

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD
DEL CUSCO**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA**



TESIS

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS DEL VIRUS DE LA DIARREA
VIRAL BOVINA (DVB) EN OVINOS DE LA FERIA GANADERA EXPO REYES
DE LA PROVINCIA DE ESPINAR, CUSCO**

PRESENTADO POR:

Br. MAYUMI HUAYLLAPUMA CALLONZA

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO ZOOTECNISTA**

ASESORES:

DR. EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ

MGT. SANTOS WILTON CALDERON RUIZ

ING. FIORELA GUZMAN FIGUEROA

**FINANCIADO POR EL PROGRAMA
YACHAYNINCHIS WIÑARINANPAQ**

CUSCO-PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: Detección de anticuerpos y antígenos del virus de la diarrea viral hemorágica (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinoza Cusco

presentado por: Mayumi Huayllapuma Callanza con DNI Nro.: 47383085 presentado por: con DNI Nro.: para optar el título profesional/grado académico de Ingeniera Zootecnista

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 3.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 4 de Marzo de 2025



Dr. Edgar A. Valdes Gutierrez
DOCENTE

Firma

Post firma: Edgar A. Valdes Gutierrez

Nro. de DNI: 01285940

ORCID del Asesor: 0000-0002-2966-7605
2º Asesor: 0000-0001-8091-5814 DNI: 26960866
3º Asesor: 0000-0002-9913-5831 DNI: 70991650

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259:434486278

MAYUMI HUAYLLAPUMA

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) EN OVINOS DE LA FERI

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::27259-434486278

70 Páginas

Fecha de entrega
27 feb 2025, 5:06 a.m. GMT-5

11,937 Palabras

Fecha de descarga
27 feb 2025, 5:29 a.m. GMT-5

64,390 Caracteres

Nombre de archivo
TESTIS MAYUMI HUAYLLAPUMA CALLONZA.pdf

Tamaño de archivo
1.8 MB



3% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 20 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 3%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

 UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez
DOCENTE

DEDICATORIA

A mí, por mantenerme paciente ante las dificultades para alcanzar este logro.

A mi mamá Tula, por cuidar de mí, aun cuando su mundo caía.

A mi hermano Jhonatan, que es mi mayor ejemplo; sin él no habría tenido motivación para alcanzar esta meta.

A mi padre Wenseslao, a mi madre Tula, por su amor y cuidado infinito, a mi hermano Jhonatan, por su persistencia conmigo para mantenerme en pie ante las dificultades.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la salud concedida y las oportunidades que me ha brindado para el logro de mis objetivos.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), por patrocinar el presente trabajo de investigación a través del proyecto de investigación: “Seroprevalencia y Diversidad Genética del Virus de la Diarrea Viral Bovina en Rumiantes domésticos y Camélidos Sudamericanos presentes en las Ferias y Tabladas de la Región Cusco” con esquema financiero E041-2019-01-UNSAAC, en el marco del programa Wachayninchis Wiñarínampaq.

Al Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco”, de la Escuela Profesional de Zootecnia – UNSAAC, lugar donde se ejecutó el presente trabajo de investigación.

A mis asesores de tesis: Dr. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez, Mgt. Wilton Calderón Ruiz e Ing. Fiorela Guzmán Figueroa por haber compartido sus conocimientos y experiencias para la realización del presente trabajo de tesis.

Mi agradecimiento al Ing. Clebert Candia Choque, por su apoyo para la realización de esta investigación.

A mis amigos Siarit y Yari, por su amistad incondicional, por haber sido un gran soporte emocional en malos momentos y ser parte de este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO I.....	13
1.1. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN	13
1.2. JUSTIFICACIÓN	15
CAPÍTULO II.....	16
2.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	16
2.1.1. Objetivo general	16
2.1.2. Objetivos específicos	16
CAPÍTULO III.....	17
MARCO TEÓRICO	17
3.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	17
3.2. BASES TEÓRICAS.....	19
3.2.1. Diarrea Viral Bovina (DVB)	19
3.2.1.1. Etiología.....	19
3.2.1.2. Taxonomía y estructura del virus de la DVB.....	19
3.2.1.3. Variabilidad del virus de DVB.....	19
3.2.1.4. Genotipos del virus de la DVB.....	20
3.2.1.5. Biotipos del VDVB	20
3.2.1.6. Hospedador	20
3.2.1.7. Fuente de infección	21
3.2.1.8. Modos de transmisión	21
3.2.1.9. Patogénesis.....	21
3.2.1.10. Síntomas clínicos.....	23
3.3. Bases conceptuales.....	24
3.3.1. Clasificación del ganado ovino	24
3.3.2. Antígeno.....	24
3.3.3. Anticuerpo.....	24
3.3.4. Reacción antígeno – anticuerpo.	25

3.3.5. Prueba de ELISA.....	25
3.3.6. Persistentemente Infectados	28
3.3.7. Incidencia	28
3.3.8. Prevalencia	29
CAPÍTULO IV	30
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	30
4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	30
4.2. ÁMBITO DE ESTUDIO.....	30
4.2.1. Ubicación política de la provincia de Espinar	31
4.2.2. Ubicación geográfica de la provincia de Espinar	31
4.2.3. Límites	31
4.2.4. Datos climáticos	31
4.3. MATERIALES DE ESTUDIO	32
4.3.1. De los animales	32
4.3.2. Tamaño de muestras.....	32
4.3.3. Materiales para la toma de muestra.....	32
4.3.4. Equipos, instrumentos y materiales de laboratorio.....	33
4.3.4.1. Equipos e instrumentos	33
4.3.4.2. Materiales y reactivos de laboratorio	33
4.4. METODOLOGÍA	34
4.4.1. Obtención de muestras de muestras sanguíneas	34
4.4.2. Obtención del suero sanguíneo.....	35
4.4.3. Separación del suero sanguíneo	35
4.4.4. Método de ELISA competitivo para detectar anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB)	36
4.4.4.1. Descripción y principios de la prueba	36
4.4.4.2. Preparación de la muestra y reactivos	37
4.4.4.3. Procedimiento de la prueba	39
4.4.4.4. Validación de la prueba.....	41
4.4.4.5. Cálculo de resultados	41
4.4.4.6. Interpretación	42
4.4.5. Método de ELISA tipo Sándwich para detectar antígenos del virus de la DVB..	42
4.4.5.1. Descripción y principios de la prueba	42

4.4.5.2. Componentes del Kit	42
4.4.5.3. Preparaciones de reactivos y muestras	43
4.4.5.4. Procedimiento de la prueba	43
4.4.5.5. Validación	46
4.4.5.6. Interpretación del resultado	47
4.4.6. Metodología para obtención de resultados	48
4.4.6.1. Determinación de la seroprevalencia.....	48
4.4.6.2. Determinación del intervalo de confianza.....	48
4.4.6.3. Análisis estadístico.....	48
CAPITULO V.....	50
RESULTADOS Y DISCUSIONES	50
5.1. Seroprevalencia de anticuerpos contra los virus de la diarrea viral bovina en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinar.	50
5.2. Seroprevalencia de los ovinos persistentemente infectados (PI) con el VDVB de la feria ganadera Expo Reyes Espinar.	53
CAPÍTULO VI.....	54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
6.1. Conclusiones	54
6.2. Recomendaciones	54
BIBLIOGRAFÍA.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de ovinos según edad	24
Tabla 2. Distribución de las muestras de plasma sanguíneo en la placa ELISA, placa I.	38
Tabla 3. Distribución de las muestras de plasma sanguíneo en la placa ELISA, placa II.....	38
Tabla 4. Seroprevalencia de los anticuerpos contra el virus de diarrea viral bovina en ovinos, por edad.	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. Tipos de ELISA	26
Figura 02. Fase de la técnica Elisa indirecto.....	27
Figura 03. Fases de la Técnica Elisa de competición.	28
Figura 04. Mapa de la Provincia de Espinar	30
Figura 05. Colección de muestras de sangre de ovinos de la feria Expo Reyes.	35
Figura 06. Obtención de suero sanguíneo por centrifugación.	35
Figura 08. Homogenización de muestras	37
Figura 09. Agregado de diluyente 19 en cada pocillo	39
Figura 10. Incorporación de muestras de plasma sanguíneo	39
Figura 11. Incorporación de la solución de stop.....	40
Figura 12. Lectura de resultados en densidades ópticas	41
Figura 13. Homogenizado de las muestras.....	44
Figura 14. Añadido del diluyente a cada muestra	44
Figura 15. Añadido del control negativo.....	45
Figura 16. Añadido de los controles positivos.	45
Figura 17. Segundo lavado de pocillos.....	46
Figura 18. Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de diarrea viral bovina en ovinos de la feria Expo Reyes de Espinar.	51
Figura 19. Seroprevalencia de antígenos contra el virus de diarrea viral bovina en ovinos de la feria Expo Reyes de Espinar.	53

GLOSARIO

Ac	: Anticuerpo
Ag	: Antígeno
CNx	: Promedio control negativo
CPx	: Promedio control positivo
DO	: Densidad óptica
ELISA	: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima
PI	: Permanentemente infectados.

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue la detección de antígenos y anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en ovinos de la feria Expo Reyes de la provincia de Espinar. Mediante la prueba de ELISA competitiva para detectar anticuerpos de la diarrea viral bovina y el método de ELISA tipo sandwich para hallar antígenos del virus de la diarrea viral bovina, se trabajó con 168 muestras. Se aplicó la prueba de chi-cuadrado para el análisis de resultados. En los resultados se obtuvo una prevalencia general de anticuerpos contra el VDVB de 5.36 ± 0.033 % (9/168), presentándose mayormente en borregas con 6.14 ± 0.042 % (7/168) y en menor cantidad en borreguillas en 4.08 ± 0.053 % (2/168), no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes categorías de ovinos ($p > 0,05$). No se encontraron ovinos persistentemente infectados (PI) que son los portadores del VDVB. Se concluye que existe la enfermedad de la diarrea viral bovina en ovinos, más no se halló a los transmisores del VDVB en la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinar.

Palabras claves: anticuerpos, antígenos, diarrea viral bovina, ELISA prevalencia.

INTRODUCCIÓN

La región Cusco cuenta con una población de 1 208 799 ovinos. Siendo la provincia de Espinar poseedora de una población de 184 953 ovinos, en vista de que esta producción se viene potenciando (INEI, 2012).

La feria ganadera Expo Reyes de Espinar, se realiza cada mes de enero, donde participan productores independientes, asociaciones de productores e instituciones dedicadas a la crianza de ovinos, vacunos, camélidos sudamericanos y animales menores, de nivel local, regional y nacional (Reyes, 2020). En este entender, cerca de 540 ovinos son partícipes de esta feria anualmente (Reyes, 2020), lo que significaría un alto riesgo de contagio con el vDVB.

