

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

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROPECUARIA



DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) EN VACAS Y OVINOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMÁS DE LA PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS - CUSCO.

**TESIS PRESENTADO POR LA
BACHILLER:**

LEONOR ROJAS ANCALLA
PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE INGENIERO AGROPECUARIO.

ASESORES:

**MVZ. EDGAR ALBERTO VALDEZ
GUTIÉRREZ.**

**ING. FIORELA K. FERNÁNDEZ
BUSTINZA.**

K'AYRA - CUSCO - PERU

2019

DEDICATORIA.

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado la vida para lograr mis objetivos trazados, además de su infinita bondad y amor.

Con todo mi cariño y amor a mis abnegados padres. **Eusebio Rojas Baca y Simiona Ancalla Zuniga**, quienes hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños y por la motivación constante que me han permitido ser una persona de bien y por su amor incondicional a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

Gracias a mis hermanos (as) que siempre estuvieron atentos para brindarme toda su ayuda incondicional, el apoyo moral y la confianza que depositaron en mí, con todo cariño esta tesis se las dedico a ustedes.

Wilbert, Luisa, Nicolasa, Rina, Roberto.

A mis amigas (os) **Lizet, Julián, Fredi, Dolores y Dina**, por el apoyo, amistad y consejos que me brindaron en todo momento.

A ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

AGRADECIMIENTO.

A Dios.

Por darme sabiduría y por permitir que una de mis principales metas sean cumplidas y ser mí soporte para la realización de este y muchos trabajos.

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, a los docentes, de la Escuela profesional de Ingeniería Agropecuaria sede Santo Tomás, por las valiosas enseñanzas durante mi formación profesional y personal.

Mi especial gratitud al **MVZ. EDGART VALDEZ GUTIERREZ**, Quien con su gran calidad científica y humana me apoyo y le agradezco infinitamente por su valiosa colaboración y asesoramiento en la ejecución del presente trabajo de investigación y así mismo mi agradecimiento a la **ING. FIORELA FERNANDEZ BUSTINZA**, por su apoyo constante en los trabajos de laboratorio.

Mi agradecimiento especial a mis amigas (os): Lizet, Fredi y Julián, por su apoyo incondicional y dirección para la conclusión del presente trabajo de tesis y por el apoyo moral y confianza que me brindaron.

Mi más profundo agradecimiento a todas aquellas personas que desinteresadamente me facilitaron sus animales para la recolección de muestras para llevar acabo dicho estudio.

ÍNDICE.

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
GLOSARIO	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN.....	3
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION	4
2.1. OBJETIVOS.....	4
2.1.1. Objetivo general.....	4
2.1.2. Objetivos específicos.....	4
2.2. JUSTIFICACIÓN.....	5
III. MARCO TEÓRICO	6
3.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION.....	6
3.2. BASES TEORICAS.....	9
3.2.1. Rinotraqueitis infecciosa bovina.....	9
3.2.2. Historia.....	10
3.2.3. Distribución.....	11
3.2.4. Etiología.....	11
3.2.5. Replicación viral.....	12
3.2.6. Patogénesis.....	13
3.2.7. Entrada y desimanación.....	13
3.2.7.1.Infección restringida a áreas locales.....	13
3.2.7.2.Difusión sistémica por viremia.....	14
3.2.7.3.Difusión neuronal.....	14
3.2.8. Latencia.....	14
3.2.9. Cuadro clínico.....	15
3.2.9.1.Enfermedad Respiratoria - Aborto.....	15

3.2.9.2.	Enfermedad Genital.	16
3.2.9.3.	Enfermedad nerviosa.	16
3.2.9.4.	Aspectos Inmunológicos.	16
3.2.10.	Diagnostico.	17
3.2.10.1.	Detección de antígeno viral.	17
3.2.10.2.	Vacunación.	18
3.2.10.2.1.	Vacunas convencionales vivas y muertas.	18
3.2.10.2.2.	Vacunas marcadas vivas y muertas.	18
3.2.11.	Epidemiología.	18
3.3.	BASES CONCEPTUALES.	19
3.3.1.	Antígeno.....	19
3.3.1.1.	Estructura de los Antígenos.	20
3.3.2.	Anticuerpos.	21
3.3.2.1.	Estructura de un Anticuerpo.....	21
3.3.2.2.	Afinidad del anticuerpo.....	22
3.3.2.3.	Avidez del Anticuerpo.	22
3.3.2.4.	Especificidad de un Anticuerpo.	22
3.3.3.	Reacción antígeno - anticuerpo.	22
3.3.4.	Prueba de elisa.	23
3.3.4.1.	Definición.	23
3.3.4.2.	Elisa por competencia.....	25
3.3.4.3.	Neutralización viral.....	27
3.3.4.3.1.	Metodología y procedimiento de Neutralización Viral.	28
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.	29
4.1.	ÁMBITO DE ESTUDIO.....	29
4.1.1.	Ubicación política.....	29
4.1.2.	Ubicación geográfica.	30
4.1.3.	Datos climáticos.....	31
4.1.3.1.	Clima.....	31
4.1.3.2.	Precipitación.	32
4.2.	MATERIALES DE ESTUDIO.....	33

4.2.1. Población y muestra.	33
4.2.1.1. Tamaño de muestra de vacunos.....	33
4.2.1.1.1. De las muestras.	35
4.2.1.2. Tamaño de muestra de ovinos.....	35
4.2.1.2.1. De las muestras.	36
4.2.2. Materiales para la toma de sangre entera.	36
4.2.2.1. Materiales y equipos para la obtención de suero.....	37
4.2.3. Materiales y equipos de laboratorio.	38
4.2.3.1. Equipos e instrumentos.....	38
4.2.3.2. Materiales de laboratorio.....	38
4.2.4. Reactivos para el análisis del antígenos en el laboratorio.	39
4.2.5. Materiales de escritorio.....	40
4.3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.	40
4.3.1. Obtención de muestras sanguíneas en vacunos y ovinos.	40
4.3.2. Obtención de suero.....	42
4.3.3. Metodología de laboratorio.	44
4.3.3.1. Principio de la prueba IBR (kit de laboratorio IDEXX). ...	44
4.3.3.2. Método de Elisa indirecta (ídexx laboratorio - 2014)...	46
4.3.3.3. Preparación de los Reactivos.	47
4.3.3.4. Preparación de muestras y controles.....	47
4.3.3.5. Procedimiento de la prueba.	48
4.3.3.5.1. Criterios de validación.	52
4.3.4. Cálculos de resultados.....	52
4.3.4.1. Determinación de la prevalencia.	52
4.3.4.2. Determinación del intervalo de confianza.	52
4.3.4.3. Determinación de la media del CPx, CNx y cociente M/N.	53
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.	54
5.1. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN VACUNOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.	54

5.2. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN VACUNOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS, PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.	56
5.3. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR), EN VACUNOS (TERNERAS MAYORES A 6 MESES, VAQUILLONAS Y VACAS) DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE.	59
5.4. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN OVINOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.	62
5.5. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN OVINOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS, PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.	64
5.6. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR), EN OVINOS (CRIAS MAYORES A 6 MESES, BORRQUILLAS Y BORREGAS) DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE.....	67
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	71
6.1. CONCLUSIONES.....	71
6.2. RECOMENDACIONES.	72
BIBLIOGRAFÍA.	73
ANEXOS	78

