viral bovina (DVB) y de bovinos persistentemente infectados (PI) en el centro poblado Yucay, distrito de Yucay, Cusco.

##### 2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de diarrea viral bovina (DVB).
- Determinar la prevalencia de diarrea viral bovina (DVB) según edad y sexo.
- Determinar la prevalencia de bovinos persistentemente infectados (PI).
- Determinar la prevalencia de bovinos persistentemente infectados (PI) según edad y sexo.

#### 2.2 Operacionalización de las variables



Tabla 1. Operacionalización de variables

	VARIABLE	DEFINICIÓN	OPERACIONALIZACIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR
DEPENDIENTE	Diarrea viral bovina (DVB)	Infección viral en el ganado bovino causada por un pestivirus.	ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas)	Reactivo	$\geq 0,30$
				Positivo a Anticuerpos	
				Dudoso	
	No reactivo	$< 0,20$			
	Persistente e infectados (PI)	Animales que nacen con la enfermedad y son la fuente más importante del contagio del virus	ELISA (Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas)	Reactivo	$\geq 20 \%$
				Positivo a antígenos	$< 20\%$
INDEPENDIENTE	Sexo	Sexo biológico en los seres humanos, el resto de animales y otros organismos	Determinación antes de la toma de muestra	Hembra Macho	Observación y registro de campo.
	Edad	Tiempo que ha vivido un ser vivo contando desde su nacimiento.	Determinación antes de la toma de muestra	De 6 meses a 1 año Mayores de 1 a 2 años Mayor a 2 años	

## CAPITULO III

### MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 3.1 Antecedentes

##### 3.1.1 Antecedentes internacionales

En un estudio realizado en Córdoba, Colombia, cuyo objetivo fue conocer la prevalencia de DVB en ganado bovino se reunieron 150 muestras de suero sanguíneo de hembras, adicionalmente se recolectaron 20 muestras de toros pertenecientes a las fincas. Para obtener los resultados se utilizó una prueba inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) para detectar anticuerpos contra el vDVB. Los resultados obtenidos indicaron que un 29.4% de los animales estudiados fueron positivos frente al virus de la DVB, la investigación también arrojó la influencia del macho con relación a las hembras, esto indicó una dependencia entre la existencia de DVB con relación al sexo del animal. Dicho estudio llegó a la conclusión que la existencia de la infección por el virus podría relacionarse con la infección en machos, lo cual es de importancia, puesto que nos indicaría que la enfermedad es de contagio sexual (10).

En Veracruz, Puebla y Tabasco estados del país mexicano se realizó un estudio de prevalencia en vacunos de anticuerpos contra el virus de la DVB en 421 vacas no vacunadas. El método fue el siguiente, se obtuvieron muestras de suero sanguíneo con un intervalo de tres meses y medio a cuatro meses, la presencia de anticuerpo (Ac) se halló mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). En el muestreo inicial la prevalencia varió de 25 a 85 % entre Puebla y Tabasco, mientras que en el segundo muestreo los resultados fueron 15 a 85.9 %. En el primer muestreo, la

13





prevalencia tuvo un cambio de 9.1 a 95% entre ranchos, mientras que al segundo varió de 5 a 95 llegando a la conclusión, primero Veracruz mostró superior prevalencia que Puebla y Tabasco; segundo, el 100% de los hatos dieron positivos a anticuerpos contra DVB, lo que indica que la distribución es alta en los estados de estudio; tercero, se halló gran variación en la prevalencia entre ranchos y ayuntamientos, siendo cercana al 100% en varios casos (11).

En Argentina se estudió la prevalencia del virus de diarrea viral bovina en 11 distritos del sureste de la provincia de Buenos Aires con un total de 2.936 muestras, 1.184 sueros bovinos de siete distritos del sur de la provincia de Corrientes y 1.290 sueros de nueve distritos de Los Llanos de la Rioja, los ejemplares se dividieron en tres rangos: A, bovinos de 6 – 12 meses; B, de 1 – 2 años de edad y C, mayores de los 2 años. Al sureste de Buenos Aires la prevalencia de vDVB fue 41.9 % para la categoría A y 90.7 % para la categoría C, para el sur de Corrientes fue 25.6 %, en los Llanos de la Rioja en bovinos de la categoría B, fue de 45,6 % y en la categoría C fue de 48,6 %. Los resultados indicaron la relación entre los mencionados sistemas de producción y la tasa de las infecciones virales en estos tres lugares de estudio (12).

En un estudio realizado en los municipios de Pedraza y Barinas, Venezuela, entre mayo y noviembre del 2007, se buscó determinar la frecuencia de diarrea viral bovina en ganado lechero no vacunado. Se utilizaron pruebas de ELISA para detectar anticuerpos específicos contra el virus de la DVB en muestras de suero y se examinó la presencia de anticuerpos y el sexo, edad y el número de partos utilizando pruebas estadísticas, de las 353 muestras analizadas, se encontró 223 muestras positivas para anticuerpos del



virus, lo que indica una alta prevalencia de 63.2%, no se encontraron diferencias significativas en la proporción de animales seropositivos entre los dos municipios evaluados. Tanto hembras como machos presentaron tasas similares de seropositividad, lo que sugiere que el sexo no está relacionado con la infección viral. Sin embargo, se observó que la seropositividad aumentaba con la edad y el número de partos. Esto indica que los animales de mayor edad y aquellos que tuvieron más partos tienen una mayor probabilidad de ser seropositivos. La presencia de actividad viral en la zona y un manejo inadecuado de los animales se identificaron como factores que contribuyen a la propagación de la enfermedad (13).

### 3.1.2 Antecedentes nacionales

En el departamento de Arequipa, se realizó un estudio de prevalencia de animales PI y animales positivos al vDVB, el objetivo de la investigación fue hallar la prevalencia del virus y animales PI, en vacunos en etapa productiva, dicho estudio se realizó en tres periodos. En el primer periodo se muestro de leche de porongos de 204 hatos seleccionados con el fin de conocer la prevalencia de anticuerpos contra vDVB, en el segundo periodo se realizó con suero sanguíneo de 286 animales, el tercer periodo se realizó con suero sanguíneo de 20 animales que pertenecían a los grupos de riesgo de los hatos que tuvieron al menos un animal PI en el segundo periodo. Los resultados en el primer periodo fueron los siguientes: se encontraron 200 animales positivos a anticuerpos frente al virus, manifestando una prevalencia de 98.04 %. En el segundo periodo se encontró 135 animales positivos y 151 negativos a anticuerpos contra el virus, de estas muestras negativas se encontró 4 animales PI, en el último periodo se



colectaron 20 muestras de terneras y vaquillas de los tres hatos donde se habían detectado los primeros PI, obteniendo como resultado 6 animales PI (14).

En Ayacucho en los distritos de Chumpi, Caracora y Pullo; estudió la prevalencia de Ac frente al virus de la diarrea viral bovina en ganado bovinos de crianza extensiva; se procesaron 460 muestras de muestras hematológicas de hembras y machos mayores a cuatro meses, las muestras fueron analizadas mediante un kit de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) indirecta. Los resultados obtenidos fue el 82.56% de los ejemplares presentaron Ac frente el virus, en Pullo la mayor prevalencia corregida 89.74 %. La alta prevalencia hallada indica una extensa distribución de la enfermedad (15).

Se llevo a cabo una segunda investigación en Arequipa con el objetivo de identificar terneros con infección congénita del virus en dos establos lecheros de crianza intensiva ubicados en Vitor y Santa Rita de Siguas. En el primer establo se tomaron muestras a 36 terneros, mientras que en el segundo establo se muestrearon a 95 en la misma etapa reproductiva (recién nacidos a 6 meses). Los resultados revelaron que solo se encontró un ternero persistentemente infectado en el primer establo, en el segundo establo no se detectaron terneros portadores de la enfermedad, a pesar de que se muestrearon más animales que en el primer establo. Se reveló la presencia de animales PI en establos de crianza intensiva (32).

En el valle de Jauja ubicado en el departamento de Junín se estudió la prevalencia de diarrea viral bovina en hatos productores de leche en cuatro provincias, también se detectó la existencia de animales PI, para lo cual se recolectaron 25 muestras sanguíneas de 37 hatos, se obtuvieron los siguientes resultados: la prevalencia muestral de DVB



para las cuatro provincias fue de 66.3 % y la prevalencia/hato de 64.8%, Concepción fue la provincia con mayor prevalencia muestral de 75.2% y prevalencia por hato de 75.5%, la provincia con menor prevalencia fue Huancayo con 48.3 % y 52.3% de prevalencia por hato. La prevalencia en PI en los cuatro lugares de estudio fue de 5.8% y los factores de riesgo para la presentación de dicha enfermedad fue el sistema intensivo y existió asociación positiva entre altas prevalencias de DVB con la presencia de vacas con abortos y nacimientos atípicos (16).

La seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina realizado en ganado productor de leche cuya crianza era intensiva del valle de Lima se obtuvieron 311 muestras de ganado vacuno mayor a los 6 meses de edad, en total 12 hatos sin precedentes de vacunación contra dicha enfermedad, el rastreo de Ac fue realizada mediante la prueba de neutralización viral, en 174 de 311 muestras se hallaron anticuerpos contra el vDVB y cinco del total de hatos muestreados no contaron con animales positivos. Los resultados indicaron que el vDVB está extendido en el valle de Lima, no obstante, hay presencia de hatos sin presencia infección lo cual indica una prevalencia viral baja (17).

En Majes, Arequipa, se halló la prevalencia de PI y del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero, el estudio se dividió por periodos, en el primer periodo se recolectó una muestra por hato de 204 porongos de leche para el rastreo de anticuerpos por la prueba de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA indirecta). El segundo periodo se seleccionó de forma arbitraria a 57 hatos con anticuerpos frente al vDVB cuyas densidades ópticas (DO) eran iguales o mayor a 0.900, en este periodo se colectaron 286 muestras de suero para conocer el estado serológico y hallar PI mediante la prueba de



ensayo de ELISA indirecta y de captura, correspondientemente. En el tercer periodo se obtuvo muestras de suero sanguíneo del total de 20 terneras y vaquillas de tres hatos que presentaron animales PI con el fin de encontrar más animales PI. El 98% (200 de un total 204 muestras) salieron positivas a anticuerpos contra el vDVB. De las 286 muestras de suero pertenecientes a los 57 hatos, el 47.2% tuvieron anticuerpos contra el vDVB; asimismo, en el grupo de animales seronegativos se detectaron cuatro (2.7%) animales PI pertenecientes a tres de los 57 hatos seleccionados. En los animales de riesgo de los tres hatos ( $n = 20$ ), se localizaron a otros dos animales PI, dando un total de seis; además, estos seis animales no presentaron anticuerpos contra el vDVB. Se llegó a la conclusión que los resultados muestran una extensa distribución del virus en la población bovina de los hatos muestreados; así mismo, se corroboró la presencia de animales PI, para determinar la detección de anticuerpos se puede realizar con muestras de leche y suero, pero no la detección de antígenos (18).