El rol del sector agrario regional es generar condiciones para el desarrollo de mercados competitivos y eficientes de bienes y servicios agrarios, así como disminuir la inequidad y la pobreza rural. Las ferias agropecuarias tienen como objetivo impulsar y promocionar a los productores pecuarios (INIA, 2013). Es así que en las ferias ganaderas, se viene exponiendo ganado ovino de buen potencial genético proveniente de diferentes provincias de la región Cusco, de los cuales se desconoce el estado sanitario, esto debido a que las instancias competentes no realizan controles sanitarios asociados a enfermedades virales antes de que ingresen a dichos campos feriales, por lo que, se podrían estar propagando enfermedades infecciosas como la Diarrea Viral Bovina que se transmite de los vacunos a los pequeños rumiantes como los ovinos.

La diarrea viral bovina es una enfermedad permanente en la población bovina. Genera graves patologías reproductivas, respiratorias y gastrointestinales en la ganadería bovina, generando así graves pérdidas económicas (Pedrera et al., 2007). Esta enfermedad es producida por el virus de la diarrea viral bovina (vDVB), miembro del género pestivirus, familia Flaviviridae, el cual causa problemas reproductivos, como la infertilidad, muerte embrionaria,

abortos, malformaciones congénitas y nacimientos de animales débiles, mayormente en el ganado bovino, que ocasionan pérdidas económicas cuantiosas (Rivera et al., 2004).

Todas estas consideraciones expuestas han motivado a realizar el presente estudio con la finalidad de contribuir al conocimiento sobre la presencia de este agente viral en ovinos en la feria ganadera Expo Reyes de Espinar.

CAPÍTULO I

1.1.PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

La feria ganadera Expo Reyes, de la provincia de Espinar, tiene como objetivo promocionar la producción pecuaria, incentivando la mejora de su calidad genética y su comercialización en condiciones competitivas (Reyes, 2020). La misma que podría estar contribuyendo a la transmisión de enfermedades virales como la enfermedad de la diarrea viral bovina (DVB) a especies susceptibles, si concurren animales infectados o portadores de este virus. En la feria ganadera Expo Reyes, se exponen animales (vacunos, ovinos y alpacas), de diversas procedencias, de los cuales se desconoce el estado sanitario, sobre todo de la presencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), siendo este virus de fácil contagio a especies como los ovinos. Se conoce que la enfermedad de la DVB ocasiona problemas reproductivos como abortos, infertilidad, retención placentaria, intervalos prolongados de partos, metritis, malformaciones congénitas (Quispe et al., 2008), reducción en la producción, menor tasa de concepción, defectos congénitos, retraso en el crecimiento y dificultades respiratorias (Arainga et al., 2010) en los bovinos. Sin embargo, la información existente acerca de las patologías que ocasiona en los ovinos es limitada, por lo que no se conoce con exactitud la magnitud de las pérdidas económicas ocasionadas por esta enfermedad. Un animal PI puede transmitir a otro el VDVB por contacto directo, debido a que elimina grandes cantidades de virus en las secreciones respiratorias, reproductivas y oculares de animales infectados (Burbano et al., 2006).

Los animales PI son la principal fuente de infección y reservorio del vDVB, los que eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, materia fecal, orina, semen, lágrimas y leche (Morales & Siever, 2002). Estos animales provienen de una infección vertical o transplacentaria cuando se infectan con el VDVB en edad de gestación de 80 a 120 días. La detección de los animales portadores PI es necesaria para evitar

la diseminación del VDVB (Morales & Siever, 2002).

Las áreas de pastoreo, corrales o las áreas destinadas para las ferias ganaderas son compartidas por ovinos y vacunos, en los cuales los ovinos susceptibles podrían contagiarse de enfermedades virales como la DVB.

1.2.JUSTIFICACIÓN

La feria ganadera Expo Reyes de Espinar se realiza cada año, la misma que recibe ovinos de buen potencial genético, de los cuales se debería conocer si presentan o no enfermedades virales como la diarrea viral bovina. En este entender, el presente estudio contribuyó a que los productores y organizadores tengan conocimiento sobre el estado de los animales que concurren a dicha feria; de este modo se garantiza el bienestar del animal y mejora de la producción ganadera. Este estudio permitió conocer cuál es el grado de contagio del virus de la DVB en los ovinos e identificar ovinos que estén pasando la fase de infección aguda, como consecuencia de la convivencia con otras especies como los vacunos, en espacios como los campos feriales. Así mismo, nos permitió identificar a los portadores del virus o persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina, los mismos que al diagnóstico positivo deberán ser eliminados de los hatos y llevados al camal.

Este trabajo de investigación se realizó con la finalidad de tener conocimiento sobre la existencia y prevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ovinos que participan en la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, el cual permitirá a que los profesionales competentes del área y los productores reflexionen acerca del impacto que genera este tipo de eventos en lo que compete a la salud animal, y puedan implementar estrategias para el control de enfermedades como la diarrea viral bovina, logrando así una mejora en la producción animal.

CAPÍTULO II

2.1.OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Objetivo general

Detectar los antígenos y anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinar.

2.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia de los anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes.
- Determinar la seroprevalencia de los ovinos persistentemente infectados (PI) con el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en la feria ganadera Expo Reyes Espinar.

CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO

3.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En un estudio realizado por Valdez et al. (2018) se analizaron 558 muestras de bovinos mayores de 6 meses hasta los 5 años, que dieron negativo a anticuerpos contra el vDVB en un estudio previo realizado en cinco distritos de la provincia de Anta. Mediante la prueba de RT-PCR en tiempo real, se logró identificar a los animales PI. El 7.2 % (40/558) de los bovinos resultaron positivos a antígenos contra el vDVB. En un segundo análisis que fue realizado pasados los 30 días, el 30% (12/40) dio positivo a antígeno, siendo estos los animales PI. La prevalencia de los animales PI fue de 2.2% (12/558).

El objetivo del estudio realizado por Llancares et al. (2012) fue determinar la frecuencia de los virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) y de la Enfermedad de la Frontera (EF) en ovinos reproductores con un promedio de cuatro años de edad, procedentes de la sierra central del Perú. Tomaron muestras de sangre de ovinos reproductoras hembras (n=165) y machos (n=165) aparentemente sanos, criados en forma extensiva. Los anticuerpos contra vDVB y mediante la prueba de neutralización viral. El $2.1 \pm 1.5\%$ (7/330) de ovinos reproductores tuvieron anticuerpos contra el vDVB.

En el estudio realizado por Flores et al. (2010), precisaron la relación del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) con los problemas reproductivos en borregas adultas de la sierra central del Perú. Seleccionaron 440 borregas y se dividieron en dos grupos: grupo caso (n=220) por borregas que abortaron y borregas vacías y un grupo control (n=220) por borregas sin problemas reproductivos. Mediante la prueba de neutralización, colectaron muestras de sangre. El $69.5 \pm 4.4\%$ (306/440) de borregas presentaron anticuerpos contra el vDVB, de estas, 73.6%

(162/220) pertenecen al grupo caso y 65.5% (144/220) al grupo control. No encontraron asociación estadística entre la presencia de anticuerpos contra el vDVB y la presencia de problemas reproductivos tuvo un rango de 2 a > 256 . Los resultados indicaron que el vDVB está presente en la población de borregas, pero se desconoce su rol en los problemas reproductivos.

En un estudio realizado por Gogorza et al. (2007), catorce ovinos seronegativos al vDVB fueron inoculados con sangre de bovinos seropositivos portadores del virus. Mediante un ELISA de captura (cELISA-FCV) determinaron la existencia de vDVB en leucocitos de sangre periférica de los ovinos inoculados. La presencia de anticuerpos fue determinada mediante una técnica de seroneutralización in vitro combinada con cELISA – FCV. En dos corderos inoculados se detectaron leucocitos infectados y respuesta inmune a la infección. Tres ovinos presentaron serología positiva sin expresión viral en los leucocitos y en los nueve ovinos restantes no se detectó actividad viral ni serología positiva. Los dos controles sin inocular no presentaron actividad viral ni respuesta inmune.

Alvarez et al. (2002), realizó un estudio con el objetivo de determinar la seroprevalencia del virus de la enfermedad de la diarrea viral bovina (DVB) en rumiantes de la comunidad de Silly, provincia de Canchis, Cusco. Realizó la detección de anticuerpos en suero sanguíneo de ovinos hembras adultas (n=45) mediante la prueba de neutralización. Detectó que el $13.3 \pm 9.9\%$ (6/45) de los ovinos presentaron anticuerpos contra la DVB. Sus resultados confirman la presencia de la infección de DVB en rumiantes bajo un sistema de crianza mixto en una comunidad campesina del Cusco.

3.2.BASES TEÓRICAS

3.2.1. Diarrea Viral Bovina (DVB)

La diarrea viral bovina (DVB) ocasiona grandes pérdidas en ganado de carne y leche, afectando de diversas formas la producción, las cuales varían de acuerdo a la edad, estado inmunológico y momento de la gestación en que se produce la infección, representando así un problema de ámbito mundial (Rondon, 2006).

3.2.1.1.Etiología

El virus de la diarrea viral bovina es el ejemplar representativo del género pestivirus y pertenece a la familia Flaviviridae (Rondon, 2006).

3.2.1.2.Taxonomía y estructura del virus de la DVB

El virus de la diarrea viral bovina pertenece al género Pestivirus de la familia Flaviviridae. Son virus envueltos, esféricos y miden de 40 a 60 nm de diámetro. Se componen de una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella (Lertora, 2003).

3.2.1.3.Variabilidad del virus de DVB

La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. Los virus ARN se caracterizan principalmente por su plasticidad y ésta se debe a que carecen de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando un cambio de base de alta frecuencia (1 error por cada 10.000 nucleótidos polimerizados). El vDVB usa esta estrategia para sobrevivir, creando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador (Lertora, 2003).

3.2.1.4.Genotipos del virus de la DVB

El vDVB se ha dividido tradicionalmente en dos genotipos. El vDVB tipo 1 es el responsable de procesos leves con sintomatología poco visible, caracterizados por una ligera elevación de la temperatura corporal y la presencia de lesiones moderadas restringidas al aparato digestivo y a órganos del sistema linfoide. En vacas gestantes este genotipo puede incitar abortos y otras patologías reproductivas. Los aislados de tipo 1 se emplean con frecuencia en el desarrollo de vacunas y métodos de diagnóstico (Pedrera et al., 2007).