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Resumen de antecedentes (IBR).....	9
Tabla 2. Principales parámetros meteorológicos de Chumbivilcas.	32
Tabla 3. Distribución de muestras de sangre realizadas en vacunos.	34
Tabla 4. Distribución de muestras de sangre realizadas en ovinos.	36
Tabla 5. Reactivos positivos en el Kit IDEXX IBRgE.	45
Tabla 6. Fórmula para determinar la media del control positivo, negativo y cociente m/n.....	53
Tabla 7. Resultado cualitativo para IBR de la comunidad de Vista Alegre.	55
Tabla 8. Densidades ópticas ofrecidas por el lector de microplacas de ELISA (chroMate Manager) para rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), comunidad de Vista Alegre.	56
Tabla 9. Resultados del cálculo del cociente M/N de las densidades ópticas para (IBR), comunidad de Vista Alegre.	57
Tabla 10. Vacunos positivos y negativos a (IBR) por categorías de la comunidad de Vista Alegre.	58
Tabla 11. Prevalencia de Anticuerpos contra la IBR por categorías en la comunidad de Vista Alegre.....	59
Tabla 12. Prevalencia de anticuerpos del virus (IBR), en vacunos de la comunidad de Vista Alegre.	60
Tabla 13. Resultado cualitativo para IBR de la comunidad de Vista Alegre.	63
Tabla 14. Densidades ópticas ofrecidas por el lector de microplacas de ELISA (chroMate Manager) para rinotraqueitis infecciosa bovina, comunidad de Vista Alegre.....	64
Tabla 15. Resultados del cálculo del cociente M/N de las densidades ópticas para (IBR), comunidad de Vista Alegre.	65
Tabla 16. Ovinos positivos y negativos a (IBR) por categorías de la comunidad de Vista Alegre.....	66
Tabla 17. Prevalencia de Anticuerpos contra la (IBR) por categorías en la comunidad de Vista Alegre.....	67
Tabla 18. Prevalencia de anticuerpos contra la (IBR), en ovinos de la comunidad de Vista Alegre.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Morfología estructural del Virus de IBR.	12
Figura 2. Pasos de ELISA competitivo: (1) La incubación del suero de prueba con el antígeno. (2) Adición de esta mezcla a la placa, previamente incubado con el antisuero. (3) Adición del conjugado. (4) Adición del sustrato. En este caso, la ausencia del color significa una muestra positiva.....	26
Figura 3. Pasos de ELISA Indirecta: (1) La incubación del suero de prueba con el antígeno. (2) Adición del suero (3) Adición del conjugado Ac. (4) Adición del sustrato. En este caso, la ausencia del color significa una muestra positiva.	27
Figura 4. Mapa de ubicación provincial.	30
Figura 5. Mapa de ubicación distrital.	31
Figura 6. Flujograma del trabajo IBR.....	43

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.

Fotografía 1. Toma de muestra de sangre de la vena caudal de vacunos.....	41
Fotografía 2. Toma de muestra de sangre de la vena cefálica de ovinos.	41
Fotografía 3. Separación de sueros de vacunos y ovinos.....	42
Fotografía 4. Preparación de la solución de lavado.	47
Fotografía 5. Reactivos y muestras listos para iniciar la prueba de ELISA.	49
Fotografía 6. Dilución de muestras y controles 1:2 con el diluyente de la muestra.	49
Fotografía 7. Incubación de las placas perfectamente selladas para evitar evaporación por 18 horas a 25 °C.....	50
Fotografía 8. Lavado de las placas culminada la incubación de 18 horas con 300µl de solución de lavado por 5 veces.	50
Fotografía 9. Se agregó 100µl de conjugado e incubar por 30 minutos a 25°C, Pasado ese periodo se repite el lavado.	50
Fotografía 10. Se agregó 100µL de substrato TMB e incubar por 15 minutos a 25°C.....	51
Fotografía 11. Se agregó 100 µL de solución de frenado para detener la reacción y medir la absorción a 650 nm, para la muestra de vacunos.	51
Fotografía 12. Se agregó 100 µL de solución de frenado para detener la reacción y medir la absorción a 650 nm, para la muestra de ovinos.	51
Fotografía 13. Resultados cualitativos de vacunos de la comunidad de Vista Alegre.....	54
Fotografía 14. Resultados cualitativos de ovinos de la comunidad de Vista Alegre.....	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Grafico 1. La barra de estadística representa la prevalencia de positivos y negativos de anticuerpos contra el IBR de la comunidad de Vista Alegre (Tabla10)	58
Grafico 2. Resultados de la prevalencia de IBR de la comunidad de Vista Alegre (Tabla11)	60
Grafico 3. Resultados de la prevalencia de IBR de la comunidad de Vista Alegre (Tabla12)	61
Grafico 4. La barra de estadística representa la Incidencia de positivos y negativos de anticuerpos contra el IBR en ovinos de la comunidad de Vista Alegre (Tabla16).....	66
Grafico 5. Resultados de Incidencia de IBR de la comunidad de Vista Alegre (Tabla18).....	68

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. Cálculos para determinar el tamaño de muestra en vacunos de la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás Chumbivilcas.....	79
Anexo 2. Cálculos para determinar el tamaño de muestra en ovinos de la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás Chumbivilcas.....	80
Anexo 3. Registro de vacunos y resultado a la prueba de ELISA para (IBR) de la comunidad de vista alegre.....	81
Anexo 4. Registro de ovinos y resultado a la prueba de ELISA para (IBR) de la comunidad de vista alegre.....	85
Anexo 5. Cálculos para determinar la prevalencia de anticuerpos contra IBR, en vacunos de la comunidad de Vista Alegre.	89
Anexo 6. Cálculos para determinar la prevalencia de anticuerpos contra la IBR, en ovinos de la comunidad de Vista Alegre.	90
Anexo 7. Ficha de trabajo en campo.....	91
Anexo 8. Ficha de trabajo en laboratorio – Área de Sanidad Animal.	92
Anexo 9. Participación en la asamblea para peticionar el permiso para la toma de sangre de los bovinos y ovinos de la comunidad de Vista Alegre.	93
Anexo 10. Toma de muestra en vacuno de la comunidad de Vista Alegre.	93
Anexo 11. Toma de muestra en ovino de la comunidad de Vista Alegre.	94
Anexo 12. Crioviales con suero y descongelamiento antes de ser procesados. ...	95
Anexo 13. Kit de laboratorio IDEXX para el diagnóstico de IBR.....	95
Anexo 14. Preparación de solución de lavado y conjugado.	96
Anexo 15. Incubación de las placas perfectamente selladas para evitar evaporación por 18 horas a 25 °C.	96
Anexo 16. Resultados finales en placas de ELISA de vacunos y ovinos.	97
Anexo 17. Resultado final en la lectura de densidad óptica, Por el método de lector de microplacas.	97

GLOSARIO.

Ac	: Anticuerpo
ADN	: Ácido desoxirribonucleico
Ag	: Antígeno
BHV-1	: Virus Herpes Bovino - 1
CNx	: Promedio control negativo
CPx	: Promedio control positivo
DO	: Densidad Óptica
DVB	: Diarrea Viral Bovina
ELISA	: Ensayo por inmunoadsorción ligado a la enzima
IBR	: Rinotraqueitis Infecciosa Bovina
IF	: Inmunofluorescencia
IgG	: Inmunoglobulina
IP	: Inmunoperoxidasa
kDa	: Kilodalton
LB	: Linfocito B
LT	: Linfocito T
m.s.n.m	: Metros sobre el nivel del mar

ml	: Mililitros
Nm	: Nanómetro
p.i	: Post infección
PCR	: Reacción de la Polimerasa en Cadena
PR	: Problemas reproductivos.
TMB	: Solución Substrato
μl	: Microlitros

RESUMEN.

El objetivo del presente estudio fue determinar los anticuerpos del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos y ovinos de la comunidad de Vista Alegre del distrito Santo Tomás de la provincia de Chumbivilcas - Cusco.

Entre los agentes virales que tienen especialmente implicación en la ocurrencia de dichas patologías se encuentran la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en la comunidad de Vista Alegre, que causa grandes pérdidas económicas en los hatos ganaderos, ocasionando las fallas reproductivas.

Se colectaron 92 muestras de sangre de bovinos hembras mayores a seis meses, vaquillonas y vacas en producción (n=92). El diagnóstico se realizó mediante el método de ELISA por competencia, contra la enfermedad de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). Se obtuvo el $15.22 \pm 0.07\%$ (14/92) de las muestras presentaron anticuerpos contra la IBR con densidades ópticas (DO) que fluctuaron entre 0.672 a 0.1005.

De las 92 muestras de suero pertenecientes a los 54 hatos de vacunos; así mismo se utilizaron 92 muestras de sangre de ovinos hembras crías mayores a seis meses, borreguillas y borregas (n=92). El diagnóstico se realizó mediante el método de ELISA por competencia, contra la enfermedad de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). Se obtuvo el $0.00 \pm 0.0\%$ (0/92) de las muestras, no se encontraron animales positivos al (IBR) con una incidencia de 0.00% con densidades ópticas (DO) que fluctuaron entre 0.4685 a 0.1165.