En el año 2010, SENASA llevo a cabo un estudio a nivel nacional con el fin de conocer la situación de tres enfermedades. Uno de los enfoques del estudio fue conocer la presencia del antígeno de la DVB en el ganado bovino. La investigación se llevó a cabo en bovinos mayores de dos años provenientes de explotaciones lecheras y de doble propósito, un total de 4580 muestras de suero sanguíneo fueron analizadas en todo el país. Los resultados revelaron que seis departamentos (Pasco, Tumbes, Ica, Loreto, Arequipa y Moquegua) no presentaron casos positivos al antígeno (Ag) del virus. Por otro lado, en los departamentos de Cusco 0.24%, Junín 2.34% y Lima- Callao 1.01% se encontraron casos positivos, los departamentos con una mayor prevalencia fueron Lambayeque con un 10.95%, Piura con un 8.14% y Tacna con 5.66% (77).



### 3.1.3 Antecedentes regionales

En la provincia de Calca se realizó una investigación para detectar la frecuencia de tres enfermedades (virus respiratorio sincitial, parainfluenza-3, y diarrea viral bovina) en un rebaño de crianza mixta de una comunidad, se colectaron muestras de sangre de 66 bovinos, 21 alpacas y 152 ovinos adultos todos aparentemente sanos, el objetivo fue detectar anticuerpos contra las enfermedades mencionadas mediante la prueba de neutralización viral obteniendo los siguientes resultados: anticuerpos contra el virus de la parainfluenza-3, virus respiratorio sincitial y vDVB fue de 81.8, 87.8 y 90.0% en ganado bovino, de 50.0, 49.3 y 28.3% en ganado ovino y de 23.8, 4.7 y 15.8% en alpacas. Los rangos de los títulos de anticuerpos oscilaron entre 2 a >256. En bovinos se detectaron títulos mayores a 256, seguidos del ganado ovino. Los resultados muestran que los virus mencionados están en los rebaños de crianza mixta y se les puede atribuir un rol de forma primaria en la presentación de enfermedades respiratorias que se presentan en el hato (19).

Cusco, en la provincia de Espinar se detectó la prevalencia de animales positivos al antígeno del virus y positivos a anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina en bovinos mayores a seis meses de edad tanto hembras y machos siendo un total de 406 animales que pertenecientes a criadores de tres comunidades en la cuenca de Ccañipía, la recolección de muestras sanguíneas se realizaron en tres grupos, el primer grupo de 6 a 12 meses, segundo grupo de 13 a 23 meses y tercer grupo mayores a 2 años de edad, la detección de Ac se realizó mediante la prueba de neutralización viral. El 56.2 % de



las muestras mostraron existencia de Ac contra el vDVB. No se encontraron animales positivos al antígeno del virus. En los tres grupos etarios se encontraron anticuerpos frente al virus, sin embargo, el 65.4% de seropositivos estuvieron en el grupo de mayores a 2 años. El 51.3% de los toros jóvenes y el 39% de los adultos dieron positivos a anticuerpos contra el vDVB. Los títulos de Ac variaron entre 2 a > 256. En animales de 13 meses a mayores de 2 años de edad el 42.1% tuvieron títulos entre 128 a >256. El 86.8% de los criaderos al menos tuvo un animal seropositivo al virus de la DVB (20).

En la provincia de Anta, Cusco, se identificó a animales PI y a su vez el genotipo del virus de la diarrea viral bovina en bovinos de cinco distritos de la provincia, en un estudio previo los bovinos (58) resultaron negativos a anticuerpos, la identificación de los portadores se realizó en bovinos de raza Holstein, Brown Swiss y criollos hembras de seis meses a cinco años de edad, la prueba que se utilizó fue ELISA de captura. El genotipo viral fue identificado de cuatro muestras de animales PI por la prueba de RT-PCR en tiempo real. En un primer análisis el 7.2% de los bovinos fueron positivos antígeno viral. El segundo muestreo fue realizado después de un mes del primero, en los 40 animales positivos continuaron dando positivo al antígeno viral indicando que eran animales PI estos bovinos era de cuatro distritos de los cinco de estudio. Se obtuvieron 2.2% de prevalencia de animales PI y la prueba RT-PCR en tiempo real demostró la amplificación del genotipo-1 (vDVB-1), no hubo amplificación de la secuencia del genotipo-2 (21).



## 3.2 Marco teórico

### 3.2.1 Prevalencia

La prevalencia es una proporción que indica el número de individuos que, en relación con la población total, padecen una enfermedad determinada en un momento específico. Como todas las proporciones no tienen dimensiones y nunca puede tomar valores menores de 0 o mayores de 1. A menudo, se expresa como casos por 1000 o 100 habitantes, si los datos se han recogido en un momento o punto temporal dado (22). La prevalencia aumenta como resultado de una mayor persistencia de la enfermedad, el prolongamiento de tiempo de vida de un animal enfermo sin ser detectado, introducción y migración de animales nuevos a la zona. En síntesis, la prevalencia depende de muchos factores y no suele dar pruebas claras de causalidad, no obstante, las estadísticas de prevalencia son beneficiosas para el planeamiento de medidas de prevención, control y planificación de la atención sanitaria. (78)

### 3.2.2 Diarrea viral bovina

#### 3.2.2.1 Virus de la diarrea viral bovina

Es una de las infecciones con mayor relevancia en bovinos, este patógeno tiene una vasta distribución mundial y es endémico en la mayor parte de hatos bovinos, así también ocasiona pérdidas económicas mayormente de origen productivo (23). El virus de la DVB fue aislado en 1957 de un caso de enfermedad de las mucosas, la cual ocasionaba cambios en la morfología de los cultivos celulares; también se halló una cepa





no citopática (NCP) en casos persistentes de enfermedad de las mucosas (EM), sin embargo, esto no induce a alteraciones morfológicas (24).

### 3.2.2.2 Patogénesis de la DVB y de la EM

En la década de los 60s se llega a la conclusión que esta enfermedad es una afección principalmente enzoótica de baja mortalidad y elevada morbilidad en animales adultos y jóvenes, en contraste, la EM afectaba animales jóvenes, con una morbilidad baja, pero con una mortalidad del 100% (25).

“En estudios de forma experimental en hembras gestantes los resultados fueron abortos, malformaciones congénitas, terneros congénitamente infectados y que mayormente morían en los primeros meses de vida, así como casos de algunos animales que presentaban de forma crónica la EM, sin presencia de anticuerpos específicos contra el virus de la DVB” (26).

Las vacas positivas y negativas que fueron inoculadas de forma experimental entre los 42 y 125 días de gestación parieron crías clínicamente sanas, pero, con infección persistente (PI) y fueron negativos a anticuerpos frente al vDVB, sin embargo, estas crías fueron capaces de adquirir y desarrollar anticuerpos contra otros agentes virales, definiendo que el feto desarrollaba una tolerancia específica al vDVB si la infección ocurría antes de los 125 días del desarrollo fetal (27). “Los estudios experimentales también probaron la gran capacidad del virus de traspasar la placenta y ocasionar abortos, pero solo la cepa NCP fue asociada con la inducción de la inmunotolerancia” (28).



### 3.2.2.3 Morfología

El vDVB es de pequeño tamaño con un diámetro de 40 – 60 nm, está compuesta por una cápside icosaédrica de naturaleza proteica y una envoltura lipídica externa (29). En su interior se encuentra la cadena de ácido ribonucleico, compuesta por una cadena simple (69).

### 3.2.2.4 Biotipos

El vDVB presenta dos biotipos: biotipo citopatogénico (CP) y biotipo no citopatogénico (NCP), ambos biotipos causan la enfermedad de la DVB con los signos característicos (30). El biotipo NCP, que no causa algún daño observable *in vitro*, se obtuvo del aislamiento de casos de infecciones agudas y está presente en animales PI (31). El biotipo CP causa lesiones en cultivo celular y surge del biotipo NCP por recombinaciones en el ARN de la célula hospedera o de otros virus, debido a esto ambos biotipos son molecularmente diferentes, pero inmunológicamente similares (76).

### 3.2.2.5 Genotipos

Existen dos diferencias en el genoma viral: el vDVB 1 y el vDVB 2, su importancia se encuentra en las diferencias biológicas, en vacunos adultos ambos genomas conllevan a una infección aguda de tipo subclínica, hay diferencias significativas entre ambos genotipos. Los primeros genotipos vDVB 2 caracterizados fueron aislados de animales PI nacidos de madres inoculadas con vacunas de vDVB 1 (33).



### 3.2.3 Epidemiología

#### 3.2.3.1 Fuentes de infección

Los PI son la fuente primordial de propagación y contagio del virus, debido a que estos animales mediante sus secreciones (nasales, salivales, leche, orina, y semen) eliminan el virus durante toda su vida, pudiendo infectar en unos meses al 90 % del ganado que este en contacto con los PI. Las infecciones agudas también son fuente de contagio, aunque de inferior relevancia, esto se debe al breve tiempo de permanencia de los mismos (6 días) y a la inferior cantidad de virus expulsado (34).

Además. El vDVB podría presentarse en otras especies como camélidos, caprinos, búfalos, rumiantes silvestres y ovinos, debido a que los *pestivirus* cruzan la barrera de especies (38).

#### 3.2.3.2 Formas de transmisión

#### 3.2.3.3 Transmisión horizontal

La transmisión horizontal ocurre por contacto de un animal infectado con uno susceptible por contacto directo con las secreciones como la orina, saliva heces, descarga oculonasal, secreción vaginal, fetos abortados y placentas (39). También puede ocurrir por el semen de bovinos que se encuentren en fase aguda o que sean PI, tanto por inseminación o monta natural (40).



### 3.2.3.4 Transmisión vertical

Ocurre cuando una madre PI contagia el virus a su cría, o cuando una madre sana se contagia mientras está preñada y origina un feto PI. (34) De esta manera se pueden contagiar generaciones familiares sucesivas de animales PI, los que llegando a la madures sexual se reproducen y continúan con la transmisión del virus (41). También la transferencia de hembras PI es una forma de trasmisión vertical (42).

### 3.2.3.5 Desarrollo clínico y patogenicia

Las infecciones por este virus abarcan cuadros desde una infección aguda transitoria (infección ligera o inaparente), hasta la EM la cual es fatal para el animal (43). El vDVB posee tropismo universal por tejidos del cuerpo animal induciendo a una variedad de signos clínicos, por ejemplo, las manifestaciones clínicas de las infecciones por *pestivirus* dependerán del estado de salud del hospedero, su estado reproductivo, cepa del virus y la presencia de patógenos secundarios. Los síntomas involucrarán al sistema respiratorio, gastrointestinal, reproductivo, inmunitario y sistema nervioso central, cuando afecta al sistema nervioso e inmunitario genera cuadros que van desde una infección subclínica a una infección mortal (44, 45).