Los aislados del vDVB tipo 2 están relacionados con enfermedades agudas severas, caracterizadas en ocasiones por presentar un cuadro hemorrágico agudo, conocido como síndrome hemorrágico, que causa la muerte de los animales (Pedrera et al., 2007).

3.2.1.5.Biotipos del VDVB

El vDVB se puede dividir en dos biotipos de virus: citopático (CP) y no citopático (NCP), siendo el de tipo NCP el más común en la naturaleza. Los biotipos de CP causan efectos citopáticos en cultivos de células epiteliales, manifestados por vacuolización citoplasmática y muerte celular. Sin embargo, los biotipos de NCP se reproducen en las células sin provocar cambios morfológicos evidentes en estos cultivos, lo que descarta la no patogenicidad de los biotipos NCP (Pedrera et al., 2007).

3.2.1.6.Hospedador

Los pestivirus infectan a los animales ungulados del orden artiodáctilos, como los bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos y rumiantes silvestres. Los pestivirus pueden cruzar esta barrera de infección, por lo que se sugiere implementar programas de control (Lertora, 2003).

3.2.1.7.Fuente de infección

La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los animales PI (permanentemente infectados). Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección, aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos periodos (Lertora, 2003).

3.2.1.8.Modos de transmisión

A. Transmisión vertical

Durante la preñez, algunas hembras susceptibles pueden ser infectadas, lo que generaría una infección transplacentaria. Si antes de obtener su inmunidad (aproximadamente antes del día 125 de gestación) el feto es infectado por biotipos NCP, desarrollará una infección persistente. Las hembras PI siempre dan terneros PI. Otra forma de transmisión vertical ocurre luego de la transferencia embrionaria, si el animal receptor es PI, o la vaca donante es PI (Lertora, 2003).

B. Transmisión horizontal

El contacto directo con animales que cursan una infección aguda puede transmitir el virus (Lertora, 2003). El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz-nariz, es el modo de transmisión más eficiente.

3.2.1.9.Patogénesis

Luego del contacto con membranas mucosas de la boca o nariz, la replicación se da en células epiteliales con una preferencia por las tonsilas palatinas. El virus presenta reacción de crecimiento por células mitóticamente activas como: linfocitos, fagocitos mononucleares y células epiteliales. La replicación comienza con la integración a la membrana plasmática e

inserción en la célula; el virus ingresa al citoplasma mediante endocitosis y libera su genoma en el citosol. La diseminación ocurre a través del virus libre en el suero o leucocitos infectados con el virus (Rondon, 2006).

A. Infección intrauterina

La infección intrauterina causada por una infección aguda en una hembra gestante entre los 3 primeros meses, puede generar animales PI (persistentemente infectados) o crías con malformaciones (Ramírez et al., 2012).

B. Infección neonatal

El ternero puede adquirir el virus de la DVB en la etapa perinatal, es decir en el último periodo de la gestación o pocos días después de nacer, desarrollando luego una severa inflamación del tubo digestivo (enteritis) a veces fatal, por lo tanto; los anticuerpos que el ternero recibe de la madre a través del calostro y leche se agotan entre los 105 a 230 días de edad, después del cual el incremento del nivel de anticuerpos puede ser debido a una infección natural o a la vacunación (Rivera , 1993).

C. Infección transplacentaria

El vDVB es capaz de atravesar la placenta, así como las barreras sanguíneas y el cerebro fetal, provocando diversas lesiones del sistema nervioso central (especialmente el cerebelo). Su agresividad de lesión aumenta con la edad del feto durante la infección.

También se han informado deformidades esqueléticas (extremidades posteriores, curvatura de las extremidades anteriores, braquignatismo mandibular, pérdida de pelo o lana y mandíbulas inestables) (Rondon, 2006).

Provoca reabsorción del embrión si la infección se produce antes de los 45 días, si la infección se produce entre los 50 y 100 días de vida puede producirse la muerte del feto con

posterior aborto o congelación del feto, si la infección se presenta entre los 100 y 150 días de vida, ocurren otras lesiones teratogénicas como microftalmos, hidrocefalia, cataratas, hipoplasia cerebelosa, hipoplasia pulmonar, ya que durante este periodo de vida intrauterina se completa el desarrollo del sistema nervioso central y la capacidad del sistema inmune (Rivera G, 1993).

D. Infección persistente

La infección fetal con vDVB puede resultar en el nacimiento de ganado inmunotolerante a DVB con una infección continua poco aparente. Los animales PI resultan por la infección fetal con una cepa NCP de baja patogenia durante el primer trimestre de gestación. El sistema inmune fetal infectado con DVB NCP antes del día 125 de preñez no reconoce el vDVB como agente infeccioso. Sólo la cepa NCP puede causar una infección permanente en el feto (Rondon, 2006).

3.2.1.10. Síntomas clínicos

Entre los signos comunes, se puede apreciar fiebre, diarrea, descarga ocular y nasal, baja calidad de semen, úlceras en boca y vulva, lesiones hemorrágicas en las mucosas bucales y genitales, inapetencia, anemia, hasta la muerte (Pedrera et al.2007).

Crías que nacen muertas, prematuras o que nacen al morir. Crías con problemas neurológicos (incapacidad para pararse o mamar, temblores severos, incoordinación, bajo peso al nacer), brotes de enfermedades respiratorias en grupo (Serrano, 2014).

3.2.1.11. Diagnóstico

El diagnóstico de este problema depende de la cuidadosa recopilación de anamnesis reproductiva y registros clínicos, una cuidadosa selección y recolección de muestras para detectar la presencia de patógenos virales y anticuerpos especiales (Serrano, 2014).

3.2.1.12. Control y Prevención

Perú no cuenta con un sistema regulatorio de DVB. Algunos ganaderos de las principales cuencas lecheras usan vacunas; las vacunas legalmente aprobadas no son comúnmente administradas, y su uso es voluntario y preventivo, no administrada bajo reglamento.

Las vacunas sólo pueden ser útiles si se utilizan de forma inteligente y sistemática, es decir como medida de bioseguridad y junto con la detección de PI y un seguimiento periódico (Rivera G, 2008).

3.3. Bases conceptuales

3.3.1. Clasificación del ganado ovino

Tabla 1. Clasificación de ovinos según edad

Denominación	Sexo	Edad	
Cordero	Macho o hembra	0-4 meses	Nacimiento - destete
Borreguilla	Hembra	5-7 meses	Destete - empadre
Carnerillo	Macho	5-7 meses	Destete - empadre
Caponcito	Macho castrado	5-14 meses	Destete- primera esquila
Borrega	Hembra	>18 meses	A partir del empadre
Carnero	macho	>18 meses	
Capón	Macho castrado	>15 meses	

(Ramírez Ruíz, 2012).

3.3.2. Antígeno

Una molécula de naturaleza anormal para el organismo, de procedencia exógena o endógena. Puede unirse directamente a un anticuerpo o a un receptor de célula T (TCR), pero no activa necesariamente el sistema inmune (Vega Robledo, 2009).

3.3.3. Anticuerpo

Los anticuerpos son moléculas glicoprotéicas que tienen la capacidad de combinarse

específicamente con un antígeno. El anticuerpo se une al antígeno en forma específica, en respuesta del sistema inmune a la presencia de un cuerpo extraño para el organismo (Vega R, 2008).

3.3.4. Reacción antígeno – anticuerpo.

Es un proceso bioquímico complejo en el que los anticuerpos, reconocen y se unen a moléculas específicas (antígenos). Esta interacción es altamente específica y es crucial para la identificación y neutralización de patógenos como virus, parásitos, bacterias y hongos (Clínica Universidad Navarra, 2023).

3.3.5. Prueba de ELISA

ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), permite la detección de antígenos o anticuerpos específicos en una muestra, mediante una combinación de principios inmunológicos y enzimáticos (Ríos et al., 2012).

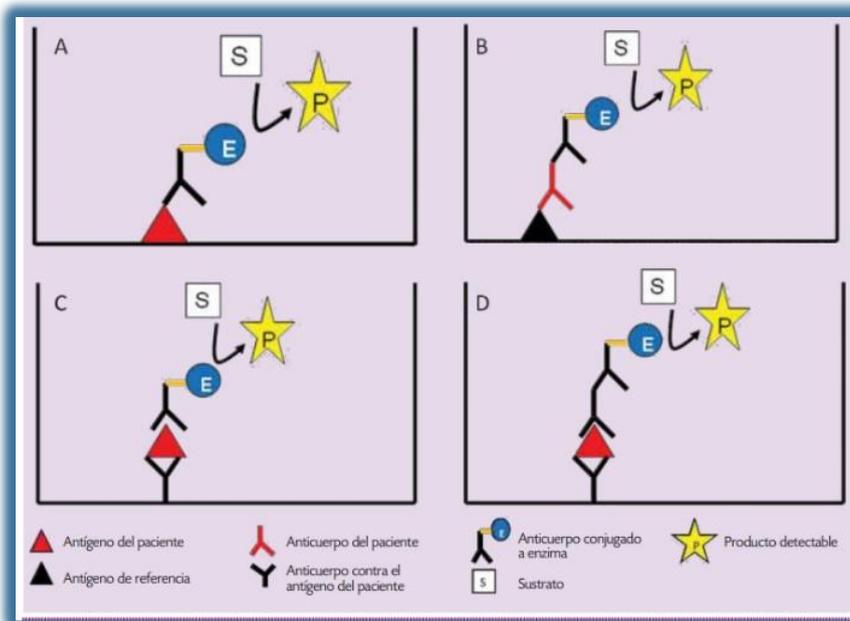
En ELISA se utiliza una enzima unida covalentemente a un antígeno o a un anticuerpo. Si el antígeno o el anticuerpo de interés están presentes en la muestra, el anticuerpo marcado con la enzima se unirá a ellos (principio inmunológico) y la enzima convertirá un sustrato incoloro en un producto detectable (principio enzimático) (Ríos et al., 2012).

La interacción antígeno-anticuerpo se detecta por la reacción colorimétrica que produce la enzima (adherida al antígeno o anticuerpo) cuando se degrada la partícula adecuada. La medida de absorbancia en pocillos de ELISA permite comparar la respuesta inmunológica (Rodríguez, 2004).

Todos los ELISA utilizan una enzima ligada a un antígeno o anticuerpo. El método ELISA detecta anticuerpos cuando la enzima se une a anticuerpos contra la inmunoglobulina y antígenos cuando la enzima se une a anticuerpos contra un antígeno específico. Cuando un

antígeno o anticuerpo de interés está presente en una muestra de prueba, una enzima etiquetada como anticuerpo se une a él (principio inmunológico) y esta enzima convierte una partícula incolora en un producto visible (principio inmunológico enzimático). Por lo tanto, se produce un producto detectable sólo cuando el antígeno o anticuerpo de interés está presente en la muestra de prueba (Ríos et al., 2012).