I. INTRODUCCIÓN.

La actividad pecuaria es la principal labor que realizan las familias rurales de la región Cusco, la provincia de Chumbivilcas no está exenta de esta realidad. Esta actividad importante que realizan las familias y centros de producción ganadera tiene gran relevancia, que en lo económico la crianza constituye una fuente permanente de sustento de las familias campesinas, aprovechando la producción de leche que suministra ingreso diario y la saca que viene a ser la producción de carne.

El BHV-1 fue el primer agente viral que mostró en forma clara y definida ser la causa de la infección respiratoria en bovinos, siendo reconocida por primera vez en el Estado de Colorado a finales de la década de los 40, pero adquirió proporciones epizooticas en América occidental durante los años 50; la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) fue aislada por primera vez en Estados Unidos en 1956 actualmente esta enfermedad tiene distribución mundial. **(Sashi B. Mohanty, Sukanta K. Dutta 1988)**; es una enfermedad contagiosa causada por el virus herpes bovino tipo I (BHV-1). Que afecta a los bovinos de cualquier edad y raza, siendo esta una enfermedad infectocontagiosa, los animales infectados presentan rinotraqueitis, conjuntivitis, fiebre y encefalitis. El aborto es una secuela común y aparece una semana después de iniciadas las manifestaciones clínicas. **(Brownlie et al., 1998)**.

La forma de transmisión más importante es el directo entre bovinos sanos y enfermos o portadores asintomáticos, por medio de la secreción nasal, ocular y genital de los animales infectados; también en forma indirecta a través del

personal o equipos contaminados. Puede ser transmitido por el semen durante la monta natural o inseminación artificial, e incluso durante la transferencia de embriones (**Van Oirschot. J.et al., 1995**).

PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN.

Las enfermedades respiratorias, reproductivas constituyen las principales patologías que limitan los procesos productivos y reproductivos de los bovinos y ovinos en la comunidad de Vista Alegre.

Entre los agentes virales que tienen especialmente implicación en la ocurrencia de dichas patologías se encuentran la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), que causa grandes pérdidas económicas en los hatos ganaderos y rebaños. Es fundamental, la identificación de las causas que ocasionan las fallas reproductivas y que permitan un efectivo control. A pesar del desarrollo actual de las ciencias veterinarias, dichos problemas persisten constituyendo un serio factor limitante del desarrollo ganadero. Los agentes infecciosos pueden afectar el embrión o feto en cualquier etapa de su desarrollo ocasionando la muerte (con o sin expulsión), mal formaciones congénitas, nacidos muertos, nacimiento de crías débiles. **(Richey et al., 1994).**

En la comunidad de Vista Alegre se determinará la prevalencia de anticuerpos en vacunos y ovinos de los productores ganaderos que presentan problemas reproductivos y respiratorios; ya que dicha enfermedad tiene un directo impacto en la producción, por cuanto disminuye la fertilidad, produce pérdidas por aborto, alargan los entre partos. La falta de datos claros sobre la prevalencia de la IBR repercute negativamente, ya que no se puede cuantificar apropiadamente el impacto que esta tiene en los sistemas productivos y menos tomar decisiones para su control y eventual erradicación. Por tanto se pretende analizar y diagnosticar serológicamente por el método de inmuno ensayo enzimático ELISA. **(Morrison, 1992).**

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION.

2.1. OBJETIVOS.

2.1.1. Objetivo general.

Determinar la prevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos y ovinos, de la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás provincia de Chumbivilcas Cusco, mediante el método de ELISA por competencia.

2.1.2. Objetivos específicos.

- Determinar la prevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en Vacunos.
- Determinar la prevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en Ovinos.

2.2. JUSTIFICACIÓN.

El presente trabajo de investigación surge como respuesta a los problemas que vienen ocasionando diferentes enfermedades, causando grandes pérdidas económicas a nivel pecuario y dentro de ellos está la provincia de Chumbivilcas y la comunidad de Vista Alegre.

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) es una de las enfermedades principales que afecta la eficiencia reproductiva de las vacas y ovejas produciendo en ellas, conjuntivitis, encefalitis, fiebre y como secuela el aborto.

Se quiere conocer con este trabajo de investigación la prevalencia de la enfermedad, y aportar datos actualizados y contribuir con los productores de la zona para mejorar la producción en las explotaciones ganaderas y emprender campañas concretas para mejorar la eficiencia reproductiva y alcanzar altos niveles de producción para estar al par con otros departamentos ganaderos.

III. MARCO TEÓRICO.

3.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION.

En un estudio realizado en la provincia de Melgar, se demuestra que la infección por virus herpes bovino -1(VHB-1) está presente en los 9 distritos donde se halló una prevalencia promedio de 29% mediante la técnica de neutralización viral, a la vez la prevalencia obtenida en el distrito de Umachiri es de 32% **(Parientes, 2006)**.

Según el estudio realizado con Bovinos Brown Swiss para la determinación de anticuerpos neutralizantes a través de la prueba de neutralización viral, determinando 0,0% de prevalencia, del virus herpes bovino 1 (BHV-1) que es el agente causal de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) se obtuvo seroreactores en 30.43% siendo 8.3%, 14,29%, 55% en vacas no parida, vacas de primer parto y vacas de dos partos o más partos, respectivamente **(Ordoñez, 2009)**.

Según un estudio realizado para determinar la seroprevalencia de virus herpes bovino tipo -1 (VHB-1) agente causal de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en 12 hatos lecheros del valle de Lima. El 36% de las muestras estudiadas tuvieron anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1 la prevalencia viral dentro de los 12 hatos estuvo entre 2% a 90% determinado la prevalencia por zona se detectó anticuerpos contra el VHB-1 en las zonas de muestreo (Norte 46%, centro13% sur50%) con una prevalencia que vario entre 13% a 50% finalmente la prevalencia viral fue mayor en los establos con mayor tamaño poblacional siendo esta de 43% así como en animales de más de dos años se halló la Prevalencia de 40% a diferencia de los animales menores de 2 años que fue de 12% **(Sanchez, 2003)**.

La prevalencia del Virus herpes bobino 1 (VHB-1) se determinó en bovinos de crianza extensiva, sin historia de vacunación y mayormente cruzados en tres distritos de la provincia de San Pablo Cajamarca. Se colectaron 480 muestras de sangre de bovino y se determinó que 0.6% de los animales presentaron anticuerpos contra VHB-1. Las vacas seroreactoras fueron Holstein, mayores de 6 años de edad y pertenecieron a un solo hato y presentaron títulos de anticuerpos de 1:64 y 1.32 los resultados indicaron que la enfermedad se encuentra poco difundida entre los animales de la zona de estudio **(Villacaqui, 2006)**.

El virus de la Rinotraqueitis Infecciosa bovina (VHB-1) está presente en bovinos criollos de los distritos de Coracora, Chumpi Puyusca y Pullo de la Provincia de Parinacochas presentaron una prevalencia de los 4 distritos muestreados de 67.6% superior a lo reportado en bovinos de crianza intensiva en el país **(Zacarías E. et al., 2002)**.

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) como causa de aborto, en un análisis de la prevalencia relacionados a esta enfermedad en la cuenca de Arequipa, Varios estudios demuestran que existe coincidencia en que al menos el 25% de los abortos pueden ser atribuidos la IBR **(Manrique J. et al., 2002)**.

Para la determinar la incidencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) y Diarrea Viral Bovina (DVB) en la comunidad de Tambo Real del Distrito de Zurite de la Provincia de Anta. Con esta finalidad se tomaron muestras sanguíneas en un total de 92 vacas en producción, se utilizó la técnica de ELISA Indirecta. Obteniéndose los siguientes resultados: para el virus de IBR, se tiene una incidencia del 7.61% (7/92) a la Densidad Óptica (DO) mediante

colorimetría, generando un color amarillo intenso. Así mismo se obtuvo una sensibilidad y especificidad del 100% comprobando la efectividad de ELISA Indirecta, indicando que el virus está presente en los animales de la comunidad de Tambo Real del Distrito de Zurite Provincia de Anta **(Mendoza 2012)**.

La Incidencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) Provincia de Anta, para las cuales se tomaron muestras de sangre en un total de 184 animales; (119 animales C. San Nicolas de Bari y 65 animales de la C. Katañiray), de las cuales se presentó una incidencia de 47.06 % (59/119) en la C. de San Nicolas de Bari y una incidencia de 7.69 % (5/65) en la comunidad de Katañiray indicando que el virus está presente en los animales de las comunidades antes mencionadas **(Mamani. N, 2013)**.