### 3.2.3.6 Infecciones subclínicas

En su mayoría las infecciones son subclínicas, con leves signos, elevada morbilidad y baja mortalidad (40). Clínicamente la infección aguda puede ser inaparente, aun cuando se tiene conocimiento que el principal causante de enfermedades respiratorias es vDVB en terneros (44).



### 3.2.3.7 Infecciones agudas

En su mayoría son causadas por cepas NCP (40); en la sintomatología clínica se observa depresión, anorexia, descarga oculonasal, estomatitis erosiva, gastroenteritis y diarrea, también se puede presentar ooforitis e infertilidad (46).

En hatos vulnerables hay elevada morbilidad con escasa o nula mortalidad. Los anticuerpos se generarán a las 3 o 4 semanas y pueden prevalecer por años (40, 46, 47)

### 3.2.3.8 Diarrea viral severa

La infección con vDVB 2 NCP origina una severa enfermedad clínica, la cual en un principio fue llamada Síndrome Hemorrágico por el sangrado observado en algunos animales infectados, en la actualidad es llamada DVB Severa Aguda (DVB SA) caracterizada por una prolongada pirexia llegando a mayor a 41°C por tres o más días, anorexia, diarrea sanguinolenta, hemorragias petequiales y equimóticas, hemorragias en varios sistemas, epistaxis, anemia, leucopenia, trombocitopenia, llegando hasta la muerte en animales jóvenes como adultos (76, 33). Todas las cepas DVB SA aisladas han pertenecido al biotipo NCP (33).

### 3.2.3.9 Infecciones en hembras gestantes

Las infecciones en vacas gestantes preñadas son usualmente subclínicas, aunque no se descarta una alta probabilidad transplacentaria del virus hacia el embrión, esto genera respuestas que van desde abortos, nacimiento de terneros de pequeño tamaño y débiles con o sin deformidades congénitas, hasta el nacimiento de terneros clínicamente sanos,



el factor predominante es la edad del embrión o feto al momento en que ocurre el contagio y también influye el estado inmunológico de la madre (48).

La hembra que se infecta poco después de la fertilización generalmente presentará repetición de celo o muerte embrionaria (49). El embrión no será afectado sino hasta perder la zona pelúcida de la placenta generando malformaciones futuras. La replicación viral en el oviducto altera la función de soporte en el desarrollo embrionario (50).

Hacia el día 125 de gestación el feto adquirirá inmunocompetencia, una infección adquirida antes de este periodo resultará en momificaciones, muerte de fetos y abortos meses después, si el virus pertenece al biotipo NCP se puede generar un ternero persistentemente infectado inmunotolerante (51).

Posterior de los 125 días hasta los 175 días de preñez los fetos pueden mostrar defectos congénitos como microcefalia, hipomielogenesis, hipoplasia cerebelar y pulmonar, macroftalmia, degradación de retina, caída de pelo, hipotricosis, retraso en el crecimiento y malformaciones en el esqueleto (48). Esto puede haberse generado por el virus que ha causado daño celular directo o también el mismo sistema inmune fetal que genera destrucción indirecta (51, 52).

La infección posterior al día 175 de gestación deriva en el nacimiento de terneros seropositivos. (48).

### **3.2.3.10 Infecciones persistentes**

“El ternero PI nace cuando la madre se infecta con el biotipo NCP entre los 18 y 125 días de preñez, en este periodo el virus será reconocido como propio por el cuerpo del



feto ocasionando inmunotolerancia y persistencia” (53). No se conoce un lapso exacto de tiempo en que ocurre la persistencia, de manera experimental se crearon terneros PI y el 86 % de los que terneros que nacieron fueron de hembras infectadas el día 18, también se experimentó en los días 30 y 75 dando como resultado 100 % de los terneros PI. Posteriormente del día 100 es rara la presentación de terneros PI, sin embargo, se conocen casos positivos hasta el día 125 (40).

Los terneros PI son enormemente permisibles a la infección y quedaran infectados por el resto de su vida convirtiéndose en los principales focos de infección y a su vez siendo la causa de nuevos brotes de la enfermedad (44).

### **3.2.3.11 Enfermedad de las mucosas (EM)**

La EM deriva de DVB que se manifiesta en animales PI que son infectados con un biotipo CP, semejante al NCP que ya habían adquirido, produciendo cambios espontáneos dentro del mismo animal portador, estos cambios fueron reconocidas en primer lugar como recombinaciones de ácido ribonucleico celular del hospedero con el ácido ribonucleico viral y como recombinaciones del ácido ribonucleico viral con si mismo; en este último caso se encontraron fragmentos adicionales de ácido ribonucleico en el genoma del virus y se manifestaron proteínas con características similares al vDVB CP (54).

Si el feto es infectado en los primeros 4 meses con un vDVB NCP nacerá como PI inmunotolerantes al virus, después en algún momento de su vida es infectado con un biotipo CP u ocurre una mutación del ARN del virus NCP creando un virus CP, debido a esto el sistema inmune del hospedero no genera una respuesta frente al virus CP debido



a que sus proteínas estructurales son antigénicamente semejantes al NCP que residía en el cuerpo del animal, el virus se extiende en el hospedero causando daño progresivo en el tejido linfóide del intestino y necrosis de la mucosa subyacente causando que el bovino presente diarreas, sufra de deshidratación y por último generando la muerte por EM (54).

La forma aguda esta enfermedad afecta animales entre los 6 meses y 2 años generando una alteración como mínimo del 5% del hato, la forma clínica se caracteriza por depresión, debilidad, falta de apetito, piroxia, deshidratación y desgaste de la mucosa gastrointestinal. Posterior a las dos semanas de que se manifiesten estos signos clínicos ocurre la muerte del animal (55).

### **3.2.4 Diagnostico – detección de antígenos virales**

#### **3.2.4.1 ELISA de captura de antígenos**

Existen varios kits comerciales de ELISA de captura de antígeno, estos kits se basan en el uso de anticuerpos monoclonales (AcM) que reconocen distintos determinantes antígenos localizados en la proteína (p80) no estructural NS- 3 altamente conservada del vDVB. En general estas pruebas presentan sensibilidad de 95 % y especificidad de 100 % (56).

#### **3.2.4.2 Ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA)**

Esta prueba se utiliza en la determinación de anticuerpos de la enfermedad estudiada y tiene una serie de ventajas sobre la neutralización viral (VN). Los tipos de ELISA más usados en la detección de anticuerpos son ELISA de bloqueo e indirecta. En la prueba





indirecta la unión de enzima- sustrato genera la coloración, la indicará la cantidad de anticuerpos que hay en cada muestra de suero sanguíneo. La prueba de ELISA de bloqueo, estos anticuerpos evitarán la coloración por lo que la muestra tendrá más anticuerpos cuando la coloración sea más pálida (56).

### **3.2.5 Niveles de exposición según la detección del Ac**

Según el estudio realizado el 2020 por Brownlie J. Thompson I, Curwen A., señalan la siguiente clasificación: 5-25% de vacas lecheras seropositivas expresarían un bajo nivel de exposición, de 25-65% un nivel moderado de exposición reflejando una fase temprana de infección aguda del rebaño indicando que estos rebaños podrían estar en una fase de transición; > 65% los niveles altos de anticuerpos una infección reciente o activa .(83)

### **3.2.6 Prevención y control**

Hay diferentes tipos de prevención y control, sin embargo, la mayoría coincide en la erradicación de los PI en caso de identificarlos en el hato, las estrategias variaran de acuerdo del estado sanitario de cada hato y con previa evaluación de la situación sanitaria (57).

En hatos infectados lo primero será identificar y descartar a los animales PI para poder romper de esta manera el ciclo de vida del virus (62). En los países Bajos se implementó un programa de monitoreo simultaneo de RT- PCR en el pool de leche y ELISA de captura en sangre completa y suero con lo que mejoraron los diagnósticos. El programa también cuenta con Quick Scan, el cual consiste en la combinación de tres pruebas: RT-



PCR y ELISA indirecta en pool de leche, y ELISA indirecta en cinco terneros de 8 a 12 meses de edad, con lo que obtienen una indicación de la prevalencia de la enfermedad en el hato y la detección de animales PI (58).

### **3.2.6.1 Identificación de animales PI**

Los animales PI o persistentemente infectados son la fuente más importante del contagio del virus por lo que su detección y eliminación es una acción importante en el control del virus (59).

Las edades en la que los animales son más susceptibles y grupo de riesgo son entre los 6 a 24 meses de edad (44).

### **3.2.6.2 Vacunación**

La vacuna contra vDVB no ha sido específica para lidiar la infección intrauterina, sino como método preventivo de la forma clínica y salud de los animales. La vacunación sin el descarte de animales PI no produce mejora sobre la situación epidemiológica en el hato. Para lograr un programa de vacunación exitoso es necesario aplicar la vacunación a una escala regional o nacional en lugar de hatos individuales (60).

## **3.3 Marco conceptual**

### **3.3.1 Anticuerpo**

Tipo de inmunoglobulina creada por las células plasmáticas (leucocitos) como respuesta a un antígeno generando una respuesta inmunitaria específica (70).



### 3.3.2 Antígeno

Sustancia ajena al cuerpo que genera la producción de anticuerpos desencadenando una respuesta inmune en el organismo (70).

### 3.3.3 Persistentemente infectado (PI)

Un animal persistentemente infectado por el virus de la DVB es un animal en el que se ha aislado el virus de la DVB en los leucocitos de sangre periférica o en suero en dos ocasiones separadas por tres semanas como mínimo, y sin anticuerpos contra el virus (71).

### 3.3.4 Reacción antígeno-anticuerpo

Es la unión de Ag- Ac y sucede cuando un antígeno es reconocido por un anticuerpo para neutralizarlo o destruirlo, la reacción se diferencia por la rapidez, especificidad, espontaneidad y reversibilidad (72).

### 3.3.5 Espectrofotometría

Es el procedimiento que hace posible medir la cantidad de luz que es absorbida por una sustancia teniendo en cuenta una longitud de onda (73).

### 3.3.6 Densidad óptica

En términos prácticos la densidad óptica es una medida que nos indica el desarrollo de color en un pozo determinado, esta medida sólo es utilizada para los controles del kit.” La DO de una muestra es un dato sin valor para el diagnóstico (74).



### 3.3.7 Suero sanguíneo

Constituyente de la sangre que resulta después de haber eliminado glóbulos blancos, rojos y el fibrinógeno (75).

### 3.3.8 ELISA

Es un ensayo utilizado ampliamente para cuantificar anticuerpos o antígenos, que pueden ser proteínas, glicoproteínas en muestras de origen biológico. Similar a otros métodos inmunológicos, su funcionamiento se basa en la interacción entre anticuerpos y sus objetivos, lo que facilita su detección. Se utilizan diversos tipos de muestras, como leche, suero, plasma, sobrenadantes de cultivos celulares, saliva y orina, en los inmunoensayos más usados dependiendo de la necesidad están el ELISA indirecta, directa, por competencia y sándwich (77).