Figura 01. Tipos de ELISA



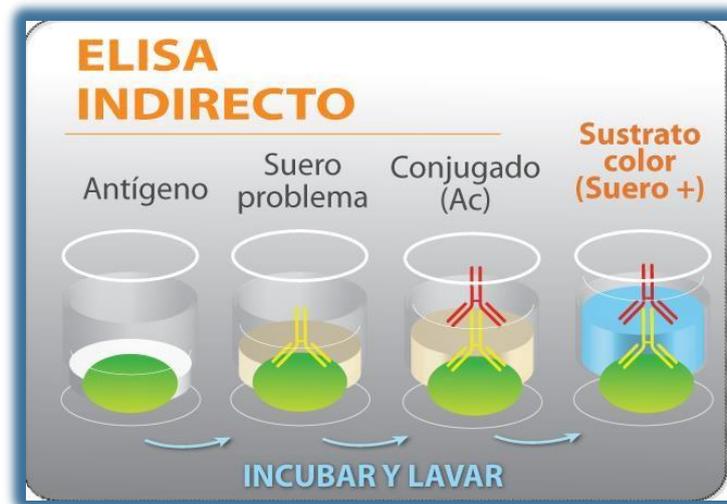
Nota: A) ELISA directo, B) ELISA indirecto, C) ELISA de Sándwich directo D) ELISA de Sándwich indirecto (Ríos et al., 2012)

ELISA indirecto

Esto ayuda a encontrar anticuerpos. En esta prueba, un antígeno específico se une a un sustrato, al que se dirige el anticuerpo de interés en la muestra. En la primera etapa, se agrega la muestra, y si hay anticuerpos, se unen al antígeno que ya está adherido a la parte inferior. Luego se lava para eliminar cualquier material que no se una al antígeno y se agrega un anticuerpo anti inmunoglobulina ligado a enzima, que sólo se unirá a los anticuerpos si están presentes en la muestra. Luego del segundo paso de lavado, se elimina todo el conjugado sin recubrimiento; se agrega un sustrato incoloro, que se convierte en un producto visible mientras el conjugado

aún está presente (Ríos et al., 2012).

Figura 02. Fase de la técnica Elisa indirecto.

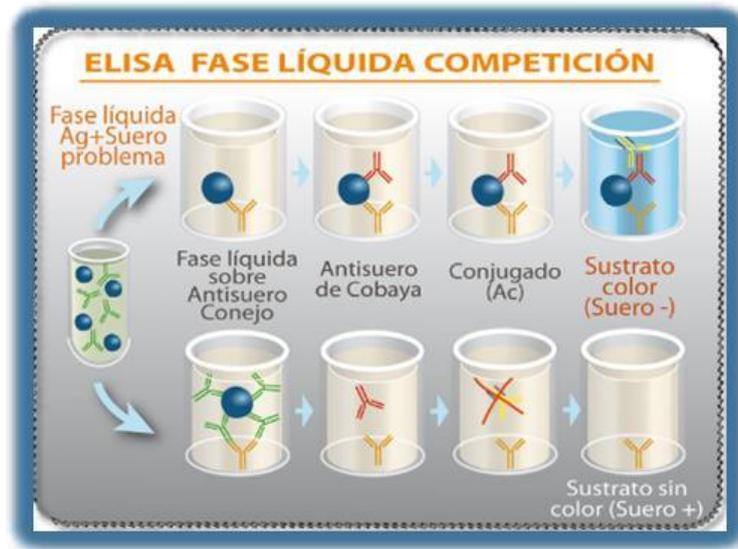


Nota: Esta figura demuestra los pasos del método ELISA indirecta, donde: (1) El antígeno se pega a la placa (2) Se añade el suero problema. (3) posteriormente, el conjugado. (4) y, por último, el sustrato (Sánchez, 2004).

ELISA competitivo

Los anticuerpos o antígenos no reaccionan bien en la fase sólida y su unión al conjugado antígeno-enzima o anticuerpo-enzima se ve obstaculizada por la presencia de un analito no marcado en la muestra. Las incubaciones entre muestras y conjugados pueden ser simultaneas o secuenciales. Esta última opción es poco competitiva, consigue una alta tasa de detección y es recomendable cuando se van a encontrar anticuerpos inmunes débiles (Ochoa, 2012).

Figura 03. Fases de la Técnica Elisa de competición.



Nota: Esta figura demuestra los pasos del método ELISA competitivo, donde: (1) Se incubó el suero problema con el antígeno. (2) La mezcla anterior se deposita sobre los pocillos donde previamente se ha fijado un suero anti antígeno (3) se añade el conjugado. (4) después, el sustrato. En este caso la ausencia de color sería positivo (Sánchez, 2004).

3.3.6. Persistentemente Infectados

Los animales PI se infectan durante toda su vida y no producen anticuerpos que produzcan tolerancia. Se debe monitorear la enfermedad persistente en terneros jóvenes al nacer, con crecimiento y ganancia de peso lentos, enfermedades respiratorias y digestivas leves y recurrentes. Algunos gozan de buena salud física, lo que hace que su diagnóstico sea importante (Lertora, 2003).

3.3.7. Incidencia

Lo principal de esta medida es detectar nuevos casos de esta enfermedad que aparecen en la población en un momento dado (Fajardo, 2017).

3.3.8. Prevalencia

Mide el porcentaje de individuos que se encuentran enfermos durante una evaluación de la población (Fajardo, 2017).

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este estudio es una investigación básica de tipo descriptivo, según su diseño es no experimental.

4.2. ÁMBITO DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en el ámbito de la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinar, departamento de Cusco. Consecuentemente, se realizó el análisis de las muestras de sangre en el laboratorio de Sanidad Animal "M.V.Z Atilio Pacheco Pacheco" de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia-UNSAAC.

Figura 04. Mapa de la Provincia de Espinar



Fuente: (Gobierno Regional del Cusco, 2020)

4.2.1. Ubicación política de la provincia de Espinar

- Región : Cusco
- Departamento : Cusco
- Provincia : Espinar

4.2.2. Ubicación geográfica de la provincia de Espinar

- Latitud sur : 14° 47' 35'
- Longitud oeste : 71° 24' 46'
- Altitud: : 3975 m s.n.m
- Superficie : 73 600 hectáreas

4.2.3. Límites

- Por el norte : Provincia de Canas
- Por el sur : Región Arequipa
- Por el oeste : Provincia de Chumbivilcas
- Por el este : Provincia de Chumbivilcas

(Gil, 2021)

4.2.4. Datos climáticos

- Temperatura:

Máxima: 16.3°C (noviembre y diciembre con mayor sensación de calor)

Mínima: -4.46°C (mayor sensación de frío en junio, julio, agosto)

- Precipitaciones: Media anual: 775.8 mm (Gil, 2021).

4.3.MATERIALES DE ESTUDIO

4.3.1. De los animales

Ovinos hembras y machos mayores a 6 meses de edad de raza Corriedale que concurren a la feria ganadera Expo Reyes de Espinar.

4.3.2. Tamaño de muestras

Se colectaron muestras de sangre de ovinos, entre machos y hembras, haciendo un total de 168 muestras, se determinó según la siguiente fórmula (**Anexo 01**)

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

Dónde:

N: tamaño de la población.

Z: 1.7, nivel de confianza que se da a la muestra.

p: variabilidad 0.5

q: variabilidad 0.5.

E: error experimental 0.09%

n: tamaño de muestra.

(Aguilar B, 2005)

4.3.3. Materiales para la toma de muestra

- Tubos vacutainer de 5 ml
- Agujas vacutainer 21G x 1”
- Capuchón para vacutainer
- Algodón

- Alcohol
- Guantes descartables
- Soga
- Ficheros y registros

4.3.4. Equipos, instrumentos y materiales de laboratorio

4.3.4.1. Equipos e instrumentos

- Lavador de placa ELISA
- Incubadora
- Refrigeradora de 8°C
- Congeladora a -20°C
- Micropipeta Unicanal de 10-200 µL
- Micropipeta Unicanal de 10 a 1000 µL
- Lector microplacas ELISA
- Vortex
- Cabina de flujo laminar
- Lavador de placas
- Centrifuga
- Probetas de 100-1000ml

4.3.4.2. Materiales y reactivos de laboratorio

- Kit de ELISA para anticuerpos del virus de DVB
- Kit de ELISA para antígenos del virus de DVB
- Suero sanguíneo
- Puntas desechables
- Caja porta tips

- Agua destilada
- Papel absorbente
- Parafilm
- Mandil
- Barbijo
- Guantes
- Crioviales de 2 ml
- Gradillas
- Pipetas Pasteur desechables

4.4.METODOLOGÍA

4.4.1. Obtención de muestras de muestras sanguíneas

Las muestras de sangre se obtuvieron de ovinos hembras y machos mayores de 6 meses de edad de la raza Corriedale, que participaron de la feria Expo Reyes de Espinar. Dichas muestras se obtuvieron por punción de la vena cefálica, para lo cual se realizó la desinfección de la zona con alcohol de 70°, se colectó la muestra en un tubo vacutainer de 5 ml con separador de suero, el cual se rotuló con los datos del ovino (sexo, número de arete o nombre). Estas muestras se colocaron en un cooler refrigerado para conservar las muestras durante el traslado al laboratorio.

Figura 05. Colección de muestras de sangre de ovinos de la feria Expo Reyes.



4.4.2. Obtención del suero sanguíneo.

La obtención de suero es mediante la centrifugación a 1500 RPM por 10 minutos (figura 06). Se procedió a separar cuidadosamente la porción transparente (suero), con ayuda de una pipeta Pasteur estéril.

Figura 06. Obtención de suero sanguíneo por centrifugación.



4.4.3. Separación del suero sanguíneo

Se separó el suero en crioviales de 1.5 ml y se rotularon colocando el número de arete o nombre de la oveja.

Figura 07. Separación del suero sanguíneo en crioviales.



4.4.4. Método de ELISA competitivo para detectar anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB)

4.4.4.1. Descripción y principios de la prueba

Los pocillos vienen sensibilizados con el antígeno p80 del virus BVD. Las muestras y controles son añadidos a los pocillos. Los anticuerpos anti-BVD p80, si están presentes, formarán un complejo antígeno-anticuerpo que enmascara los epítomos p80. Un conjugado anti-p80 marcado con peroxidasa (HRP, por sus siglas en inglés) es añadido a los pocillos. Este se fija a los antígenos libres, formando un complejo antígeno-conjugado-HRP. El exceso de conjugado es removido mediante lavados, y la solución de revelación (TMB) es añadida. El resultado de la coloración depende de la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra a analizar:

- En ausencia de anticuerpos, aparece una coloración azul, que cambió a amarillo al añadir la solución parada.
- En presencia de anticuerpos, no aparece coloración.