Estudios epidemiológicos realizados, en una crianza mixta de la comunidad de Yanque, provincia de Caylloma, del departamento de Arequipa, sobre infecciones virales, como la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), diarrea viral bovina (DVB), parainfluenza 3 bovina (PI3), respiratorio sincitial (RSV), neumonía progresiva crónica ovina (OPP), y lengua azul (BT), a través de la detección de los anticuerpos, en las especies, alpacas (n=80), llamas (n=30) y ovinos (n=40). Se determinaron para el IBR una prevalencia de 33% en los ovinos, 18% en las alpacas y 17% en las llamas. Donde el 71% de los animales de la comunidad tuvieron anticuerpos contra uno o más virus significando infecciones concomitantes **(Manchego A. et al., 1998)**.

Tabla 1. Resumen de antecedentes (IBR).

RESUMEN DE ANTECEDENTES PARA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA (IBR).					
AUTOR AÑO Y LUGAR	N° DE ANIMALES	MUESTRA	PRUEBA	INCIDENCIA	PREVALENCIA
Pariente A.(2006) Melgar- Puno	382	suero	Neutralización viral		29 ± 0.05%
Ordoñez O. (2009).Chuquibambilla - Puno	46	suero	Neutralización viral		0,00%
Sánchez. (2003) Lima.	135	suero	Neutralización viral		2-90%
Villacaqui A. (2006) San Pablo - Cajamarca.	480	suero	Neutralización viral		0.60%
Zacarias E. (2002) Parinacocha - Ayacucho.	469	suero	Neutralización viral		67.6 ±4.2%
Mendoza. (2012. Anta - Cusco.	92	suero	Elisa	7.61%	
Mamani. (2013). Anta - Cusco.	184	suero	Elisa	54.75%	
Manchego. (1998) Caylloma - Arequipa	40	suero	Elisa	33%	

3.2. BASES TEORICAS.

3.2.1. Rinotraqueitis infecciosa bovina.

La Rinotraqueítis infecciosa bovina (Infectious Bovine Rinotracheitis (IBR), es una enfermedad contagiosa que afecta a los bovinos, se caracteriza especialmente por la aparición de una rinotraqueitis exudativa que puede afectar a los bronquios mayores de los animales infectados, acompañado de complicaciones bacterianas que agravan el curso de la enfermedad (**Ciencia Veterinaria, 1987**).

3.2.2. Historia.

El primer reporte de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) lo realizó Richter en 1841, en Alemania, quien describió una enfermedad venérea en un toro y en varias vacas. Esta manifestación genital era conocida con el nombre de "Exantema Vesiculosum Coitale, En 1955, es designada con el nombre de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina en una reunión de la U.S Livestock Sanitary Association (Manual de Ganadería Doble Propósito, 2005). La clasificación del virus de la Rinotraqueítis infecciosa bovina como virus herpes, se llevó a cabo en 1961, ya que las características del grupo en si fueron establecidas hasta 1960 por Wildy y sus colaboradores, en 1981 el virus fue incluido dentro de la subfamilia alphaviridae que agrupa a los virus herpes que causan infecciones agudas **(OIE - Sanidad Animal Mundial, 2004).**

La presencia de esta enfermedad en el Ecuador ha sido reportada desde el año de 1976, en cuatro muestras bovinas De la hacienda san Antonio de propiedad del Sr. Pablo Anhalzaer en Uyumbicho, las mismas que fueron analizadas en la Universidad de Kentucky, tres sueros resultaron positivos a IBR. Mediante técnicas serológicas realizadas por los Laboratorios Veterinarios Izquieta Pérez, Zona Norte, en el año 2004 esta enfermedad ha sido detectada en nuestro país en 41 rebaños afectados, con un total de 168 casos de una población controlada de 343 animales **(OIE - Sanidad Animal Mundial, 2004).**

3.2.3. Distribución.

El virus IBR ha sido diagnosticado en los EUA, Perú, Gran Bretaña, Alemania, Nueva Zelandia, Australia, Sudáfrica, Tanzania y Japon. como IPV, se le ha diagnosticado en los EUA, Canadá, varios países de Europa y del norte de África. En México, fue diagnosticado en 1971 ya la fecha se han aislado virus de IBR a partir de bovinos con signos que hacían sospechar de esta enfermedad.

3.2.4. Etiología.

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

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

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

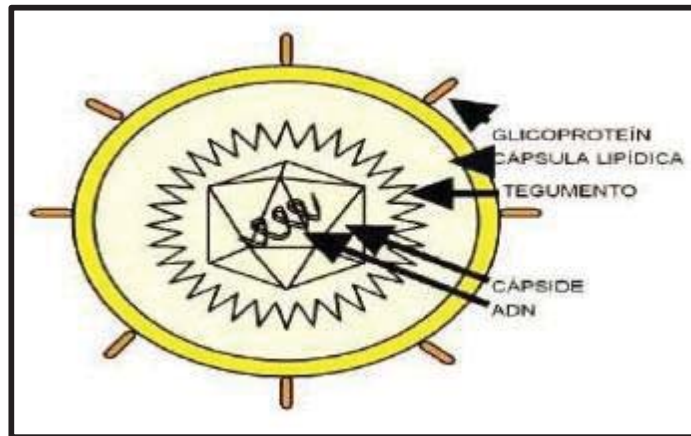


Figura 1. Morfología estructural del Virus de IBR.

Fuente. (Viral Zone, 2008).

3.2.5. Replicación viral.

La replicación del VHB-1, como en todos los virus herpes es muy compleja. El VHB-1 se replica en células epiteliales del tracto respiratorio y reproductivo. El VHB-1 se adhiere a los receptores celulares, por medio de las glicoproteínas, la nucleocapside penetra en el citoplasma mediante la fusión de la envoltura con la membrana celular o a través de vacuolas fagocíticas. En ese momento se libera de la nucleocapside un complejo ADN-proteína que pasa al núcleo aquí se realiza la transición en cascada de ARN mensajeros para la síntesis proteica y respiración del ADN vírico de la progenie viral (**Fenner et al., 1995**).

3.2.6. Patogénesis.

El VHB-1 se transmite en forma directa por aerosol producto de estornudos o por contacto con animales infectados, a partir de secreciones respiratorias, oculares y del tracto respiratorio, oculares y del tracto reproductivo, o en forma indirecta a través de personas o equipos. El virus también puede ser transmitido por el semen durante la transferencia de embriones (**Wentink et al., 1993**). Una vez en el organismo el virus se replica en el sitio de entrada para luego diseminarse.

3.2.7. Entrada y desimanación.

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

3.2.7.1. Infección restringida a áreas locales.

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

3.2.7.2. Difusión sistémica por viremia.

El VHB-1 puede infectar monocitos con moderada replicación viral y también puede infectar macrófagos y linfocitos los cuales pueden servirle de vehículo a diferentes tejidos del animal. **(Wentink et al., 1993).**

3.2.7.3. Difusión neuronal.

Durante la replicación inicial en las células epiteliales, el virus puede ingresar por los axones celulares de las terminaciones nerviosas. Luego, vía axonal, pueden alcanzar los cuerpos neuronales del ganglio trigémino donde el virus, se establece en latencia. **(winkler et al., 2000).**

3.2.8. Latencia.

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

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

3.2.9. Cuadro clínico.

3.2.9.1. Enfermedad Respiratoria - Aborto.

El periodo de incubación de la Rinotraqueitis Infecciosa bovina (IBR) es de 5 a 10 días seguido por fiebre (40.5 a 42°C), descarga nasal serosa, conjuntivitis, salivación, tos, inapetencia, depresión y baja en la producción lechera de animales en producción y en pocos días la descarga nasal y ocular cambia a mucopurulenta. Las lesiones necróticas en la nariz pueden progresar a pústulas y úlceras cubierta por una pseudo membrana que obstruye las vías aéreas superiores, lo que conduce a una respiración bucal **(OIE, 2004)**.