## CAPITULO IV

### METODOLOGÍA

#### 4.1 Tipo y nivel de investigación

La presente investigación es básica y de nivel inferencial basado en la metodología de investigación de Sampieri (82).

#### 4.2 Diseño de la investigación

El diseño fue no experimental porque no se manipulan variables y de corte longitudinal (82). Las muestras fueron recolectadas de un total de diecisiete hatos, incluyendo la granja escuela Yucay, los bovinos muestreados fueron en total 62 hembras y 20 machos,



entre las edades de seis meses a un año, mayores de un año a dos años y mayores de dos años como lo muestra la siguiente tabla

*Tabla 2. Bovinos hembras y machos, divididos en tres grupos según edad.*

	<b>Hembras</b>	<b>Machos</b>	<b>Total</b>
<b>De 6 meses a 1 año</b>	12	4	16
<b>Mayores de 1 a 2 años</b>	14	10	24
<b>Mayores de 2 años</b>	36	6	42
<b>Total</b>	62	20	82

Al terminar la recolección se procedió a transportarlas al laboratorio de Sanidad Animal de la UNSAAC para la separación del suero, congelamiento de las muestras hasta su posterior procesamiento para la detección Ac y Ag de la DVB mediante los dos kits de ELISA y conocer la prevalencia de la enfermedad.

#### 4.3 Población y muestra

La población de ganado para el centro poblado Yucay, del distrito del mismo nombre fue de 104 animales, para el cálculo del tamaño muestral el nivel de confianza es de 95% y error de precisión 0.05, mediante el método no paramétrico de muestreo simple al azar (61).

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

$$n = \frac{104 * 1.96^2 * 0.5 * 0.5}{(104 - 1) * 0.05^2 + 1.96^2(0.5 * 0.5)}$$

$$n = 82.01$$

Donde:

N: tamaño de muestra

p: animales positivos al vDVB 0.5

q: animales negativos al vDVB 0.5

Z: 1.96 nivel de confianza que se da a la muestra

#### a) Localización del estudio

El trabajo de investigación se desarrolló en el centro poblado Yucay, en el distrito de Yucay, uno de los siete distritos que conforma la Provincia de Urubamba, ubicado en el departamento del Cusco, bajo la administración del Gobierno Regional del Cusco (9).

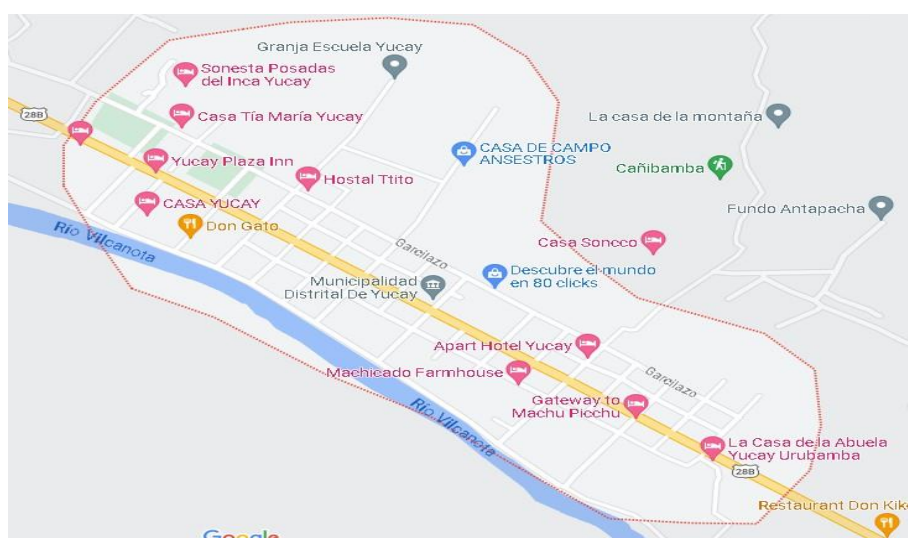
El centro poblado Yucay situado en pleno centro del Valle Sagrado de los Incas, colinda por el norte con el distrito de Urubamba, por el Sur con el distrito de Huayllabamba, por el Sureste con la provincia de Calca; a 78 km al noreste de la ciudad del Cusco, está compuesto por 17 centros poblados: Yucay, San Juan, Puma Marca, Huachac Molino, Cuyoc Fabrica, Concha Huila, California, Antapacha, Ticllabamba, Quishuarpata, Paraccaypata, Granja Salesnos, Conchapallana, Carmelita y Apoquencha (79). Está situado a 2 858 msnm sobre la orilla derecha del río Wilcamayu donde se ubica el centro poblado Yucay, con una latitud de 13° 19' 6" al Sur, longitud 72° 5' 14" al Oeste. Su



clima está marcado por dos temporadas: lluvias y sequía. La estación húmeda ocurre entre los meses de noviembre hasta abril (9).



*Figura 1. Mapa de distritos de la Provincia de Urubamba*



*Figura 2. Mapa del centro poblado Yucay.*

#### 4.4 Procedimiento

Desde el mes de agosto del año 2022 se realizaron trámites en el área de Medio Ambiente de la Municipalidad de Yucay, el objetivo fue que nos permitan acceder a los productores de ganado bovino con mayor facilidad y realizar la toma de muestra sanguínea.

- i. El presente estudio se llevó a cabo en 4 etapas en el centro poblado Yucay, la primera etapa fue la coordinación con el área de Medio Ambiente de la Municipalidad de Yucay, la cual nos permitió acceder con mayor facilidad a los productores ganaderos de la zona y a la vez localizar los hatos donde se recolectaron las muestras sanguíneas, posterior a ello se procedió a fijar las fechas y el horario de la recolección.
- ii. En la segunda etapa se realizó la toma de muestra sanguínea de 82 animales para la detección de casos positivos a Ac del virus empleando el kit de ELISA indirecta para su detección, hallando un total de 36 muestras y 46 muestras negativas a Ac del virus.
- iii. La tercera etapa consistió en encontrar a los animales PI, las 46 muestras que dieron negativo a Ac del virus de DVB en la etapa anterior fueron procesados por un segundo kit de ELISA, la cual nos permitió encontrar el antígeno del virus en 20 muestras.
- iv. La cuarta etapa consistió en tomar una segunda muestra de sangre a los animales positivos a Ag del virus (19 muestras, no se pudo realizar el muestreo a los 20 animales ya que uno de ellos fue vendido antes de nuestra llegada), este segundo





muestreo se realizó después de 21 días de la primera toma de muestra de sangre usando el kit de ELISA para la detección de Ag del virus, teniendo como resultado ningún PI.

- v. Para finalizar, después de la obtención de resultados se procedió a informar a cada propietario.

#### **4.4.1 Toma de muestra**

Las muestras de suero sanguíneo fueron tomadas de bovinos que superaban los seis meses de edad de 17 hatos del centro poblado Yucay, estas muestras fueron obtenidas mediante venopunción de la vena coccígea, para realizar este procedimiento se desinfectó la zona con alcohol para luego ser recolectada la sangre en tubos vacutainer rotulados con datos del animal, para luego ser trasladados al laboratorio en un cooler con baterías de hielo donde se procesaron.

#### **4.4.2 Obtención del suero**

Para la obtención del suero, las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 10 minutos para separar el suero sanguíneo de las plaquetas (tiempo y velocidad estimado por el mismo laboratorio usando el método de conversión de fuerzas g (RCF) a revoluciones por minuto (rpm)) (80), posteriormente el suero fue puesto en viales de 3 ml rotulados e identificados con el código del animal para ser congelados a -20 °C (81) hasta el día de su procesamiento por el método de ELISA para la detección de anticuerpos y antígenos frente al vDVB.



#### 4.5 Técnicas e instrumentos

**i. Kit de ELISA para la detección de anticuerpos frente al virus de la diarrea viral bovina – Laboratorio IDEXX**

El kit IDEXX BVDV Total Ab es un inmunoensayo enzimático indirecto para la detección de anticuerpos específicos de vDVB en muestras de leche, plasma y suero. El ensayo es una técnica de ELISA indirecta donde se utilizarán placas con múltiples pocillos, los cuales tienen adherido a la base el antígeno del virus. Los anticuerpos que estén en la muestra sanguínea se unirán al antígeno de la placa. Los anticuerpos que no se unan serán eliminados durante los lavados. La unión antígeno-anticuerpo se detectará por el conjugado, el sobrante se desechará por el lavado de la placa para luego añadir sustrato/cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato reaccionará con el cromógeno y generará una coloración azulada en los pocillos. Al agregar la solución frenada se detendrá la reacción y se generará un color ámbar. La absorbancia se medirá en un espectrofotómetro. “El cociente M/P de las muestras se calculará usando la absorbancia de la muestra y un control positivo, corregidas con la absorbancia del control negativo” (63).

**ii. Kit de ELISA para la detección *in vitro* del antígeno del virus de la diarrea viral bovina en ganado bovino PrioCHECK BVDV Ag PI – Prionics Ag**

PrioCHECK BVDV Ag PI ELISA está específicamente diseñado para la detección de animales con PI. Esta prueba es altamente específica, detecta diferentes subtipos del antígeno del vDVB. La prueba emplea dos anticuerpos



monoclonales (AcM). Los dos AcM reconocen diferentes determinantes antigénicos localizados en la proteína (p80) no estructural NS-3 altamente conservada del vDVB. La placa se recubre con estos anticuerpos y se usa el segundo AcM como conjugado. Para la detección de antígenos las muestras se incubarán con el tampón en los pocillos de la placa recubierta. Después de este paso de incubación se realizará el lavado, posteriormente se agregará el conjugado y tras un periodo de incubación se someterá a un segundo lavado. En el siguiente paso se adicionará el substrato cromógeno a los pocillos y después de incubar se detienen el desarrollo de color y se medirá la densidad óptica a 450nm. (64)

#### 4.5.1 Materiales

##### 4.5.1.1 Materiales para la obtención de sangre

- Tubos vacutainer
- Agujas vacutainer
- Alcohol
- Algodón
- Gradillas
- Guantes descartables
- Mameluco
- Soga
- Rotulador



- Ficha y registros

#### **4.5.1.2 Materiales y equipos para la obtención del suero**

- Centrifuga
- Pipetas Pasteur
- Viales de 3 ml
- Marcador
- Congelador a -20°C
- Guantes de látex
- Mandil
- Gorros y barbijos

#### **4.5.1.3 Materiales de laboratorio**

- Tips desechables 20, 100, 200  $\mu$ l
- Parafilm
- Probeta de 20 a 100 ml
- Guantes
- Barbijo
- Mandil
- Gorros
- Papel absorbente
- Agua destilada



#### 4.5.2 Equipos de laboratorio

- Incubadora
- Lector de microplacas ELISA
- Cabina de flujo laminar
- Micropipetas de precisión de 20 - 300  $\mu$ l
- Pipetas multicanal de 100 – 300  $\mu$ l
- Vortex
- Cronómetro

#### 4.5.3 Kit de ELISA

##### **IDEXX Kit de ELISA indirecta para la detección de anticuerpos frente vDVB**

- Placa tapizada con antígeno
- Control positivo
- Control negativo
- Conjugado
- Diluyente de la muestra
- Substrato TMB
- Solución STOP
- Solución de lavado (10X)

**PrioCHECK Kit de ELISA para la detección *in vitro* del antígeno del virus de la diarrea viral bovina en ganado bovino.**



- Placa de ensayo
- Tampón de extracción
- Aditivo de tampón de extracción
- Conjugado (30X)
- Tampón de conjugado
- Tampón de dilución
- Líquido de lavado
- Referencia 1 (control positivo)
- Referencia 2 (control negativo)
- Referencia 3 (blanco)
- Substrato cromógeno
- Solución de frenado

#### **4.5.4 Metodología de ELISA indirecta para detección de Anticuerpos frente al virus de la diarrea viral bovina**

##### **a) Preparación de la solución lavado**

La solución lavado concentrada (10x) estuvo entre de 18 a 26°C de temperatura, la dilución fue de 1 a 10 con agua destilada antes de su uso (ej. 1 ml de concentrado + 9 ml de agua).