La microplaca es leída a una longitud de onda de 450 nm.

4.4.4.2. Preparación de la muestra y reactivos

- Se descongelaron y homogenizaron las muestras antes de realizar la prueba.
- Se preparó la solución de lavado (1x) diluyendo 1:20 la solución de lavado concentrada (20x) en agua destilada.
- Se dejó que todos los reactivos alcancen 18°C antes de ser usados. Los reactivos fueron mezclados agitándose suavemente.

Figura 08. Homogenización de muestras



Después de homogenizar las muestras, se prepararon las plantillas de ELISA, donde se asignaron las posiciones de las muestras en cada pocillo de la placa.

Tabla 2. Distribución de las muestras de plasma sanguíneo en la placa ELISA, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	M5	M13	M21	M29	M37	M45	M53	M61	M69	M77	M85
B	CP	M6	M14	M22	M30	M38	M46	M54	M62	M70	M78	M86
C	CN	M7	M15	M23	M31	M39	M47	M55	M63	M71	M79	M87
D	CN	M8	M16	M24	M32	M40	M48	M56	M64	M72	M80	M88
E	M1	M9	M17	M25	M33	M41	M49	M57	M65	M73	M81	M89
F	M2	M10	M18	M26	M34	M42	M50	M58	M66	M74	M82	M90
G	M3	M11	M19	M27	M35	M43	M51	M59	M67	M75	M83	M91
H	M4	M12	M20	M28	M36	M44	M52	M60	M68	M76	M84	M92

Tabla 3. Distribución de las muestras de plasma sanguíneo en la placa ELISA, placa II

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	CP	M97	M105	M113	M121	M129	M137	M145
B	CP	M98	M106	M114	M122	M130	M138	
C	CN	M99	M107	M115	M123	M131	M139	
D	CN	M100	M108	M116	M124	M132	M140	
E	M93	M101	M109	M117	M125	M133	M141	
F	M94	M102	M110	M118	M126	M134	M142	
G	M95	M103	M111	M119	M127	M135	M143	
H	M96	M104	M112	M120	M128	M136	M144	

Donde:

CP: control positivo

CN: control negativo

M: muestra

4.4.4.3. Procedimiento de la prueba

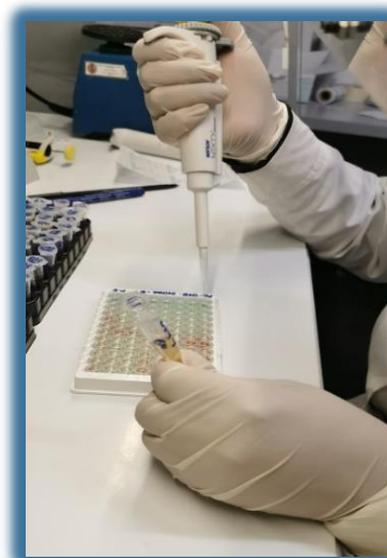
1. Distribución de controles y muestras

- Se dispensaron 90 μL de diluyente 19 en cada pocillo (Figura 8).
- Se dispensaron 10 μL de control positivo a los pocillos A1 y B1.
- Se dispensaron 10 μL de control negativo a los pocillos C1 y D1.
- Se dispensaron 10 μL de cada muestra a analizar por pocillo.
- Se cubrió e incubó la placa a 37° por 45 minutos.

Figura 09. Agregado de diluyente 19 en cada pocillo



Figura 10. Incorporación de muestras de plasma sanguíneo



2. Se vació los pocillos. Se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 μL de solución de lavado 3 veces. Evitamos el secado entre cada pocillo.
3. Se añadió 100 μL de conjugado diluido en cada pocillo.
4. Cubrimos la placa e incubamos 30 minutos a 26°C.
5. Se vaciaron los pocillos, lavamos cada pocillo con 300 μL de solución de lavado por tres veces.
6. Añadimos 100 μL de la solución de revelación a cada pocillo.
7. Se cubrió la placa e incubó 15 min a 21°C en la oscuridad.
8. Se distribuyó 100 μL de solución stop a cada pocillo (figura 11).
9. Se hizo la lectura de las densidades ópticas a 450 nm y el posterior cálculo de resultados (figura 12).

Figura 11. Incorporación de la solución de stop.



Figura 12. Lectura de resultados en densidades ópticas



4.4.4.4. Validación de la prueba

La prueba es válida si:

- El valor medio de las densidades ópticas de los controles negativos (DO_{CN}) es superior 0.7

$$(DO_{CN}) > 0.7$$

- El valor medio de las densidades ópticas de los controles positivos (DO_{cp}) es inferior al 30% del (DO_{CN})

$$(DO_{cp}) / (DO_{CN}) < 0.3$$

4.4.4.5. Cálculo de resultados

Para cada muestra, calcular el porcentaje de competición

$$S/N\% = \frac{DO_{muestra}}{DO_{CN}} \times 100$$

4.4.4.6. Interpretación

El diagnóstico es:

- Positivo si el $S/N \% \leq 40\%$
- Dudoso si el $40\% < S/N \% \leq 50\%$
- Negativo si el $S/N \% > 50\%$

4.4.5. Método de ELISA tipo Sándwich para detectar antígenos del virus de la DVB

4.4.5.1.Descripción y principios de la prueba

Los micropocillos están recubiertos con anticuerpo anti BDVB-P80. Las muestras por analizar y los controles se agregan a los micropocillos BDVB-P80; si está presente, forma un complejo anticuerpo-antígeno. Después del lavado, se agrega un conjugado anti BVDV-P80-HRP (peroxidasa de rábano picante), formando un complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo-HRP. Después de lavar para eliminar el exceso de conjugado, se agrega la solución de sustrato (TBM). La coloración resultante depende de la cantidad de BVDV-P80 presente en la muestra a analizar:

- En presencia de BVDV-P80, aparece una coloración azul que se vuelve amarilla después de la adición de la solución de parada.
- En ausencia de BVDV-P80, no aparece coloración.

4.4.5.2.Componentes del Kit

- Microplacas sensibilizadas con un anticuerpo anti BVDV-P80.
- Conjugado concentrado (1X)
- Control positivo liofilizado
- Tampón de reconstitución
- Control negativo
- Diluyente 2

- Diluyente 12
- Solución de lavado concentrada (20X)
- Solución de revelación

4.4.5.3.Preparaciones de reactivos y muestras

- **Solución de lavado.** Fue necesario equilibrar la solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente (21°C) y agitar correctamente para obtener la disolución de los cristales. Se preparó la solución de lavado (1X) diluyendo 1:20 la solución de lavado concentrada (20X) en agua destilada.
- **Control positivo.** Se reconstituyó el control positivo liofilizado con el tampón de reconstitución suministrado. El volumen a agregar se menciona en la etiqueta de cada vial. Esperar aproximadamente 5 minutos y mezclar suavemente, pero a fondo.

4.4.5.4.Procedimiento de la prueba

1. Antes de ser utilizados, se homogenizó las muestras en el Vortex (figura 13).
2. Se distribuyó 50 µL de diluyente 2 en cada pocillo (figura 14).
3. Se distribuyó 20 µL de control negativo en los pocillos A1 y B1 (figura 15).
4. Se distribuyó 20 µL de control positivo en los pocillos C1 y D1 (figura 16).

Figura 13. Homogenizado de las muestras.



Figura 14. Añadido del diluyente a cada muestra



Figura 15. Añadido del control negativo



Figura 16. Añadido de los controles positivos.



5. Se distribuyó 50 μL de cada muestra a analizar.
6. Se cubrió la placa, agitando con un agitador de placas por 1 minuto (a 500 rpm) e incubó 60 min a 37°C.
7. Se vació los pocillos. Se lavó cada pocillo 5 veces con al menos 300 μL de la solución de lavado, evitando el desecado de los pocillos entre los lavados (Anexo 18).

8. Se preparó el conjugado 1X diluyendo el conjugado concentrado 10X a razón de 1:10 en el diluyente 12.
9. Se distribuyó 100 μ L del conjugado 1X a todos los pocillos (Anexo 19).
10. Se cubrió la placa e incubó 30 min a 37°C.
11. Se vació los pocillos. Se lavó 3 veces cada pocillo con 300 μ L de solución de lavado (figura 16).

Figura 17. Segundo lavado de pocillos.



12. Se añadió 100 μ L de solución de revelación a cada pocillo.
13. Se cubrió e incubó la placa por 15 min a 21°C en la oscuridad.
14. Se agregó 100 μ L de solución de parada a cada pocillo para detener la redacción y se leyó a 450 nm de longitud de onda en un lector de microplacas ELISA.

4.4.5.5. Validación

El test es válido si el valor medio de la densidad óptica de los controles positivos (DO_{CP})

es superior a 0.500.

$$DO_{CP} > 0.500$$

La relación de los valores medios de la densidad óptica de los controles positivos (DO_{CP}) y los valores medios de la densidad óptica de los valores negativos (DO_{CN}) es superior a 3.

$$DO_{CP} / DO_{CN} > 3$$

4.4.5.6. Interpretación del resultado

Para cada muestra, calcular el porcentaje (S/P %) según la siguiente

Formula:

$$\frac{S}{P} = \frac{DO_{muestra} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} * 100$$

El diagnostico se considera:

- Negativo si el S/P% < 35%
- Positivo si el S/P % \geq 35%

4.4.6. Metodología para obtención de resultados

4.4.6.1. Determinación de la seroprevalencia

Para calcular la seroprevalencia del virus de diarrea viral bovina se utilizó la fórmula de Mendenhall et al. (2010):

$$Prevalencia = \frac{\text{Total de animales infectados}}{\text{Total de animales muestreados}} * 100$$

4.4.6.2. Determinación del intervalo de confianza

El intervalo de confianza se obtuvo mediante la fórmula de Mendenhall et al. (2010).

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

Donde:

P: prevalencia

Z: desviación con relación a la distribución normal estándar

p. proporción de ovinos positivos

q: proporción de ovinos negativos

N: tamaño de la población total.

4.4.6.3. Análisis estadístico

Las variables son las siguientes:

- Borrega

- Borreguillas
- Carnero

Las variables se procesaron mediante la prueba de Chi- cuadrado, con nivel de significancia 1 %

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Donde:

χ^2 : Chi-cuadrado calculado

O_i : valores observados para anticuerpos de DVB

E_i : valores esperados para anticuerpos de DVB

Σ : sumatoria

Fuente: Mendenhall et al. (2010)

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1.Seroprevalencia de anticuerpos contra los virus de la diarrea viral bovina en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinar.