Los animales se recuperan 5 a 10 días después del inicio de los síntomas. Sin embargo, el efecto inmunosupresor de VHB-1 sobre los mecanismos de defensa antibacteriales de los pulmones resultan en complicaciones debido a las infecciones bacterianas secundarias. La más común y severa complicación es el complejo respiratorio bovino, en la que otros agentes como la parainfluenza 3. Virus respiratorio sincitial, virus de la diarrea viral bovina, pasteurella haemolytica o multocida usualmente están presentes en forma concomitante **(Richey et al., 1994)**. El daño epitelial por los agentes virales y el exudado tisular producto de la severa inflamación pulmonar son los que favorecen la adherencia y crecimiento de micro colonias bacterianas.

Una frecuente complicación de la forma respiratoria es el aborto que puede ocurrir entre la 3ra y 6ta semana posterior a la infección principalmente en vacas de 5 a 8 meses pudiendo abortar hasta un 25% de las vacas preñadas **(Richey et al., 1994)**.

3.2.9.2. Enfermedad Genital.

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

3.2.9.3. Enfermedad nerviosa.

La meningoencefalitis ocurre como resultado de una infección por VHB-1 en animales jóvenes y ha sido reportada mundialmente. Los signos de esta enfermedad neurológica son incoordinación, temblor muscular, ataxia y ceguera que invariablemente conduce a la muerte. Este neurogenico VHB-1. Sin embargo, debido a diferentes genéticas y clínicas, se le ha denominado virus herpes bovino **(Chase et al., 1995).**

3.2.9.4. Aspectos Inmunológicos.

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

Una vez establecida la infección primaria las primeras respuestas son del tipo no específico, como la aparición de citosinas producidas por los macrófagos y el interferón, que es inducido rápidamente, alcanzando niveles

altos en la secreción nasal y sangre 36 a 72 horas p.i. y permanece elevado hasta el cese de la respiración. La respuesta de anticuerpos a VHB-1 se considera más importante en prevenir una infección que en la recuperación, debido a que los anticuerpos no previenen la difusión célula – célula (el virus se disemina por puentes intercelulares aun en presencia de anticuerpos) y la respuesta de anticuerpos es detectable cuando la recuperación de la infección ya está en curso los anticuerpos son críticos en neutralizar el virus extracelular previniendo la difusión de la infección. Es así que en animales con altos niveles de anticuerpos en pasajes nasales, aunque el virus este reactivado, los anticuerpos neutralizan al virus y previenen la diseminación a otros animales **(Babiuk et al. 1996)**.

3.2.10. Diagnóstico.

Se puede dar un diagnóstico presuntivo de la IBR en base a los signos clínicos, patológicos y epidemiológicos, pero para realizar un diagnóstico definitivo se requiere de las Pruebas de Laboratorio **(OIE, 2004)**. Entre las principales son:

3.2.10.1. Detección de antígeno viral.

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

Vacunarlos al momento de su arribo, además todo animal que entre al ható deberá ser puesto en cuarentena durante el periodo de dos semanas a partir de su arribo **(OEI, 2004)**.

3.2.10.2. Vacunación.

3.2.10.2.1. Vacunas convencionales vivas y muertas.

Estas vacunas usualmente previenen los signos clínicos desarrollados después de una infección con infección con VHB-1 Aunque la mayoría de estas vacunas convencionales reduce la cantidad de virus eliminado después de la infección, su uso no ha resultado para restringir la difusión de la enfermedad en hatos o regiones. Una desventaja de estas vacunas convencionales es su interferencia con los diagnósticos serológicos de rutina y estudios seroepidemiológicos (**Van Oirschot et al., 1996**).

3.2.10.2.2. Vacunas marcadas vivas y muertas.

Estas vacunas recientemente desarrolladas permiten no solo prevenir los signos clínicos después de una infección, además previenen la replicación, y posterior excreción del virus y pueden ser usadas en presencia de brotes de RIB, disminuyendo la incidencia y transmisión del VHB-1. También permiten diferenciar animales vacunados de infectados. Consecuentemente el uso de vacunas marcadoras ofrece buena perspectiva para implementar programas de erradicación (**Van Oirschot et al., 1996**).

3.2.11. Epidemiología.

El virus herpes bovino tipo-1 es un importante patógeno de los bovinos, aunque otras especies como caprinos, venados y cerdos, también han sido infectados. Los bovinos de todas las razas son susceptibles la infección natural ocurre, por lo general, en animales mayores de seis meses de edad, posiblemente por estar más expuestos al agente viral. Después de la infección

primaria el VHB-1 tiene la capacidad de permanecer en estado de latencia en el bovino infectado, lo que permite persistir dentro del huésped sin ocasionarle enfermedad. El virus latente puede ser reactivado y reexcretado durante la vida del animal, ocasionando recurrencia de la enfermedad y la subsecuente transmisión del virus a animales susceptibles. Las infecciones recurrentes son más comunes y menos severas que las primarias y son la fuente de mantenimiento del virus en los rebaños. La reacción y excreción del VHB-1 en animales con infección latente están asociadas con la disminución de las defensas, como consecuencia de cambios de las condiciones de manejo, concentraciones altas de animales, celo, parto y transporte lo que explicaría la aparición de la enfermedad donde la fuente de infección no es evidente (**Obando R., 1999**).

3.3. BASES CONCEPTUALES.

3.3.1. Antígeno.

Es una molécula extraña reconocida por el sistema inmunitario, en concreto por anticuerpos preformados o por receptores específicos en linfocitos B o T. Tradicionalmente se aplica a los inmunógenos o moléculas que desencadenan la respuesta inmune. El antígeno es la porción de un microorganismo o parásito que contiene sitios específicos de reconocimiento de la rama humoral (anticuerpos) o células (linfocitos) de la respuesta inmunitaria. A estos sitios se les denomina epítopes. Los denominados antígenos crudos por lo general son extractos solubles de los microorganismos o parásitos. Se constituyen por una variedad de componentes, tanto del agente como de las células en las cuales se aloja o del medio de cultivo. En los antígeno crudo, la mayor parte de los componentes son irrelevantes pero pueden ser reconocidos por anticuerpos o

linfocitos por otros microorganismos o parásitos y dar reacciones falsas positivas o negativas por tanto es deseable purificarlos. Lo más conveniente es utilizar antígenos más definidos. Una posibilidad es utilizar los productos de excreción/secreción, los cuales tienen un menor número de componentes y reduce la posibilidad de reacciones cruzadas. **(Blaha T., 1995).**

3.3.1.1. Estructura de los Antígenos.

El número de los posibles Ac frente a un Ag es elevado debido a que los Ag son estructuras tridimensionales y presentan múltiples epitopos (zona de Ag que es reconocido por el sistema inmunitario) que pueden ser reconocidos por los LB o LT. Los epitopos determinantes antígenos son cada uno de los sitios discretos de una macromolécula que son reconocidos individualmente por un anticuerpo específico o por un TRC específico. Son las regiones inmunológicas activas de un inmunógeno (las que se unen de hecho a un receptor de linfocitos o aun Ac libre).en este sentido las macromoléculas son antígenos multivalentes con muchos tipos de determinantes antigénicos distintos.

En el Ag hay regiones inmunodominantes a las que se une la mayoría de los Ac. Estas regiones se localizan en la zona extrema de Ag, como las asas peptídicas que carecen de estructuras rígidas. También se han encontrado estas características en zonas móviles donde existe una cierta flexibilidad del epitopo y las regiones CDR de Ac pueden alcanzar la energía óptima de unión **(Blaha, T.1995).**

3.3.2. Anticuerpos.

Es una glucoproteína secretada por las células plasmáticas como producto de una respuesta inmune de base humoral y que presenta la propiedad de unirse de forma específica al determinar al antígeno que indujo a su síntesis. **(Idexx Laboratories, 2016).**

3.3.2.1. Estructura de un Anticuerpo.

Estructuralmente, están formados básicamente por cuatro cadenas poli peptídicas. Dos de ellas, denominadas pesadas o cadenas H (Heavy: pesado), con un peso molecular de entre 55 a 77 kilodalton (kDa) y dos ligeras o L (Light) con un peso molecular de entre 23 a 26 kDa. **(Abbas Albuk, 2002).**

El anticuerpo típico está constituido por unidades estructurales básicas, cada una de ellas con dos grandes cadenas pesadas y dos cadenas ligeras de menor tamaño, que forman, por ejemplo, monómeros con una unidad, dímeros con dos unidades o pentámeros con cinco unidades. Los anticuerpos son sintetizados por un tipo de leucocitos denominado linfocitos B. Existen distintas modalidades de anticuerpo, isotipos, basadas en la forma de cadena pesada que posean. Se conocen cinco clases diferentes de isotipos en mamíferos que desempeñan funciones diferentes, contribuyendo a dirigir la respuesta inmune adecuada para cada distinto tipo de cuerpo extraño que encuentran **(Manual de Merck Veterinaria, 1918).**

3.3.2.2. Afinidad del anticuerpo.

La fuerza de unión de un anticuerpo y un solo antígeno se denomina afinidad; también se define como la suma de fuerzas de sus enlaces o la atracción entre antígeno y anticuerpo.