##### **b) Preparación de muestras**

Los viales que contenían el suero fueron descongelados a temperatura mayor de 18°C y previamente homogenizadas con la ayuda de un vortex.



## c) Procedimiento de la prueba

1. Las placas fueron rotuladas y marcadas de acuerdo a la posición de las muestras.
2. Se adicionó 100  $\mu$ l de Diluyente de la muestra en cada pocillo.
3. Se adicionó 25  $\mu$ l de Control Negativo en dos pocillos.
4. Se adicionó 25  $\mu$ l de Control Positivo en dos pocillos.
5. Se adicionó 25  $\mu$ l de las muestras en los pocillos restantes
6. Se homogenizó el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa.
7. Se llevó a incubar la placa durante 90 min a 18-26°C. para lo cual las placas estuvieron selladas con parafilm.
8. Se descartó el contenido libre de cada pocillo y se lavó cinco veces con 300  $\mu$ l de Solución Lavado para luego desechar el líquido del lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.
9. Se dispensó 100  $\mu$ l de conjugado en cada pocillo.
10. Se llevó a incubar durante 30 minutos a 18-20°C.
11. Nuevamente se repitió el lavado del paso 8.
12. Se agregó 100  $\mu$ l de Substrato TMB en cada pocillo.
13. Se llevó a incubar la placa a temperatura de a 18-26°C por 10 min.
14. Antes de la lectura se adicionó 100  $\mu$ l de la solución de STOP en cada pocillo.
15. Se procedió a realizar la lectura para cuantificar las muestras y conocer la absorbancia de cada una.



## d) Validación del ensayo y cálculos de los resultados

- El cálculo de los controles fue realizado mediante las siguientes fórmulas.

$$CN\chi = \frac{CN1 + CN2}{2}$$

$$CP\chi = \frac{CP1 + CP2}{2}$$

Donde:

CN  $\chi$  : promedio de controles negativos

CN1: control negativo 1

CN2: control negativo 2

CP  $\chi$  : promedio de controles positivos

CN1: control positivo 1

CN2: control positivo 2

- El promedio de los controles negativos y positivos deben estar dentro de los siguientes criterios de validación.

$$CN\chi \leq 0,250$$

$$CP\chi - CN\chi \geq 0,150$$

- La existencia o inexistencia de anticuerpos vDVB en la muestra se determinó mediante el cociente M/P de cada muestra.



$$M/P = \frac{\text{Muestra A} - CN\chi}{CP\chi - CN\chi}$$

- Interpretación de las muestras

M/P < 0,20            NEGATIVO

0.20 ≤ M/P < 0,30    DUDOSO

M/P ≥ 0,30            POSITIVO

#### 4.5.5 Metodología de ELISA para la detección de antígeno del virus de la diarrea viral bovina

##### a) Dilución del conjugado

El conjugado se diluyó (30x) 1/30 en tampón conjugado, por ejemplo, para dos placas se preparó 12 ml (400 µl de conjugado a 11.6ml de tampón conjugado)

##### b) Solución de lavado

La solución de lavado (200X) se diluyó 1/200 en agua destilada.

##### c) Procedimiento de la prueba para la detección del antígeno

1. Cada placa de ensayo fue rotulada.
2. Se agregó 50 µl de tampón de dilución a todos los pocillos.
3. Se agregó 50 µl de tampón de referencia 1 (control positivo) a los pocillos A1 y B1.



4. Se agregó 50  $\mu$ l de tampón de referencia 2 (control negativo) a los pocillos C1 y D1.
5. Se agregó 50  $\mu$ l de tampón de referencia 3 (blanco) a los pocillos E1 y F1.
6. Se agregó 50  $\mu$ l de las muestras de ensayo al resto de los pocillos.
7. Se selló la placa de ensayo y se homogenizó con cuidado.
8. Se lleva a incubar durante  $60 \pm 10$  minutos a  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

d) Procedimiento para la detección con el conjugado

1. Se vació la placa de ensayo y fue lavada 6 veces con solución lavado.
2. Se agregó 100  $\mu$ l de conjugado diluido a todos los pocillos.
3. Se selló la placa de ensayo con parafilm.
4. Se llevó la placa de ensayo a incubar de  $60 \pm 10$  minutos a  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

e) Incubación con sustrato cromógeno (TMB)

1. Después de la incubación se vació el contenido de la placa de ensayo y fue lavada seis veces con solución lavado.
2. Se agregó 100  $\mu$ l de sustrato cromógeno a cada pocillo.
3. Se llevó a incubar la placa de ensayo de 15 a 25 minutos a una temperatura de  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .
4. Se agregó 100  $\mu$ l de la solución frenado a cada pocillo.
5. Se homogenizó el contenido de los pocillos de la placa de ensayo.

f) Validación del ensayo y cálculo de los resultados

- Se inició midiendo las densidades ópticas (DO) de los pocillos a 450 nm.
- Se calculó la DO media de los pocillos E1 y F1 (DO blanco).



- Se calculó la DO corregida a todas las muestras restando la DO blanco.
- Se calculó la media de la DO corregida de los pocillos A1 y B1 (DO<sub>max</sub> corregida).
- Se calculó la positividad porcentual (PP) de la referencia 2 y de las muestras de ensayo según la siguiente formula.

$$PP = \frac{DO \text{ corregida de la muestra de ensayo}}{DO \text{ max corregida}} \times 100$$

g) Interpretación de los resultados

1. La DO media de la referencia debe ser  $\leq 0.300$ .
2. La DO corregida de la referencia 1 debe ser  $\geq 0.800$
3. El porcentaje de positividad de la referencia 2 debe ser  $< 30\%$

PP =  $\geq 20\%$  POSITIVO (Hay antígeno de vDVB en la muestra de ensayo)

PP =  $< 20\%$  NEGATIVO (No hay ningún antígeno presente en la muestra)

#### 4.6 Análisis estadístico

Las muestras de suero sanguíneo fueron procesadas con los kits de ELISA según correspondía y se procedió a la lectura de las densidades ópticas (DO) de las muestras mediante un lector de placas y el programa Gen5 para conocer las DO de cada una, estas DO se transcribieron a una tabla de Excel para aplicar la validación de cada prueba de acuerdo a cada kit de ELISA identificando la cantidad de animales positivos a Ac y Ag



de la DVB, posteriormente se procedió a hallar la prevalencia de ambas variables utilizando la siguiente fórmula de prevalencia:

$$P = \frac{\text{Número de individuos con la enfermedad o la característica dada en el momento determinado}}{\text{Número de individuos en la población en el momento determinado}} \times 100$$

Después de haber obtenido los resultados de prevalencia y tener identificado el número de animales positivos al Ac del virus se procedió a realizar la prueba de chi-cuadrado para determinar la relación de las variables sexo y edad con la enfermedad, para lo cual se procedió a introducir los datos en el programa IBM SPSS Statics versión 25 para encontrar si existe relación entre las variables mencionadas y la enfermedad.



## CAPITULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 5.1 Análisis de resultados

##### 5.1.1 Determinación de la prevalencia de diarrea viral bovina

*Tabla 3. Frecuencia de casos positivos a anticuerpos del virus de DVB y de bovinos PI (primera y segunda prueba)*

	DVB		PI			
	Anticuerpo (Ac)		Antígeno Ag (1 era prueba)		Antígeno Ag (2da prueba)	
	n	%	n	%	n	%
<b>Si</b>	36	43.90%	20	43.48%	0	0
<b>No</b>	46	56.10%	26	56.52%	19	100
<b>Total</b>	82	100%	46	100%	19	100%

Leyendo la prevalencia DVB (Ac), se encontró 43.9% de casos positivos a la diarrea viral bovina.

La prevalencia de bovinos PI (Ag) a la primera prueba obtuvo un 43.48% de casos positivos, sin embargo, en la segunda prueba no se halló ningún infectado 0%.

##### 5.1.2 Determinación de la diarrea viral bovina según edad y sexo



**Tabla 4.** Prevalencia anticuerpos del virus de la DVB según la edad del animal

		Ac			Chi	Sig.
		Negativo	positivo	Total		
Edad por grupos	De 6 meses a 1 año	12 (75%)	4 (25%)	16 (100%)	2.28	0.3206
	Mayores de 1 a 2 años	15 (62.5%)	9 (37.5%)	24 (100%)		
	Mayores de 2 años	19 (45.2%)	23 (54.8%)	42 (100%)		
<b>Total</b>		46 (56.1%)	36 (43.9%)	82 (100%)		

Según la *Tabla 4*, se observa que la mayor prevalencia está en animales mayores a dos años habiendo obtenido un 54.8% (23 animales), además, con una probabilidad de un 95% de confiabilidad ( $p > 0.05$ ) no existe asociación entre la edad del animal y la prevalencia de la DVB.

**Tabla 5.** Prevalencia de casos positivos a Ac del virus de la DVB según sexo del animal

		Ac			Chi	Sig.
		Negativo	positivo	Total		
Sexo	Hembra	38 (61.3%)	24 (38.7%)	62 (100%)	2.783	0.0953
	Macho	8 (40%)	12 (60%)	20 (100%)		
<b>Total</b>		46 (56.1%)	36 (43.9%)	82 (100%)		

Según la *Tabla 5*, se observa con un 95% de confiabilidad ( $p > 0.05$ ) que no existe asociación entre el sexo del animal y la prevalencia de la DVB.