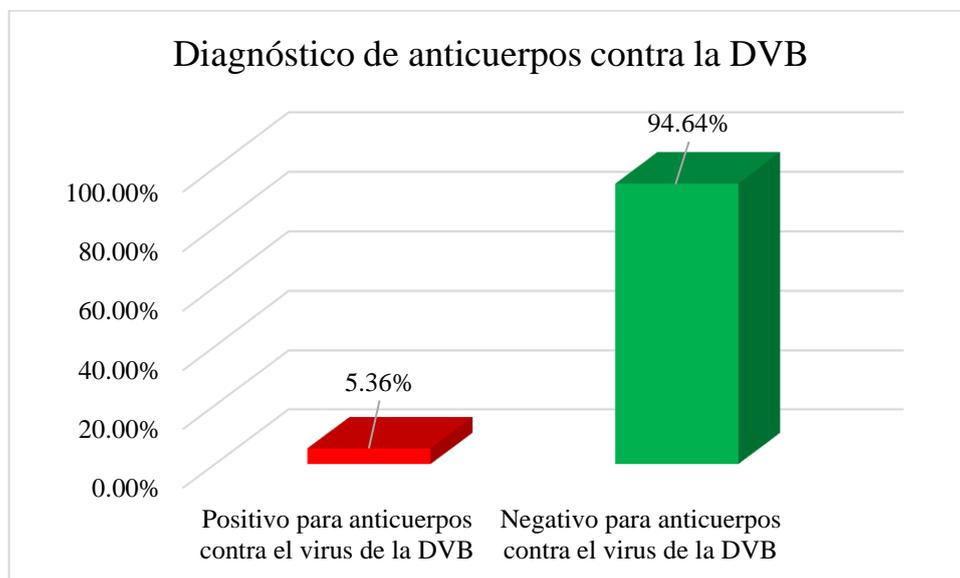
Se ha determinado la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes (ver Tabla 3).

Tabla 4. Seroprevalencia de los anticuerpos contra el virus de diarrea viral bovina en ovinos, por edad.

Categoría	Número de ovinos evaluados	Positivos a anticuerpos de la DVB	Negativos a anticuerpos de la DVB	Prevalencia de los anticuerpos de a DVB
Borrega	114	7	107	6.14 ± 0.042%
Borreguilla	49	2	47	4.08 ± 0.053%
Carnero	5	0	5	0.00 ± 0.00%
Total	168	9	159	5.36 ± 0.033%

En la tabla 3, se muestra que, la mayor seroprevalencia de diarrea viral bovina (DVB) se presentó en ovinos de categoría borrega (hembras mayores de 18 meses) con 6.14 ± 0.042 %; esto se debería a que los ovinos en edad adulta tienen mayor exposición al virus sobre todo cuando participan de eventos feriales. En la categoría borreguilla se encontró un 4.08 ± 0.053 % y en carnero no se encontró seropositivos, siendo la seroprevalencia de 0.00%. No habiendo diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) en la presentación de diarrea viral bovina en las diferentes categorías (Anexo 13).

Figura 18. Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de diarrea viral bovina en ovinos de la feria Expo Reyes de Espinar.



El presente estudio evidencia la presencia del virus de la diarrea viral bovina en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, la misma que corresponde a una seroprevalencia general de 5.36% (9/168). Nuestros resultados demuestran que la enfermedad se viene transmitiendo a los pequeños rumiantes como los ovinos, debido a la ausencia de control sanitario de animales que ingresan a las ferias agropecuarias.

El presente trabajo de investigación obtuvo resultados inferiores a los obtenidos por Álvarez et al. (2002), en la comunidad de Silly de la provincia de Canchis-Cusco, quien reportó una prevalencia de 13.3 % \pm 9.9% la misma que podría estar asociada al sistema de crianza mixta. Según Álvarez et al. (2002) la prevalencia del virus de la DVB se debe a la crianza mixta de rebaños, el elevado estado de estrés por fallas nutricionales en zonas de crianza extensiva, existencia de carga parasitaria en pastos, cobertizos y zonas de descanso de los animales.

Por otro lado Flores et al. (2010) obtuvieron 69.5 \pm 4.4 % (306/440) de animales seropositivos al virus de DVB, mediante la prueba de seroneutralización, no encontrando una

asociación entre las edades y lugar de procedencia al igual que en nuestro estudio. La presencia de ovinos seropositivos podría ser a causa de un mal manejo de las pasturas comunes entre bovinos y ovinos, y la existencia de una gran cercanía física entre estas especies, que facilita la infección en los ovinos, tal como refiere Flores et al. (2010). Sin embargo, Flores et al. (2010) no encontró asociación entre la existencia del virus de la DVB y los problemas reproductivos, atribuyéndolos a la aparición de otras infecciones.

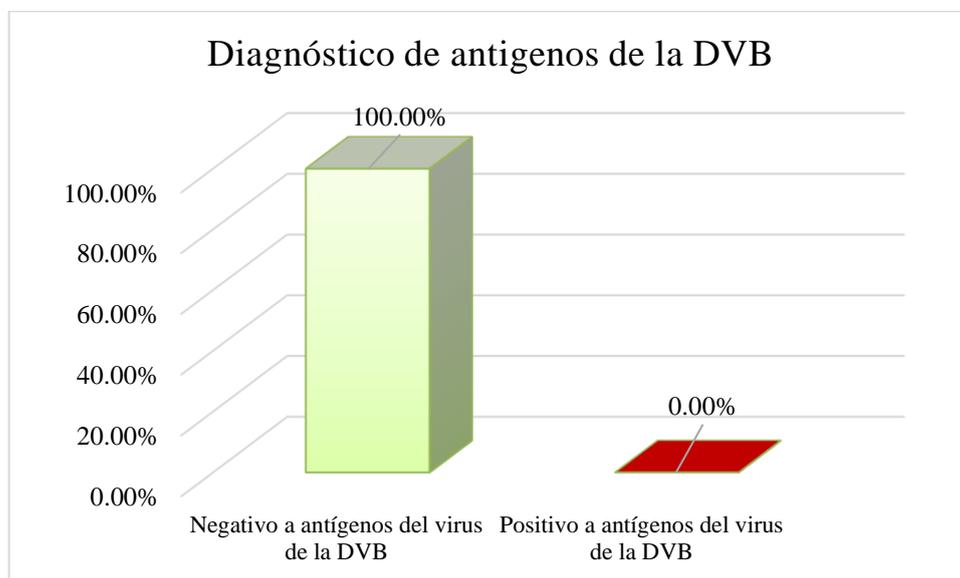
Asimismo, Llancars (2012), mediante la prueba de neutralización viral, obtuvo resultados inferiores a este trabajo de investigación, evidenciando que un 2.1 ± 1.5 % (7/330) presentaron anticuerpos contra el virus de la DVB. Esta baja prevalencia es similar a nuestro estudio, sugiriendo que, el virus no se encuentra activo en la población de ovinos, y que su baja presencia sería producto de una infección muy antigua y transitoria en los ovinos.

Por otro lado, Gogorza et al. (2007) Inoculó a 14 ovinos seronegativos con sangre de bovinos seropositivos portadores del virus de la DVB, observando la presencia de anticuerpos mediante la técnica de seroneutralización in vitro y demostrando que en ovinos existe respuesta inmunitaria frente a la infección por el virus de la diarrea viral bovina, por lo tanto; los ovinos son animales susceptibles a contagiarse con este agente patógeno. Sin embargo, no hay evidencias de que puedan existir ovinos persistentemente infectados.

5.2. Seroprevalencia de los ovinos persistentemente infectados (PI) con el VDVB de la feria ganadera Expo Reyes Espinar.

No se encontró seroprevalencia de antígenos contra el vDVB, lo que nos indica la no existencia de ovinos persistentemente infectados (PI) en la feria ganadera Expo Reyes – Espinar.

Figura 19. Seroprevalencia de antígenos contra el virus de diarrea viral bovina en ovinos de la feria Expo Reyes de Espinar.



El presente trabajo de investigación obtuvo resultados negativos a la existencia de animales PI dentro de la feria ganadera Expo Reyes de la provincia de Espinar, lo contrario al estudio de investigación realizado por Valdez G. et al. (2018) donde obtuvieron un 2.2% (12/558) de prevalencia de bovinos PI y ponen en evidencia de que, la baja o nula existencia de los animales PI podría deberse a que muchos de estos mueren antes de los 6 meses de edad debido a complicaciones respiratorias y gástricas o por friaje en las zonas altoandinas. Asimismo, indican que la mayor existencia de animales PI se ha reportado en crías de tipo intensivo.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- Se obtuvieron resultados positivos para la existencia de anticuerpos contra el virus de la DVB, lo que nos indica que existió la enfermedad de la DVB en los ovinos que concurren a la feria ganadera de Expo Reyes de Espinar, ya sean como resultado de infecciones anteriores o recientes. El mayor porcentaje de anticuerpos se halló en borregas y en menor cantidad en borreguillas, no habiendo diferencias significativas ($p>0,05$) entre categorías.

- No se encontraron ovinos portadores (PI) del vDVB en la feria ganadera Expo Reyes-Espinar

6.2. Recomendaciones

- Incentivar a los organizadores y productores a portar un certificado de sanidad de todas las especies antes de que ingresen al campo ferial, con el fin de evitar el contagio de enfermedades, especialmente de tipo viral que saltan entre especies.

- Solicitar a los productores el certificado de sanidad de cada ovino antes del ingreso al campo ferial, especialmente el certificado de sanidad de antígenos del virus de la diarrea viral bovina.

- Brindar charlas sobre buenas prácticas sanitarias a los productores que participan en la feria ganadera, con la finalidad de fomentar la educación sanitaria de los mismos.

- Desinfección de los carros que transportan ovinos a las ferias ganaderas.

- Se debe realizar estudios de prevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ovinos que participan en otras ferias ganaderas de la región Cusco, que permitan conocer el estado sanitario de los ovinos de la región, para su mejor control.