3.3.2.3. Acidez del Anticuerpo.

Los Ac tienen al menos dos zonas de unión con el Ag. El Ag también puede ser multivalentes, con varios determinantes antigénicos. La fuerza de unión en este caso es la avididad.

3.3.2.4. Especificidad de un Anticuerpo.

Cuando un anticuerpo solo puede reaccionar con un antígeno se dice que ese anticuerpo es específico.

3.3.3. Reacción antígeno - anticuerpo.

El antígeno es una porción de un microorganismo o parásito que contiene sitios específicos de reconocimiento humoral (anticuerpos) o celular (linfocitos) de la respuesta inmunitaria. A estos sitios se les denomina epítopos. Los denominados antígenos crudos por lo general son extractos solubles de los microorganismos o parásitos, se constituyen por una variedad de componentes tanto del agente como de las células en las cuales se alojan. En los antígenos crudos la mayor parte de los componentes son irrelevantes, pero pueden ser reconocidos por anticuerpos o linfocitos y dar reacciones falsas, positivas o negativas, por lo tanto es deseable purificarlos.

Cada antígeno está definido por su anticuerpo, los cuales interactúan por complementariedad espacial. La zona donde el antígeno se une al anticuerpo

recibe el nombre de epitopo. Cuando un anticuerpo conecta con un antígeno, se forma el complejo antígeno-anticuerpo o inmunocomplejo.

3.3.4. Prueba de Elisa.

3.3.4.1. Definición.

Es una prueba de unión primaria que detecta enlace específico antígeno y anticuerpo y cuantifica los inmunocomplejos formados mediante el marcador enzimático que actúa con un sustrato cromogénico apropiado. El grado de transformación del sustrato incoloro a un producto coloreado se cuantifica objetivamente por espectrometría y es proporcional a la cantidad de inmunocomplejos formados.

La técnica de ELISA, se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una base sólida (placas de inmunológico) impregnadas de anticuerpos que directa o indirectamente producen reacción cuyo producto es la observación de una coloración debido al cromógeno añadido a la última prueba. Puede ser medido mediante un lector de ELISA o mediante observación visual. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmuno ensayo ideal, es versátil, sencillo y simple en una reacción, se basa en el empleo de reactivos para el diagnóstico y despistajes de enfermedades principalmente de origen infeccioso **(Morrison, 1992)**.

El principio de ELISA se basa en determinar si una proteína particular está presente en una muestra y con posibilidad de cuantificarla. Hay dos variaciones principales en este método; en la primera puede determinarse cuanto anticuerpo está en la muestra, o puede determinarse cuanta proteína es limitada por un anticuerpo. Se ha realizado múltiples variantes de ensayo de ELISA, siendo los más utilizados el método de ELISA indirecta o directa.

3.3.4.2. Elisa por competencia.

Esta técnica también es muy común para la detección de anticuerpos específicos. Tenemos un anticuerpo (monoclonal o policlonal) de un antígeno conocido, este antígeno ha sido unido previamente a la placa. Se conoce como ELISA competitivo porque se incuba el suero con el antígeno anterior a su incubación con el antisuero unido a la placa. Por lo tanto ambos compiten por el antígeno.

El método de ELISA es una prueba de elección en el diagnóstico de numerosas enfermedades infecciosas y parasitarias, y es de gran rentabilidad de veterinaria al analizar simultáneamente y en un corto periodo de tiempo grandes colectivos, siendo por tanto, útil en el sondeo serológico de poblaciones para conocer la situación sanitaria frente a una situación determinada. Es una prueba muy sensible para detectar bajos niveles de anticuerpos. Esto hace posible la detección de animales de estadios tempranos de la infección, portadores, casos de infección sin el estímulo de respuesta hormonal, etc. La técnica puede emplearse como herramienta de control con el seguimiento, por análisis repetidos, de explotaciones negativas a una infección o para confirmación de la positivas.

(Laboratorio Life Technologies, 2013).

- Elisa por competencia



Figura 2. Pasos de ELISA competitivo: (1) La incubación del suero de prueba con el antígeno. (2) Adición de esta mezcla a la placa, previamente incubado con el antisuero. (3) Adición del conjugado. (4) Adición del sustrato. En este caso, la ausencia del color significa una muestra positiva.

Fuente: Sanidad animal. Info.

- (1) La incubación del suero de prueba con el antígeno.
- (2) Adición de esta mezcla a la placa, previamente incubado con el antisuero.
- (3) Adición del conjugado.
- (4) Adición del sustrato. En este caso, la ausencia del color significa una muestra positiva.

- **Elisa Indirecta**

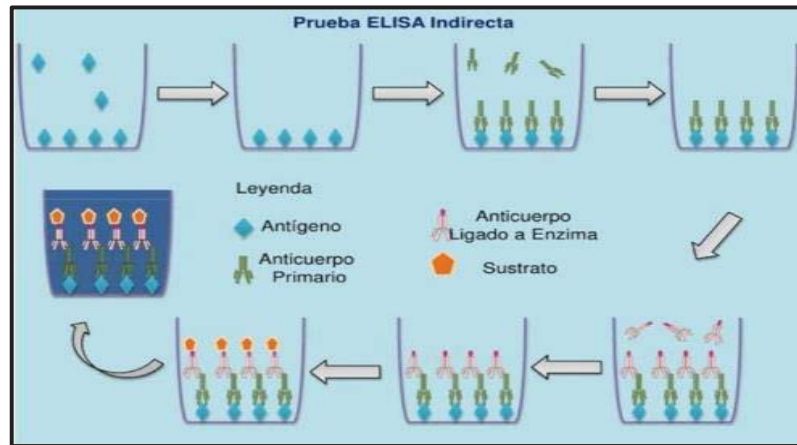


Figura 3. Pasos de ELISA Indirecta: (1) La incubación del suero de prueba con el antígeno. (2) Adición del suero (3) Adición del conjugado Ac. (4) Adición del sustrato. En este caso, la ausencia del color significa una muestra positiva.

VENTAJAS DE LA PRUEBA DE ELISA.

4. alta sensibilidad y especificidad.
5. Método rápido.
6. Los reactivos son estables.
7. Resultado visual.

DESVENTAJAS DE LA PRUEBA DE ELISA.

- Costo de micro placas.
- Costo de equipo automatizado.

3.3.4.3. Neutralización viral.

La Neutralización Viral. Esta es una prueba altamente específica pero menos sensible en comparación a ELISA. Se basa en la capacidad que tiene el

anticuerpo para neutralizar la citopatogenicidad ó la capacidad del virus de infectar a las células in vitro (OIE, 2000). La desventaja de la prueba es que requiere de un laboratorio que posea el sistema de cultivos celulares, de personal entrenado, es muy costosa y laboriosa. Esta prueba esta prescrita con propósitos para el comercio internacional y es utilizada como técnica de referencia en los programas de erradicación para confirmar los sueros dudosos. Como título neutralizante de suero se define la recíproca dilución de suero, expresado en Log10, que protege una monocapa celular como consecuencia de la neutralización de por lo menos 100 DI50 de virus **(Rivera et al., 1993)**.

3.3.4.3.1. Metodología y procedimiento de Neutralización Viral.

Esta prueba se lleva a cabo haciendo diluciones del suero enfrentándolos a una cantidad constante de virus. Para esta prueba es necesario utilizar muestras de suero y/o fluido torácico fetal. Se utilizan microplacas de 96 hoyos y requiere de una cepa citopático del VDVB que debe ser conservada en el laboratorio debidamente titulada en cultivo celular secundario o línea celular. Continua libre de VDVB endógeno y la lectura se realiza 3 o 4 días del posterior a su procesamiento. **(Benito el al., 2001)**.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1. ÁMBITO DE ESTUDIO.