### 5.1.3 Determinación de la prevalencia de bovinos PI

**Tabla 6.** Frecuencia de bovinos PI según edad.

		Ag			Chi	Sig.
		negativo	positivo	Total		
Edad por grupos	De 6 meses a un 1 año	10 (83.3%)	2 (16.7%)	12 (100%)	4.75	0.093
	Mayores de 1 a 2 años	7 (46.7%)	8 (53.3%)	15 (100%)		
	Mayores de 2 años	9 (47.4%)	10 (52.6%)	19 (100%)		
<b>Total</b>		26 (56.5%)	20 (43.5%)	46 (100%)		

En la *tabla 6*, se observa que con una probabilidad de error 5% ( $p > 0.05$ ) que la edad del animal no tiene relación con la presencia de animales PI.

**Tabla 7.** Prevalencia de bovinos PI según sexo.

		Ag			Chi	Sig.
		Negativo	Positivo	Total		
Sexo	Hembra	19 (50%)	19 (50%)	38 (100%)	3.78	0.0481
	Macho	7 (87.5%)	1 (12.5%)	8 (100%)		
<b>Total</b>		26 (56.5%)	20 (43.5%)	46 (100%)		

En la *tabla 7*, se observa Con una  $p < 0.05$  se acepta que existe relación entre el sexo del animal y una infección aguda transitoria de la enfermedad donde las hembras son más propensas a desarrollarla.

## 5.2 Discusión

### 5.2.1 Prevalencia de DVB en bovinos del centro poblado Yucay

A partir de los hallazgos obtenidos se señala que la prevalencia de DVB encontrada fue de 43.9% (36 animales) (tabla 2), este resultado fue menor al 50% de la población muestreada, esto guarda relación con lo que sostiene Rosete (11) que señala que su prevalencia fue menor al 30%, a diferencia de los resultados obtenidos por Gonzales que obtuvo un 98.04% de casos positivos (14). Para la variable edad, en el grupo de bovinos menores a un año se encontró un 25% de animales positivos a la DVB, mientras que en las edades de uno a dos años el resultado fue de 37.5 % y en los animales mayores de dos años alcanzó el 54% (tabla 4), la tercera situación podría deberse a que son animales en etapa productiva, en caso de las hembras son animales con varios partos y con mayor predisposición a tener un cuadro de inmunosupresión lo que conlleva a la predisposición de enfermedades (10,15), el valor de chi- cuadrado fue de 2.28 con un valor p de 0.32 lo que indicaría que la edad no está relacionada a la enfermedad, y esta podría estar presente en cualquier etapa del animal. En la variable sexo se encontró que el 60% de los machos fueron positivos a la enfermedad, y en hembras se obtuvo un 38.7% (tabla 5). El valor chi- cuadrado fue de 2.78 con un valor p de 0.09 por lo que se llega a la conclusión que el sexo del animal no guarda relación con la presencia de la enfermedad a diferencia del estudio realizado por Betancur donde señala que existe relación entre el sexo del animal y la DVB, donde señala que los machos son fuente de transmisión de la enfermedad. Ríos, Olazarán, Zarate, *et al.* indican que en hatos con prevalencias de 5 y el 25%, se consideran como hatos con baja exposición. Esto sugiere





que los bovinos más antiguos o los que fueron comprados estuvieron expuestos al virus en el pasado. Además, puede reflejar una infección temprana en el hato, lo que indica que podrían estar en una fase de transición, además, se indica que cuando un hato tiene una prevalencia entre el 65 y el 100%, se clasifica como hatos con alto nivel de exposición al virus, lo cual sugiere que al menos hay un animal portador en el hato (11), esto no se pudo observar en la investigación, donde en la primera prueba para hallar a los animales PI se encontró una prevalencia de 43.48% (20 animales) de casos positivos al antígeno, más en la segunda prueba no se halló ningún animal PI, lo que indicaría que este 43.48% de animales estaba pasando por una infección aguda transitoria en el momento de la primera toma de muestra, aparentemente esto indicaría que la población de bovinos en el centro poblado Yucay a pesar de no haber hallado a ningún bovino PI se clasificaría con una exposición media al virus (83).

Así mismo Valdez, Pacheco, Vergara, y otros autores en su investigación llevada a cabo en las pampas de Anta, Cusco, señalan que el comercio de los toros reproductores seropositivos entre diferentes comunidades, en ferias ganaderas de la zona contribuyen a una alta prevalencia de la enfermedad en machos, dado que en su investigación obtuvieron un 43.9% en toros, llegando a la conclusión de que los toros desempeñan un papel significativo en la propagación del virus.

Las ferias ganaderas son de tradición en la sierra de nuestro país, una de las más grandes y concurridas en la provincia del Cusco es la que se realiza anualmente en la pampa de Anta, dónde se congregan alrededor de 800 a más animales de diferentes procedencias y edades. Estas ferias carecen de control sanitario, y se ha demostrado que el



movimiento libre de los animales representa un riesgo tres veces mayor de propagar el virus en un área en comparación con otras formas de transmisión (21).

### **5.2.2 Prevalencia de bovinos PI del centro poblado Yucay**

Por otra parte, la búsqueda de los PI se llevó a cabo asumiendo que estos animales son inmunotolerantes al vDVB presente en su organismo (53), lo que implica que son incapaces de producir anticuerpos y, por lo tanto, permanecen negativos en las pruebas serológicas a anticuerpos. Sin embargo, continúan eliminando constantemente el virus a través de sus secreciones (14).

Aunque ELISA posee una alta sensibilidad del 97% y una especificidad del 98%, no garantiza la detección de todos los animales PI, si durante la toma de muestra no hay suficiente antígeno o virus circulante presente en el animal por estar pasando una infección aguda (58).

Los animales que presentan una condición física deficiente representan un desafío para los ganaderos, y suelen ser eliminados o vendidos (13). En la mayoría de los casos sin tener conocimiento de que estos animales fueron PI, esto fue lo que no permitió muestrear el total de los animales en nuestra segunda prueba para localizar a los portadores, se encontró que uno de los veinte bovinos positivo al antígeno del virus fue vendido antes de nuestra llegada. En otro estudio llevado a cabo en la provincia de Espinar, Cusco, Cárdenas, Rivera y otros autores mencionan que no se encontraron animales PI, arrojando resultados negativos, similares a los obtenidos en esta investigación. Así mismo se observó que el 86.8% de los ganaderos tenía al menos un



animal con anticuerpos contra el virus (20), este resultado fue muy similar al obtenido en el centro poblado Yucay con un 87.5%.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.3 Conclusiones

- La prevalencia de la enfermedad de DVB fue de 43.9%, además no se detectaron bovinos PI 0%.
- No se encontró una asociación significativa entre la presencia de DVB y la edad. En cuanto la variable sexo tampoco se encontró asociación con la enfermedad.

#### 5.4 Recomendaciones

- Teniendo conocimiento que la enfermedad está presente en el centro poblado Yucay y en otras provincias del departamento del Cusco, así como en otros departamentos del Perú, teniendo en cuenta que la presencia de animales PI no es necesaria para su propagación, el contagio del virus puede ocurrir a través de animales que están experimentando una infección aguda transitoria, se recomienda la capacitación a los ganaderos por parte de las autoridades competentes (SENASA) sobre esta enfermedad para evitar la venta y compra de animales enfermos, lo que ayudaría a reducir su propagación.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Occhi H. Monitoreo y saneamiento de la Diarrea Viral Bovina en rodeos lecheros de la provincia de Santa Fe. [Tesis de pregrado]. Santa Fe: Universidad Nacional del Litoral; 2021. Recuperado a partir de: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/5965?show=full>
2. Celedón M., Carbonell J, Ibarra L, Pizarro J. Detección de bovinos portadores e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. Arch med vet. [internet], 30(1), 125-132. 1998. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1998000100014>
3. Rivera Diana C., Rincón Juan C., Echeverry Juan C. Prevalencia de algunas enfermedades infecciosas en bovinos de resguardos indígenas del Cauca, Colombia, 2017. Rev. udcaactual. divulg.cient. [Internet]. 2018 dic. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262018000200507&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262018000200507&lng=en).
4. Quispe R, Ccama A, Rivera H, Araínga L. El virus de la diarrea viral en bovinos criollos de la provincia de Melgar. Rev Inv Vet Perú; 19 (2): 176-182. 2008.
5. Arauco F, Rosadio Raúl. Seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina y Neosporosis en Vacas de la Región Junín, Perú. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2015 sept.; 26(3): 543-547. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172015000300023&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172015000300023&lng=es). <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11167>.
6. Contreras G, Stahl K, Arana C, Rivera. Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del valle del Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo). Rev Inv Vet Perú; 11: 1. 2000.
7. Cárdenas A, Rivera H, Araínga M, Ramírez M, De Paz J. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y de animales portadores del virus en bovinos en la provincia de espinar, Cusco. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2011 sept.; 22(3): 261-267. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172011000300012&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000300012&lng=es).



8. Álvarez S, Rivera H, Pezo D, García W. Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. invest. Vet. Perú* [Internet]. 2002 jul; 13(1). Disponible en: <https://doi.org/10.15381/rivep.v13i1.1705>
9. Municipalidad Distrital de Yucay [Online] ;2019. Disponible en: [https://www.peru.gob.pe/Nuevo\\_Portal\\_Municipal/portales/Municipalidades/803/entidad/pm\\_municipalidad.asp](https://www.peru.gob.pe/Nuevo_Portal_Municipal/portales/Municipalidades/803/entidad/pm_municipalidad.asp)
10. Betancur H, Gogorza L, Martínez F. Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina en Montería (Córdoba, Colombia). *Analecta Vet*; vol. 27, no. 2. 2007
11. Rosete J, Ríos A, Zarate J, Olazarán S, Granados L, Fragoso A, *et al.* Prevalencia de anticuerpos contra diarrea viral bovina en vacas no vacunadas en los estados de Puebla, Tabasco y Veracruz, México. *Rev. mex. de cienc. pecuarias* [revista en la Internet]. 2018. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242018000300555&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242018000300555&lng=es). <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i3.4599>.
12. Odeón A, Spath E, Paloma E, Leunda M, Fernández I, Pérez S, *et al.* *Rev Med Vet, Argentina*; vol. 82 no. 4:216-220. 2001.
13. Nava Z, Bracamonte M, Hidalgo M, Escobar R. Seroprevalencia de la diarrea viral bovina en rebaños lecheros de dos municipios del estado Barinas, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [Internet]. 2013 dic; 33( 2 ): 162-168. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562013000200014&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562013000200014&lng=es).
14. Huamán Gonzales, J. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina, y animales persistentemente infectados con el virus, en hatos productores de leche de la irrigación de majes, Arequipa. Repositorio Institucional UNMSM. 2006.
15. Arbulú-García Catherine, Morales-Cauti Siever. Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en bovinos de crianza extensiva en tres distritos de Ayacucho, Perú. *Rev. investig. vet. Perú* [Internet]. 2021.
16. Arauco Villar Fernando, Lozano Salazar Elías. Seroprevalencia de diarrea viral bovina en hatos lecheros del Valle del Mantaro, Región Junín, Perú. *Rev. investig. vet. Perú* [Internet]. 2018.