- Desde los gobiernos locales se debe impulsar el control y la prevención de enfermedades virales como la Diarrea Viral Bovina (DVB) en las distintas ferias ganaderas de la región Cusco, con la finalidad de disminuir la prevalencia de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar B, S. (2005). *Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigación en salud*. 11(1–2), 333–338. <https://www.redalyc.org/pdf/487/48711206.pdf>
- Alvarez Ll., S., Rivera G., H., Pezo C., D., & Garcia V., W. (2002). Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. Investig. Vet. Perú*, 13(1), 1–5. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000200023
- Araing R., M., Rivera G., H., Huaman G., J. C., & Manchego S., A. (2010). Fenotipo y genotipo del virus de la diarrea viral aislado de bovinos en el Perú. *Revista de Investigacion Veterinaria Del Peru.*, 21(2), 1–12. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000200023
- Burbano C., H., Vera A., V. J., & Ramírez N., G. (2006). Detección de biotipos del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) a través de RT-PCR. *Dialnet*, 11, 7–14.
- Censo Nacional Agropecuario -INEI. (2012). *Ovinos por categoria y raza*. Clinica Universidad Navarra. (2023). *Reacción antígeno-anticuerpo*.
- Fajardo Gutierrez, A. (2017). Medición en epidemiología: prevalencia, incidencia, riesgo, medidas de impacto. *Revista Alergia México*, 64(1), 109–120.
- Flores B., D., Rivera G., H., Gavidia Ch., C., & Manchego S., A. (2010). Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina y su asociación con problemas reproductivos en borregas de una empresa ovejera de la Sierra Central Del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 21(1), 113–118.
- Gil, J. E. (2021). Requerimiento hidrico y areas sujetas a riego en Espinar: estimaciones. *Ambiente, Comportamiento y Sociedad*, 4(1), 1–25. <https://doi.org/10.51343/racs.v4i1.811>
- Gogorza, L., Morán, P., & Esteban, E. (2007). *Transmisión experimental del virus de la diarrea viral bovina, de vacunos seropositivos portadores a ovinos* *. 102–105.

- INIA. (2013). *Estudio de pre inversión a nivel de factibilidad*.
- Lértora, W. J. (2003). Diarrea viral bovina: actualización. *Rev. Vet.*, 14(1), 42– 51.
http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/10/cys_10_Enfermedades_Respiratorias_Bovinas.pdf
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.09.012>
- Llancares A., N., Rivera G., H., Araínga R., M., & Falcón P., N. (2012). Seroprevalencia de pestivirus de rumiantes en ovinos reproductores de una empresa de la Sierra Central Del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 23(4), 504–509.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v23i4.971>
- Mendenhall, W., Beaver, R. J., & Beaver, B. (2010). Introducción a la probabilidad y estadística. In *Cengage Learning*.
- Morales, C., & Siever, M. (2002). *Detección de terneros con infección congénita con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa*.
- Ochoa Azze, R. F. (2012). *Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos. I*, 1–120.
- Pedrera, M., Risalde, M., Romero-Trevejo, J. ., Da Silva Alexandre, A., Nuñez, A., Ruiz-Villamor, E., Gómez-Villamando, J. ., & Sanchez C, P. . (2007). Diarrea vírica bovina: Etiología, formas clínicas, distribución del virus y patogenia. *Anales Real Academia Ciencias Veterinarias*, 20(1), 135–158.
- Quispe Q., R., Ccama S., A., Rivera G., H., & Araínga R., M. (2008). El virus de la diarrea viral en bovinos criollos de la Provincia de Melgar,Puno. *Revista de Investigacion Veterinaria Del Peru.*, 19(2), 1–5.
- Ramírez Romero, R., Chavarría Martínez, B., López Mayagoitia, A., Rodríguez Tovar, L. E., & Nevárez Garza, A. M. (2012). Presencia del virus de la diarrea viral bovina y su asociación con otros cuadros patológicos en ganado en corral de engorda. *Veterinaria México*, 43(3), 1–7.

- Ramírez Ruíz, E. (2012). *Manual de crianza de ganado ovino* (p. 4).
- Reyes, comité organizador E. (2020). *Reglamento Expo Reyes 2020*. Ríos Yuil, J. M., Mercadillo Pérez, P., Yuil De Rios, E., & Ríos Castro, M. (2012).
- ELISA y sus aplicaciones en dermatología. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 10(3), 212–222.
- Rivera G., H. (1993). El virus de la diarrea viral bovina (DVB). *Investigaciones Pecuarias*, 6(1), 1–9.
- Rivera G., H., Benito Z., A., Manchego S., A., & Ramos C., O. (2004). Prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de la Estación Experimental de Trópico del Centro de Investigaciones IVITA. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 15(2), 1–5.
- Rivera G, H. (2008). Evolución del conocimiento del virus de la diarrea viral Bovina Peru, 19(2), 3. https://ar.zoetis.com/conditions/bovinos/diarrea-viral- bovina_ _dvh_ .aspx
- Rodríguez Ramos, M. A. (2004). Utilización de técnicas genéticas (PCR y PCR cuantitativo en tiempo real) e inmunológicas (ELISA), para la detección y cuantificación de diferentes especies animales en “Foie Gras.” *Universidad Complutense de Madrid*, 1–2.
- Rondon, I. (2006). Diarrea viral bovina: Patogénesis e inmunopatología. *Revista MVZ*, 11(1), 1–10.
- Sánchez Vizcaíno, J. (2004). ¿Cómo se estudian las inmunoglobulinas? In *Curso de introducción a la inmunología porcina* (Vol. 2). <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>
- Serrano García, M. (2014). Diarrea viral bovina (DVB) Estrategias de diagnóstico. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 66, 3–5. <https://bmeditores.mx/ganaderia/diarrea-viral-bovina-dvh-estrategias-de- diagnostico-1847/>

- Valdez G., E., Pacheco P., I., Vergara A., W., Pinto L., J., Fernández B., F., Guzmán F., F., Navarro M., D., & Rivera G., H. (2018). Identificación de bovinos persistentemente infectados y genotipo del virus de la diarrea viral en bovinos de Anta, Cusco, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(4), 1527–1537. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15192>
- Vega R, G. B. (2008). Anticuerpos. *Medigraphic Artemisa En Linea*, 136–138. Vega Robledo, G. B. (2009). Antígenos e inmunógenos. *Revista Facultad Medicina UNAM*, 52(1), 41–42.

ANEXOS

Anexo 01. Cálculos para determinar el tamaño de muestra de ovinos de la feria ganadera Expo Reyes.

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

Donde:

Z: 1.89 nivel de confianza que se le da a la muestra

p: variabilidad .05

q: variabilidad 0.5

E: error experimental 0.06 %

N: tamaño de muestra

$$\frac{520 \times (1.89)^2(0.5 \times 0.5)}{(520 - 1)(0.06)^2 + (1.89)^2(0.05 \times 0.05)}$$

$$\frac{464.38}{2.77}$$

$$n = 168$$

Anexo 02. Densidades ópticas de las muestras evaluadas para la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.117	1.629	1.722	1.728	1.594	1.576	1.445	0.93	1.563	1.509	1.562	1.646
B	0.086	1.621	1.689	1.611	1.585	1.341	1.442	1.395	1.459	1.625	1.4	1.546
C	1.853	1.491	1.566	1.67	1.476	0.092	1.44	0.08	1.489	1.495	1.448	1.53
D	1.797	1.393	1.623	1.574	1.426	1.399	1.382	1.458	1.457	0.402	1.462	1.571
E	1.768	1.396	1.569	1.555	1.555	1.463	1.487	1.429	1.475	0.683	1.487	1.482
F	1.618	1.574	1.529	1.554	1.52	1.415	1.537	1.452	1.415	1.601	1.526	1.623
G	1.566	1.576	1.559	1.699	1.373	1.386	1.561	1.549	1.529	1.61	0.927	1.595
H	1.602	1.765	1.644	1.635	1.508	1.563	1.644	0.087	0.325	1.607	1.714	1.73

Anexo 03. Densidades ópticas de las muestras evaluadas para la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa II.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0.085	1.473	1.345	1.354	1.251	1.408	1.463	0.487	1.388	1.319
B	0.081	1.348	1.33	1.378	1.411	1.432	1.37	1.484	1.289	1.552
C	1.61	1.279	1.336	1.43	1.331	0.228	1.341	1.37	1.377	1.265
D	1.524	1.352	1.376	1.375	1.318	1.402	0.964	1.363	1.307	1.329
E	1.324	1.425	1.431	1.516	1.336	1.268	0.108	1.378	1.352	1.38
F	1.495	1.39	1.298	1.26	1.07	1.301	1.159	1.307	1.31	1.339
G	1.505	1.343	1.447	1.5	1.37	1.406	1.385	1.453	1.339	1.47
H	1.41	1.484	1.473	1.45	1.549	1.417	1.465	1.475	1.459	1.618

Anexo 04: Porcentaje S/N de las muestras evaluadas para la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	6.422	89.28	94.34	94.7	87.33	86.36	79.18	50.96	85.67	82.69	85.56	90.18
B	4.707	88.81	92.57	88.29	86.85	73.49	78.99	76.44	79.95	89.06	76.72	84.73
C	101.5	81.72	85.83	91.51	80.85	5.041	78.93	4.356	81.58	81.94	79.34	83.87
D	98.48	76.35	88.92	86.23	78.15	76.69	75.72	79.9	79.84	22.02	80.13	86.08
E	96.86	76.51	85.96	85.21	85.2	80.15	81.48	78.29	80.82	37.45	81.48	81.19
F	88.67	86.25	83.79	85.16	83.31	77.53	84.24	79.57	77.52	87.71	83.61	88.96
G	85.8	86.38	85.45	93.12	75.24	75.93	85.54	84.89	83.79	88.23	50.77	87.39
H	87.77	96.7	90.09	89.61	82.64	85.64	90.1	4.773	17.78	88.06	93.94	94.78

Anexo 05: Porcentaje S/N de las muestras evaluadas para la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa II.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	5.431	94.01	85.85	86.42	79.86	89.84	93.38	31.11	88.58	84.22
B	5.17	86.04	84.86	87.93	90.04	91.38	87.45	94.68	82.26	99.06
C	102.8	81.66	85.27	91.27	84.97	14.57	85.56	87.42	87.9	80.76
D	97.24	86.32	87.82	87.73	84.1	89.5	61.53	87.01	83.44	84.85
E	84.49	90.97	91.31	96.73	85.29	80.96	6.919	87.94	86.28	88.07
F	95.41	88.69	82.83	80.41	68.29	83.06	74	83.4	83.58	85.44
G	96.07	85.72	92.36	95.72	87.41	89.76	88.43	92.72	85.46	93.85
H	90.01	94.69	94.01	92.53	98.85	90.41	93.48	94.16	93.13	103.3

Anexo 06. Densidades ópticas de las muestras evaluadas para la detección de antígenos del virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	0.061	0.08	0.05	0.066	0.053	0.051	0.06	0.06	0.06	0.074	0.102
B	1.057	0.079	0.056	0.054	0.054	0.055	0.055	0.051	0.062	0.058	0.119	0.065
C	0.084	0.054	0.053	0.052	0.051	0.058	0.051	0.063	0.093	0.076	0.064	0.065
D	0.09	0.063	0.081	0.056	0.055	0.052	0.055	0.059	0.055	0.067	0.079	0.064
E	0.09	0.087	0.06	0.054	0.049	0.053	0.053	0.054	0.061	0.069	0.066	0.084
F	0.086	0.073	0.054	0.053	0.057	0.054	0.104	0.053	0.085	0.144	0.061	0.067
G	0.168	0.05	0.052	0.055	0.053	0.068	0.057	0.062	0.086	0.056	0.064	0.061
H	0.138	0.06	0.057	0.088	0.059	0.08	0.053	0.054	0.087	0.059	0.058	0.069

Anexo 07. Densidades ópticas de las muestras evaluadas para la detección de antígenos del virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa II.