El presente trabajo de investigación se realizó en la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás de la Provincia de Chumbivilcas del departamento del Cusco. La comunidad se ubica al sur oeste de la ciudad de Santo Tomás. Y tuvo 2 etapas, siendo la primera etapa la toma de muestras de sangre de vacunos y ovinos en la comunidad de Vista Alegre.

Y la segunda etapa está considerada el procesamiento de muestras en el laboratorio de “Desarrollo y validación de pruebas serológicas y moleculares para la investigación y diagnóstico de enfermedades infecciosas de la Escuela Profesional de Zootecnia, Área de Sanidad Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias UNSAAC”. Actualmente es denominado MZ. ATILIO PACHECO PACHECO.

4.1.1. Ubicación política.

- Región : Cusco.
- Departamento : Cusco.
- Provincia : Chumbivilcas.
- Distrito : Santo Tomás.
- Comunidad : Vista Alegre.

4.1.3.2. Precipitación.

La precipitación promedio anual está alrededor de 789 mm/año. La distribución de la precipitación a lo largo del año, con lluvias frecuentes durante los meses de noviembre hasta abril, lo que determina las épocas de las siembras y la cosechas (**FUENTE SENAMHI, 2016**).

En lo que se refiere a la humedad relativa, la cual se expresa en porcentaje, y posible a una temperatura determinada. Este parámetro muestra una regularidad a través del año, teniendo los valores más altos en la temporada de lluvias y los más bajos en secas, en general se considera a la provincia como seca, con un promedio de 63% (**FUENTE IMA Y SENAMHI, 2016**).

Tabla 2. Principales parámetros meteorológicos de Chumbivilcas.

RUBROS	MAXIMA	MINIMA
Temperatura (°C)	22,2°C (Noviembre)	-4,4°C (Julio)
Precipitación total mensual (mm)	181,8 mm (Febrero)	2,9 mm (Julio)
Humedad relativa media mensual (%)	71,3% (Marzo)	42,0 % (Julio)

Fuente. (SENAMHI, 2016).

4.2. MATERIALES DE ESTUDIO.

4.2.1. Población y muestra.

El ganado bovino y rebaño está conformado por vacunos hembras y ovinos hembras de la comunidad de Vista Alegre; las muestras fueron por terneras mayores a seis meses, vaquillonas y vacas en raza Brown swiss (PPC) y ovinos, crías, borreguillas y borregas (PPC y criollas).

4.2.1.1. Tamaño de muestra de vacunos.

El tamaño de muestra fue determinado teniendo en cuenta un nivel de confianza de 95% y error de precisión de 0.096 mediante el método no paramétrico de muestreo simple al azar. Considerando una población conocida 1.96 % y error de precisión de 0.1 al 90%, mediante el método paramétrico de muestreo simple al azar con una población de 1986, en la comunidad de Vista Alegre (**Daniel W, 1996**).

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

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

p: Que presenta la enfermedad 0.5.

q: Que no presenta la enfermedad 0.5.

E: Precisión o error Experimental 0.096%.

n: Tamaño de muestra.

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

$$n = \frac{1986 (1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(1986 - 1) (0.1)^2 + (1.96)^2 (0.5)(0.5)}$$

$$n = \frac{1986 (3,8416) (0.25)}{(1985) (0.01) + (3,8416)(0.25)}$$

$$n = \frac{1986 (0.9604)}{19.85 + 0.9604} = \frac{1907.3544}{20.8104} = 91.65 = 92$$

Tabla 3. Distribución de muestras de sangre realizadas en vacunos.

ESPECIE	TERNERAS > A 6 MESES	VAQUILLONAS	VACAS	TOTAL
Vacunos	15	10	67	92
TOTAL TAMAÑO DE MUESTRA				92

La comunidad de Vista Alegre tiene una población de 1986 animales de las cuales se hizo un muestreo de un total de 92 animales (15 terneras mayores a seis meses, 10 vaquillonas y 67 vacas en producción).

4.2.1.1.1. De las muestras.

Las muestras estuvieron constituidas por sangre entera y suero sanguíneo de 92 vacunos hembras, terneras mayores a seis meses, vaquillonas y vacas.

4.2.1.2. Tamaño de muestra de ovinos.

El tamaño de muestra fue determinado teniendo en cuenta un nivel de confianza de 95% y error de precisión de 0.096 mediante el método no paramétrico de muestreo simple al azar. Considerando una población conocida 1.96 % y error de precisión de 0.1 al 90%, mediante el método paramétrico de muestreo simple al azar con una población de 1998 en la comunidad de Vista Alegre (**Daniel W, 1996**).

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

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

p: Que presenta la enfermedad 0.5.

q: Que no presenta la enfermedad 0.5.

E: Precisión o error Experimental 0.096%.

n: Tamaño de muestra.

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

$$n = \frac{1998 (1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(1998 - 1) (0.1)^2 + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = \frac{1998 (3,8416) (0.25)}{(1997) (0.01) + (3.8416)(0.25)}$$

$$n = \frac{1998 (0.9604)}{19.97 + 0.9604} = \frac{1918.8792}{20.9304} = 91.679 = 92$$

Tabla 4. Distribución de muestras de sangre realizadas en ovinos.

ESPECIE	CRIAS > de 6 Meses	BORREGUILLAS	BORREGAS	TOTAL
Ovinos	10	26	56	92
TOTAL TAMAÑO DE MUESTRA				92

La comunidad de Vista Alegre tiene una población de 1998 animales de las cuales se hizo un muestreo de un total de 92 animales (10 crías mayores a Seis meses, 26 borreguillas y 56 borregas).

4.2.1.2.1. De las muestras.

Las muestras estuvieron constituidas por sangre entera y suero sanguíneo de 92 ovinos hembras, crías mayores a seis meses, borreguillas y borregas.

4.2.2. Materiales para la toma de sangre entera.

- Casquete para las agujas vacuteiner.
- Tubos vacuteiner con separador de suero.

- Alcohol yodado.
- Torundas de algodón.
- Gradillas
- Agujas vacuteiner 18G.
- Plumón indeleble para rotular la muestra.
- Termo con pilas de hielo para la conservación de las muestras.
- Guantes desechables.
- Mandil y/o mameluco.
- Mochetas.
- Soga.

4.2.2.1. Materiales y equipos para la obtención de suero.

- Viales criogénicos de 4.5 ml.
- Pipetas pasteur desechables.
- Crioviales de 2.0 ml.
- Plumón indeleble para rotular las muestras.
- Congelador.
- Guantes desechables.
- Gorro.

4.2.3. Materiales y equipos de laboratorio.

4.2.3.1 Equipos e instrumentos.

- Refrigeradora para muestras (ELECTRIX EU21 a T° de -1° hasta - 4°C).
- Lavador de placas de ELISA (Biotek EL x 50).
- Incubadora de 25 a 38° C (JITERBUG – 4, BOEKEL).
- Refrigeradora (LG – Inverter Linear).
- Congeladora de -20°C (Electrolux – EU 21).
- Micropipetas de 30 - 300 µl y 100 – 1000 µl (Discovery confort CE IVD).
- Lector de microplacas de ELISA (Biotek EPOCH 2).
- Lector de microplacas de ELISA (Chromate Awareness Technology INC).
- Cabina de flujo laminar (Telstar Bio II A).
- Vortex (GENIE 2).

4.2.3.2 Materiales de laboratorio.

- Kit de ELISA para atrapar anticuerpos de IBR.
- Pipetas de precisión (de 4 – 200 µl).
- Puntas de pipetas desechables (5 – 300 µl).
- Agua destilada, des – ionizada o cualquier otra agua altamente purificada.
- Botella para enjuagar.

- Recipiente de 1 – 2 litros para PBS.
- Papel absorbente.
- Probeta de 100 a 1000 ml.
- Mascara o barbijos.
- Parafilm.
- Viales de 1.5 ml.
- Guantes desechables.
- Mandiles.

4.2.4. Reactivos para el análisis del antígenos en el laboratorio.

- Kit de ELISA para atrapar anticuerpos de IBR.
- Suero control positivo.
- Suero control negativo.
- Solución de lavado.
- Solución TMB.
- Solución conjugada.
- Solución diluyente.
- Solución de stop.
- Agua destilada deionizada.

4.2.5. Materiales de escritorio.

- Bolígrafo.
- Cuadernos de campo.
- Tablero acrílico.
- Fichas individuales para los animales.
- Libros.
- Marcador indeleble.
- Computadora personal.