17. Aguilar S. Renzo, Benito Z. Alfredo, Rivera G. Hermelinda. Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de Lima. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2006 jul.
18. Huamán G. Juan C., Rivera G. Hermelinda, Araínga R. Mariluz, Gavidia Ch. César, Manchego S. Alberto. Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche de la irrigación de Majes, Arequipa. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2007 jul.
19. Cabello R. Karina, Quispe Ch. Rocío, Rivera G. Hermelinda. Frecuencia de los virus Parainfluenza-3, Respiratorio Sincitial y Diarrea Viral Bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina de Cusco. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2006 jul
20. Cárdenas A. César, Rivera G. Hermelinda, Araínga R. Mariluz, Ramírez V. Mercy, De Paz M. Jimmy. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y de animales portadores del virus en bovinos en la provincia de espinar, Cusco. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2011 sept.
21. Valdez G Edgar, Pacheco P Ignacio, Vergara A Walter, Pinto L Juan, Fernández B Fiorela, Guzmán F Fiorela *et al.* Identificación de bovinos persistentemente infectados y genotipo del virus de la diarrea viral en bovinos de Anta, Cusco, Perú. Rev. Investig. vet. Perú [Internet]. 2018 oct.
22. Moreno A. Lopez S. Corcho-Berdugo A. Principales medidas en epidemiología, Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, vol 45. Cuba. 2007 en.
23. Vargas D. Jairo J. Vera V. Perspectivas para el control del virus de la diarrea viral bovina, Colombia. Rev. Investig. vet. Colombia [Internet]. 2009 jul.
24. Underdahl NR, Grace OD, Hoerlein AB. Cultivation in tissue culture of cytopathogenic agent from bovine mucosal disease. Proc Soc Biol Med. EEUU. 1957.
25. Thomson R., Savan M., Studies on virus diarrhea and mucosal disease of cattle. Can J Med Vet Sci. EEUU. 1963
26. Malmquist WA. Bovine viral diarrhea- Mucosal disease: Etiology pathogenesis and applied immunity. JAm Vet Med Assoc. EEUU. 1968.
27. McClurkin AW, Littledike E, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF, Bolin SR. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. Can J Comp Med. 1984.



28. Browlie J, Clark MC, Howard CJ. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea. *Res Vet Sci.* 1989.
29. Kobrak A, Weber E. Bovine diarrhoea virus: an update. *Rev Argent Microbiol. Argentina.* 1997.
30. Paton D. Pestivirus diversity. *J Comp Path.* 1995
31. Deregt D, Loewen K. Bovine viral diarrhoea virus: biotypes and disease. *Can Vet J.* 1995
32. Morales M. Detección de terneros con infección congénita con el virus de la diarrea viral bovina en hatos lecheros de la provincia de Arequipa. *Rev Inv Perú.* 2002.
33. Ridpath J. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. *Biologicals.* 2003.
34. Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet Microbiol.* 1999.
35. Rivera H, Huamán K, Benito A, Arana C. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y animales portadores del virus en un hato lechero del valle del Mantaro. *Rev Acad Perú cienc vet* 3. 2003.
36. Contreras G, Stahl K, Arana C, Rivera H. Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos. *Rev Inv Vet Perú* 11. 2000
37. Servicio Nacional de Sanidad Agraria- SENASA. Proyecto: fortalecimiento del sistema de vigilancia zoonosario, Caracterización de la Diarrea Viral Bovina, Neosporosis Bovina y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el Perú. 2010.
38. Nettleton P, Etrican G. Ruminant pestiviruses. *Br Vet J.* 1995
39. Tremblay R. Transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Med.* 1996.
40. Baker J. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. In: *Bovine viral diarrhoea virus. Vet Clin North Am: Food Anim Pract.* 1995.
41. House H, Meyling A. Prevalence of bovine virus diarrhoea (BVD) in 19 danish dairy herds and estimation of incidence of infection in early pregnancy. *Prev Vet Med.* 1991.
42. Corrales J, Sanjuan M, Garcia C. Epidemiología e importancia económica de la diarrea viral bovina. In Yus E Y M Sanjuan. Eda. *Diarrea vírica bovina. Consejo general de médicos veterinarios de España.* 1999.



43. Browlie J. The pathways for bovine diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. Arch Virol. 1991
44. Browlie J, Hooper L, Thompson I, Collins M. MATERNA recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BDVB)- the bovine pestivirus. Clin Diagn Virol 10. 1998
45. Ridpath J. BVDV Genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. Biologicals 31. 2003
46. Vanroose G, Nauwynck H, Van Soom A, Vanopdenbosch E, De Kruif A. Replication of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in zona-free and zona-intact *in vitro*- produced bovine embryos and the effect on embryo quality. Biol Repro 58. 1998
47. Fredriksen B, Sandvick T, Loken T, Odegaard S. Level and duration of serum antibodies in the cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea. Vet Rec. 1999
48. Murray R. Lesions in aborted bovine fetuses and placenta associated with bovine viral diarrhoea virus infection. Arch Virol. 1991
49. Mc Gowan M, Kirkland P, Rodwell B, Kerr D, Carrol C. A field investigation of effects of bovine viral diarrhoea virus around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. Theriogenology 39: 443-449. 2003
50. Vanroose G, Van Soom A, De Kruif A. Embryonic mortality and embryopathogen interactions. Anim Reprod Sci 60-61: 131-143. 2000
51. Moennig V, Lies B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. In Bovine viral diarrhoea virus. Vet Clin North Am: Food Anim Pract 11: 477-487. 1995
52. Dubovi E. Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle Vet Clin North Am: Food Anim Pract 10: 503-514. 1994
53. Grooms D. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. Vet Clin North Am: Food Anim Pract 20: 5-19. 2004
54. Bolin S. The pathogenesis of mucosal disease. In: Bovine viral diarrhoea virus. Vet Clin North Am: Food Anim Pract 11: 489-500. 1995
55. Baker J. Bovine viral diarrhoea virus: A review. JAVMA 190: 1449- 1458. 1987





56. Sandvik T. Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control Programmes. *Prev Vet Med* 72: 3-16. 2005
57. Garcia C, Corrales J, Sanjuan M. Medidas de prevención y control frente a la diarrea viral bovina. In: Yus E. y M. Sanjuan. Eds. *Diarrea vírica bovina. Consejo general de médicos veterinarios de España.* 24: 67-86. 1999
58. Mars M, Van Maanen C. Diagnostic assays applied in BVDV control in the Netherlands. *Prev Vet Med* 72: 45-48. 2005
59. Bitsch V, Ronsholt L. Control of bovine viral diarrhoea virus without vaccines. *Food Anim. Pract.* 11:627-640.1995
60. Moennig V, Eicken K, Flebbe U, Frey H, Grummer B, Haas L, Greiser I, Liess B. Implementation of two- step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVD). *Prev Vet Med* 72:109-114. 2005
61. Vivanco M. Muestro de poblaciones finitas. *El muestreo estadístico.* 2005
62. Sanjuan M, Garcia C, Corrales J. Etiopatogenia de la diarrea vírica bovina: aspectos de interés. *Consejo general de médicos veterinarios de España.* 1999
63. Idexx laboratories, Inc. Kit para la detección de anticuerpos frente al Virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB). 2020. Disponible en: <https://www.idexx.es/es/livestock/livestock-tests/ruminant-tests/idexx-bvdv-total-ab-test/>
64. Prionics AG. PrioCHECK BVDV Ag PI ELISA para la detección *in vitro* del antígeno del virus de la diarrea viral bovina. Disponible en: [www.prionics.com](http://www.prionics.com)
65. MINAGRI. Sistema de Estadística e Información Agraria. Lima. 2016.
66. Morais T, Barros de Melo C, Floriani A, & Cerqueira R. Diarréia Bovina a Vírus (BVD). *Rev.Bras.Med.Vet.* 2012. Disponible en: [https://doi.org/34\(2\):131-140](https://doi.org/34(2):131-140).
67. Gomes L, Meristela E, Hellmeiste de Campos A, De Stefano E, Clementino I, Alves A, Santos de Azevedo S. Spatial analysis for bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus type 1 infections in the state of Paraíba, northeastern Brazil. *BMC Veterinary* 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1412-5>
68. Rivera G. Hermelinda. Evolución del conocimiento sobre la enfermedad de la diarrea viral bovina y su agente etiológico. *Rev. investig. vet. Perú [Internet].* 2008. Disponible en:



[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172008000200001&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172008000200001&lng=es).

69. Pedrera M, Risalde M.A, Nuñez A, *et al*. Diarrea vírica bovina: etiología, formas clínicas, distribución del virus y patogenia. Real academia de ciencias veterinarias. 2007. Disponible en: <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/2448>
70. Diccionario nacional de cáncer [internet]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/buscar/anticuerpo/?searchMode=Begins>.
71. Brodersen B. Epidemiología de la BVD. Boehringer Ingelheim. 2004. Disponible en: [https://www.bvdzero.es/sites/default/files/2021-03/7\\_bvdzero\\_animales\\_pi.pdf](https://www.bvdzero.es/sites/default/files/2021-03/7_bvdzero_animales_pi.pdf)
72. Factores que intervienen en la relación antígeno-anticuerpo y clasificación antigénica eritrocitaria. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051c.pdf>
73. Pérez J. Definición de espectrofotometría. 2021. Disponible en: <https://definicion.de/espectrofotometria/>
74. Bautista B. conceptos básicos presentes en un informe de resultados de la prueba de ELISA. BM, editores. 2020. Disponible en: <https://bmeditores.mx/entorno-pecuario/conceptos-basicos-presentes-en-un-informe-de-resultados-de-la-prueba-de-elisa/>
75. Facundo J. Hematología. Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. Disponible en: <https://especialidades.sld.cu/hematologia/2012/11/07/la-diferencia-entre-plasma-y-suero/>
76. Bolin S, Ridpath J. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in calves. Am J Vet Res. 1992.
77. Steward K. Introducción al ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas- Prueba ELISA. 2021. Disponible en: <https://www.news-courier.com/analysis/articles/an-introduction-to-the-enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa-test-350024#D1>
78. Bonita R, Beaglehole R, Kjellstrom T. Basic epidemiology. Washington, D.C. Organización Panamericana de la Salud. 2008. 23 p.
79. Distrito Yucay. [INTERNET]. Disponible en: <https://www.deperu.com/infoperu/cusco/urubamba/yucay/>
80. Enfoque en la obtención de muestras de suero. BD Life Sciences. 2016. Vol. 4.