	1	2	3	4	5	6
A	0.558	0.05	0.077	0.053	0.059	0.08
B	0.555	0.051	0.057	0.053	0.102	0.198
C	0.056	0.056	0.055	0.053	0.075	0.056
D	0.052	0.051	0.054	0.057	0.051	0.053
E	0.054	0.049	0.051	0.052	0.052	0.061
F	0.053	0.05	0.053	0.052	0.052	0.064
G	0.061	0.055	0.052	0.052	0.054	0.054
H	0.058	0.065	0.056	0.052	0.052	0.054

Anexo 08. Porcentaje S/P de las muestras evaluadas para la detección de antígenos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	80.099	-11.218	-9.341	-12.297	-10.673	-11.996	-12.21	-11.296	-11.267	-11.325	-9.964	-7.183
B	85.661	-9.477	-11.704	-11.899	-11.86	-11.801	-11.782	-12.171	-11.111	-11.5	-5.529	-10.819
C	-8.972	-11.908	-11.928	-12.054	-12.122	-11.48	-12.181	-10.975	-8.029	-9.701	-10.858	-10.761
D	-8.388	-10.955	-9.244	-11.685	-11.811	-12.093	-11.801	-11.354	-11.762	-10.605	-9.438	-10.858
E	-8.359	-8.631	-11.237	-11.84	-12.365	-11.986	-11.967	-11.879	-11.14	-10.43	-10.712	-8.933
F	-8.768	-10.041	-11.879	-11.986	-11.549	-11.84	-7.027	-11.928	-8.874	-3.128	-11.198	-10.644
G	-0.755	-12.258	-12.103	-11.733	-11.986	-10.537	-11.549	-11.13	-8.777	-11.646	-10.887	-11.198
H	-3.711	-11.315	-11.568	-8.524	-11.403	-9.331	-12.006	-11.85	-8.651	-11.432	-11.49	-10.44

Anexo 09. Porcentaje S/P de las muestras evaluadas para la detección de antígenos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes de Espinar, placa II.

	1	2	3	4	5	6
A	85.211	-6.089	-1.254	-5.514	-4.507	-0.66
B	84.743	-5.873	-4.777	-5.478	3.276	20.533
C	-5.046	-4.885	-5.19	-5.514	-1.487	-4.939
D	-5.694	-5.927	-5.298	-4.831	-5.837	-5.478
E	-5.388	-6.179	-5.819	-5.676	-5.676	-4.022
F	-5.568	-6.035	-5.442	-5.658	-5.73	-3.483
G	-4.112	-5.064	-5.622	-5.64	-5.334	-5.316
H	-4.579	-3.393	-4.885	-5.658	-5.658	-5.334

Anexo 10. Cálculos para determinar la seroprevalencia general de los anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes Espinar.

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

$$P = \frac{9}{168} \times 100$$

$$P = 5,36 \%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{\frac{0.0536 \times 0.9464}{168}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{\frac{0.05070153}{168}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{0.00030179}$$

$$P \pm 1.89 \times 0.01737224$$

$$P \pm 0.03283354$$

$$P \pm 0.033$$

Anexo 11. Cálculos para determinar la seroprevalencia de los anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en ovinos de la feria ganadera Expo Reyes Espinar, por categorías.

Para la categoría borrega

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

$$P = \frac{7}{114} \times 100$$

$$P = 6,14 \%$$

Entonces:

$$P \pm Z \sqrt{\frac{p*q}{n}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{\frac{0.0614*0.9386}{114}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{\frac{0.05763004}{114}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{0.00050553}$$

$$P \pm 1.89 0.02248392$$

$$P \pm 0.04249461$$

$$P \pm 0.042$$

Para la categoría Borreguilla

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

$$P = \frac{2}{49} \times 100$$

$$P = 4,08\%$$

Entonces:

$$P \pm Z \sqrt{\frac{p*q}{n}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{\frac{0.0408*0.9592}{49}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{\frac{0.03915053}{49}}$$

$$P \pm 1.89 \sqrt{0.00079899}$$

$$P \pm 1.89 * 0.02826635$$

$$P \pm 0.05342341$$

$$P \pm 0.053$$

Anexo 13. Resultados de la prueba de chi-cuadrado

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Edad *	168	100,0%	0	0,0%	168	100,0%
Anticuerpo						

Tabla cruzada Edad*Anticuerpo

		Anticuerpo				Total	
		Negativo		Positivo			
		N	%	N	%	N	%
Edad	Borrega	107	67,3%	7	77,8%	114	67,9%
	Borreguilla	47	29,6%	2	22,2%	49	29,2%
	Carnero	5	3,1%	0	0,0%	5	3,0%
Total		159	100,0%	9	100,0%	168	100,0%

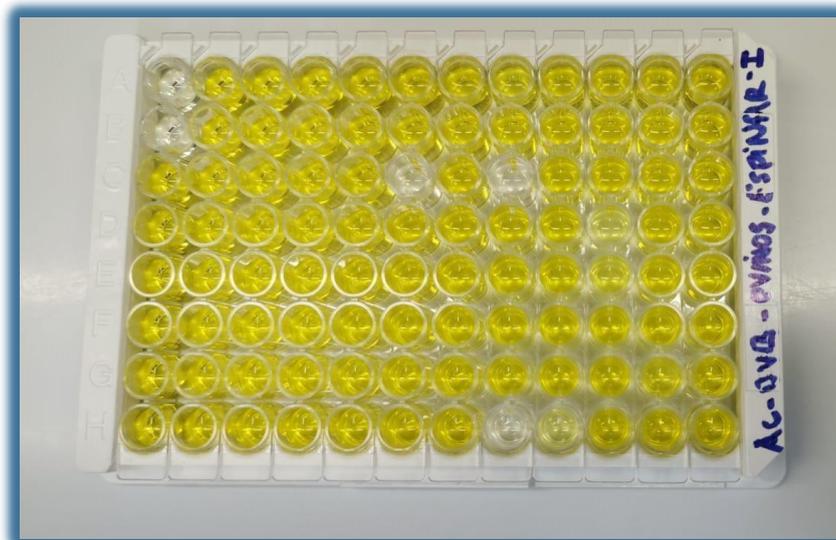
Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,578 ^a	2	0,749
Razón de verosimilitud	0,853	2	0,653
N de casos válidos	168		

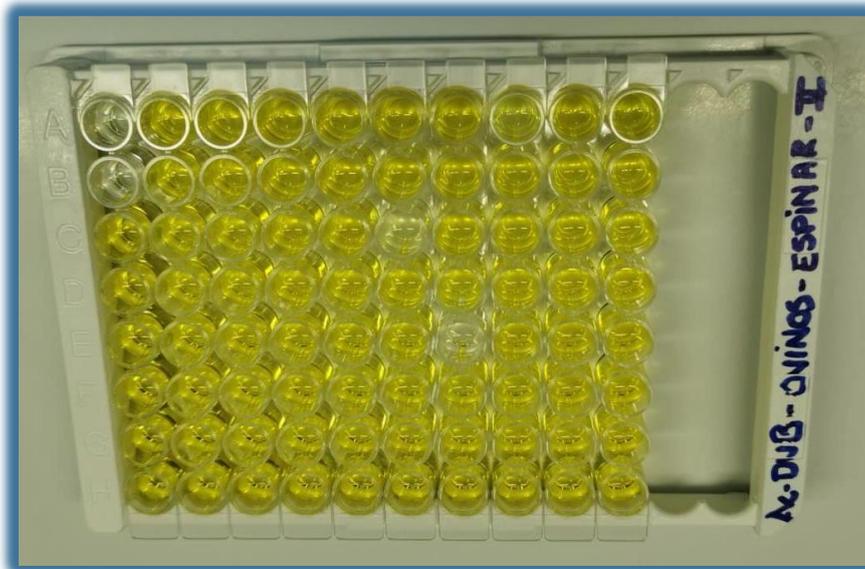
Anexo 14. Obtención de muestras de sangre de ovinos de la feria Expo Reyes, Espinar



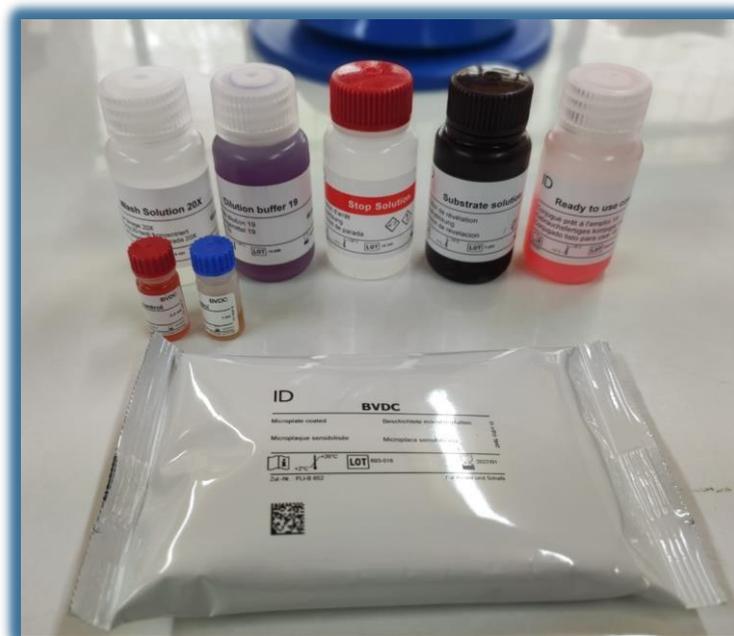
Anexo 15. Resultado cualitativo para detectar anticuerpos contra el virus de DVB (Placa I).



Anexo 16. Resultado cualitativo para detectar anticuerpos contra el virus de DVB (Placa II).



Anexo 17. Kit de ELISA para anticuerpos de DVB.



Anexo 18. Kit para detección de antígenos contra el virus de DVB