81. AT- Biotech. El control de la temperatura y el tiempo de distribución intrahospitalaria de componentes sanguíneos. 2022. Disponible en: <https://at-biotech.com/blog/el-control-de-la-temperatura-y-el-tiempo-en-la-distribucion-intrahospitalaria-de-componentes-sanguineos/>
82. Hernandez-Sampieri, Mendoza C. Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 1a ed. Ciudad de México. McGRAW-HILL interamericana editores, SA. 2018.
83. Brownlie J, Thompson I, Curwen A. Bovine virus diarrhoea virus- strategic decisions for diagnosis and control. In Proc. 2020.



# ANEXOS



Anexo 1. Registro de vacunos y resultados a la prueba de Elisa para hallar anticuerpos y antígenos contra el vDVB.

N°	Nombre/ N° Brete	Sexo	Edad	Observaciones	Propietario	diagnostico Ac	Primera prueba a Ag	Segunda prueba a Ag
1	88	H	4a		Arístides Barrientos	positivo	--	negativo
2	90/ Siwar	M	2a		Arístides Barrientos	negativo	negativo	negativo
3	89/Toño	M	1a 8m		Arístides Barrientos	positivo	--	negativo
4	Angel	M	6m		Arístides Barrientos	positivo	--	negativo
5	409/Yola	H	3a		Luisa B. Quispe	negativo	negativo	negativo
6	407/Lomba	H	2a		Luisa B. Quispe	positivo	--	negativo
7	Negrita	H	9m		Luisa B. Quispe	positivo	--	negativo
8	A-100	M	4a		Walberto Tayña	positivo	--	negativo
9	A-101	M	6m	Prod. Mixta-monta natural	Walberto Tayña	positivo	--	negativo
10	A-102	M	7m		Walberto Tayña	negativo	negativo	negativo
11	A-103	M	1a		Walberto Tayña	positivo	--	negativo
12	Taquito	M	6m		Walberto Tayña	positivo	--	negativo
13	Lola	H	3a 6 m		Walberto Tayña	positivo	--	negativo
14	78	M	3a		Herbert Mamaños	positivo	--	negativo
15	79	M	3a		Antonio Machaca	positivo	--	negativo
16	83	M	1a		Antonio Machaca	positivo	--	negativo
17	82	M	1a		Carmen Villa	positivo	--	negativo
18	Toribio	M	4a		Carmen Villa	positivo	--	negativo
19	116	M	2a 5m		Carmen Villa	negativo	negativo	negativo
20	Toño	M	2a		Antonio Machaca	negativo	negativo	negativo
21	Marrón	H	1a8m	Procedente de Inquilpata	Mario Quispe	positivo	--	negativo
22	Bonanza/164	H	4a		Samuel Ccano	negativo	negativo	negativo
23	Puca/165	H	3a		Samuel Ccano	negativo	negativo	negativo
24	Rubia	H	8m		José Mormontoy	negativo	negativo	negativo
25	Marcusa	H	10m		José Mormontoy	negativo	negativo	negativo

26	4974/Teo	M	1a 8m		Feli Mormontoy	Negativo	Negativo	Negativo
27	4976	H	2a 6m	1 parto	Feli Mormontoy	Negativo	Negativo	Negativo
28	295	H	5a	4 partos	José Mormontoy	Positivo	--	--
29	Chato	M	5a		José Mormontoy	Negativo	Negativo	Negativo
30	Criollo	M	2a		José Mormontoy	Positivo	--	--
31	8476/Gabi	H	5a	4 partos, diarreas esporádicas, pario ternero muerto	Alejandrina Huamani	Negativo	Negativo	Negativo
32	8487/Dora	H	5a	4 partos, diarrea	María Concepción Enrique	Positivo	--	--
33	8615	H	6m		María Concepción Enrique	Negativo	Negativo	Negativo
34	8616	H	7m		María Concepción Enrique	Negativo	Negativo	Negativo
35	8376/Lola	H	6a	3 crías	Ulises Conchoy Quispe	Positivo	--	--
36	Alicia	H	3a	2 crías	Ulises Conchoy Quispe	Positivo	--	--
37	8366/Isidro	H	1a		Ulises Conchoy Quispe	Negativo	Negativo	Negativo
38	5006	H	6a	6 crías por monta natural e inseminación	Lidio Ataucuchi Huscamaita	Positivo	--	--
39	5007	M	1.8m		Lidio Ataucuchi Huscamaita	Negativo	Negativo	Negativo
40	5061/Mistiana	H	2a	1 parto, segundo celo no preño	Marco Valenzuela Tapia	Positivo	--	--
41	5064/Lola	H	5a	4 partos	Marco Valenzuela Tapia	Positivo	--	--
42	5062/Salvador	M	1.5a		Marco Valenzuela Tapia	Negativo	Ag positiva	Vendido
43	Margarita	H	3.5a	3 partos, inseminaron 17 marzo no preño	Anacleto Aro Cahuana	Positivo	--	--
44	8422/ Canela	H	1a 10m	1 parto, preñada de 7 a 8 meses	Anacleto Aro Cahuana	Positivo	--	--

45	9/María	H	12m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
46	19/Mónica	H	9m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
47	15/Margarita	H	1a 4m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
48	16/Valentina	H	1a 3m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
49	21/Carola	H	10m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
50	22/Benita	H	1a 2 m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
51	20/Sin nombre 1	H	10m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
52	17/Yesica	H	1a 3m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
53	13/Judit	H	7m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
54	Sin nombre 2	H	8m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
55	18/ Paola	H	1a 1m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
56	Cándida	H	11m		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
57	109/Pilar	H	5a		Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
58	Belinda	H	4a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
59	4/ Mishel	H	4a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
60	Azul	H	5a		Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
61	Zahorí	H	5a		Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
62	Elita	H	4a	falleció	Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
63	Julia	H	2a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
64	Jersey	H	10a	aborto	Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
65	Aleja	H	5a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
66	312	H	4a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo

67	326	H	4a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
68	2	H	8a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
69	335/Blanquita	H	7a		Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
70	Carmen	H	2a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
71	Aydee	H	6a		Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
72	Cirila	H	2a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
73	Estrella	H	8a		Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
74	Paloma	H	2a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
75	329	H	3a	aborto	Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
76	328	H	4a	aborto	Granja Escuela Yucay	Positivo	--	--
77	314	H	7a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
78	Belén	H	7a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
79	Victoria	H	5a	vendida	Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	--
80	322	H	5a	aborto	Granja Escuela Yucay	Negativo	Ag positiva	Negativo
81	Agueda	H	3a		Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	Negativo
82	323 victoria	H	3a	vendida	Granja Escuela Yucay	Negativo	Negativo	--



Anexo 2.



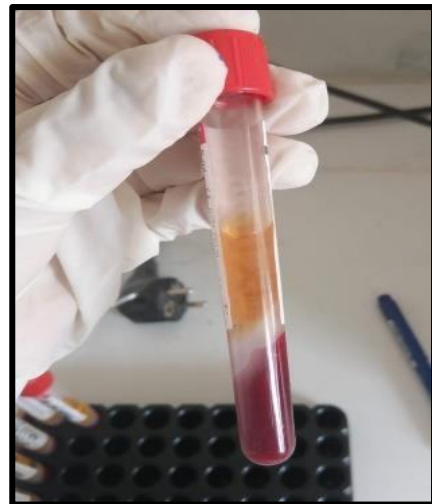
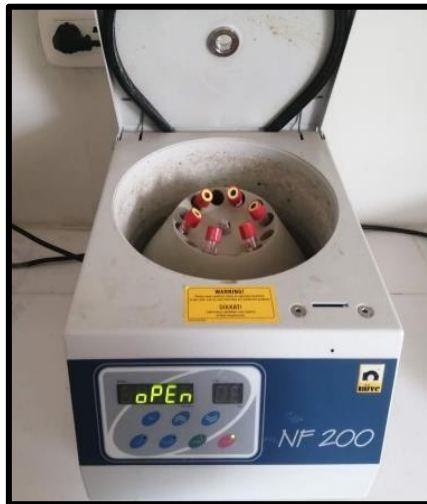
*Figura 3,4. Recolección de muestras de sangre en bovinos de Yucay*



*Figura 5. Toma de muestra de sangre junto a la Ing. Guzmán, en la Granja Escuela Yucay.*



*Figura 6. Toma de muestras sanguínea a vacunos positivos al antígeno.*



*Figura 7,8. Muestras en centrifuga, a la derecha se observa la el suero en el tubo recolector sin EDTA*





*Figura 9. Viales rotulados conteniendo las muestras de suero.*



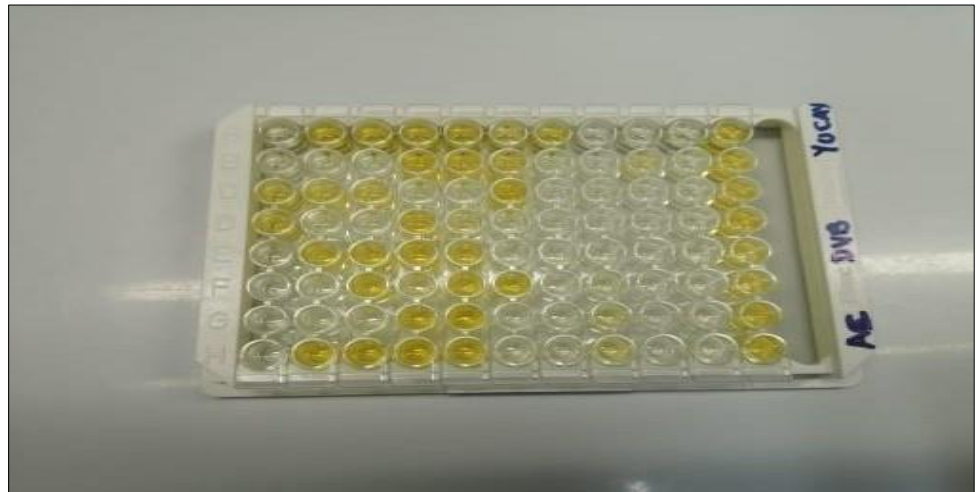
*Figura 10. Descongelamiento y homogenización de muestras congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>A</b>	CN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>B</b>	CN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>C</b>	CP	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>D</b>	CP	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>E</b>	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>F</b>	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>G</b>	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
<b>H</b>	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

*Tabla 11. Distribución de las muestras de suero sanguíneo de bovinos de Yucay, ELISA para la prueba de DVB anticuerpos.*



*Figura 12,13. Procesamiento de suero sanguíneo por el método de ELISA.*



*Figura 14, 15. Adición de la solución stop para proceder con la lectura de las densidades ópticas de cada muestra.*



*Figura 16, 17. Dueños de los hatos muestreados recibiendo los resultados de sus animales.*



*Figura 18, 19. Dueños de los hatos muestreados recibiendo los resultados de sus animales.*