4.3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

Cualitativa y cuantitativa.

4.3.1. Obtención de muestras sanguíneas en vacunos y ovinos.

Las muestras de sangre fueron colectadas en la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomas, provincia de Chumbivilcas; en vacunos por punción de la vena caudal y en ovinos por vena cefálica previa desinfección con alcohol yodado, y en ovinos por punción de la vena cefálica previa desinfección con alcohol yodado, para lo cual se utilizó tubos de vacutainer con separador de suero al vacío, estéril, sin anticoagulante en un aproximado de 3 a 5 ml por animal muestreado. Una vez obtenida las muestras de sangre se rotulo con datos de importancia (nombre, categoría y fecha), a su vez durante la toma de muestras se hizo el registro de datos referentes al estado sanitario de cada animal. Una vez tomado las muestras se conservó dentro de un kuler refrigerante.



Fotografía 1. Toma de muestra de sangre de la vena caudal de vacunos.



Fotografía 2. Toma de muestra de sangre de la vena cefálica de ovinos.

4.3.2. Obtención de suero.

Para la obtención de suero se tuvo que esperar 24 horas para que el gel contenido reaccione, y luego el tubo vacuteiner separará de por sí el suero de la sangre, posteriormente se colectó el suero en crioviales de 2.0 ml y se conservó en la congeladora de -20°C hasta el momento de análisis serológico.



Fotografía 3. Separación de sueros de vacunos y ovinos.

FLUJOGRAMA DE TRABAJO.

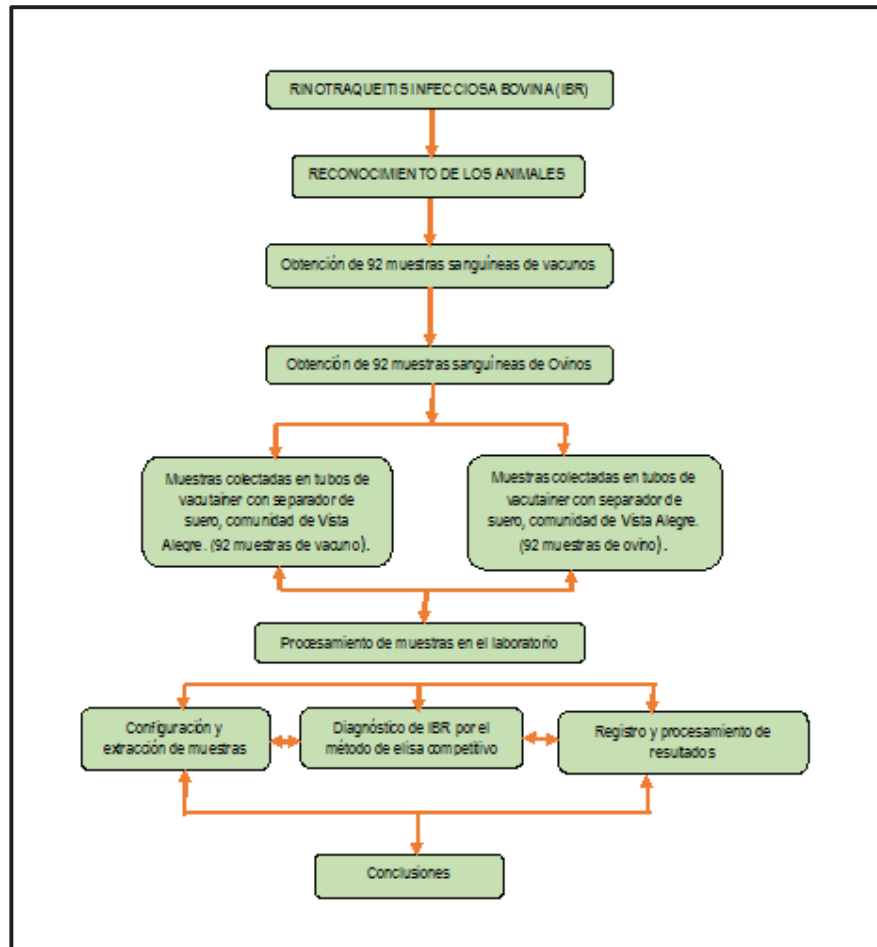


Figura 6. Flujoograma del trabajo IBR.

4.3.3. Metodología de laboratorio.

4.3.3.1. Principio de la prueba IBR (kit de laboratorio IDEXX).

El análisis con el kit IDEXX IBRgE se lleva a cabo en un pocillo tapizado con antígeno del BHV-1. Durante la primera incubación, los anticuerpos frente a IBR presentes en la muestra, incluyendo los producidos frente a Eg, reaccionan con los antígenos presentes en la placa. Después de un lavado, se agrega al pocillo un conjugado de anticuerpos monoclonal anti-BHV1- gE, el cual compite con el antígeno viral gE durante una segunda incubación. Si no hay anticuerpos frente a gE en la muestra, los anticuerpos gE pueden reaccionar libremente con el antígeno gE. Por otra parte si hay anticuerpos gE presentes en la muestra se impide la reacción con el antígeno de los anticuerpos monoclonales conjugados con enzima. Después de este periodo de incubación, se hace un lavado para eliminar el conjugado que no ha reaccionado y se agrega una reacción de substrato-cromógeno. En la presencia de la enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromóforo y forma un color azul. La absorbancia de la solución se mide a 650 nm, $A(650)$, en un espectrómetro, y los resultados se calculan dividiendo $A(650)$ de la muestra por la $A(650)$ media del control negativo lo cual resulta en un valor M/N. la cantidad de anticuerpos contra el gE es inversamente proporcional a $A(650)$ y por consiguiente, al valor M/N. la presencia de anticuerpos anti- gE BHV-1, indica que el animal estuvo expuesto previamente a una cepa de campo de BHV-1 o que fue inmunizado con una vacuna convencional positiva al gE de virus vivo modificado o de virus inactivo. La presencia de anticuerpos frente a BHV-1 detectada usando un kit de IDEXX IBRgB Ab o un kit de IDEXX IBR de anticuerpos totales, junto con la ausencia de anticuerpos frente al antígeno gE

determinada por el kit IDEXX IBR gE indica una respuesta a una vacuna con gE suprimido. (Protocolo IDEXX Laboratories, 2016).

Tabla 5. Reactivos positivos en el Kit IDEXX IBRgE.

Reactivos		Volumen	
1	Placas Tapizadas con Antígeno BHV-1	60	30
2	Control Positivo-Suero que Contiene gE Anti-BHV-1, Conservado con azida de Sodio	1 X 6,5 ml	1 X 6,5 ml
3	Control Negativo-Suero Bovino Conservado con azida de Sodio	1 X 6,5 ml	1 X 6,5 ml
4	Conjugado-Conjugado anti-BHV-1 gE:HRPO; Conservado con Kathon	1 X 72 ml	1 X 350 ml
5	Diluyente de la Muestra- Conservado con azida de Sodio	1 X 175 ml	1 X 480 ml
A	Substrato TMB	1 X 60 ml	1 X 315 ml
B	Solución de Frenado	1 X 60 ml	1 X 315 ml
C	Solución de Concentrada (10x)- Conservado con gentamicina	1 X 235 ml	3 X 480 ml
Otros componentes: Bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable.		1	0

4.3.3.2. Método de Elisa por competencia (Idexx laboratorio - 2016).

Distribución de la placa de ELISA para IBR de la comunidad de Vista Alegre,
Para vacunos.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	CN	CP	CP	33	42	53	62	71	81	89	99
B	1	9	17	24	34	43	54	63	73	82	90	100
C	2	10	18	25	35	45	56	64	74	83	91	101
D	3	11	19	26	37	46	57	66	75	84	93	102
E	4	13	20	28	38	47	58	67	76	85	95	103
F	5	14	21	29	39	49	59	68	77	86	96	104
G	6	15	22	30	40	51	60	69	78	87	97	105
H	8	16	23	32	41	52	61	70	80	88	98	106

Distribución de la placa de ELISA para IBR de la comunidad de Vista Alegre
para ovinos.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	CN	CP	CP	29	37	45	53	61	69	77	85
B	1	8	15	22	30	38	46	54	62	70	78	86
C	2	9	16	223	31	39	47	55	63	71	79	87
D	3	10	17	24	32	40	48	56	64	72	80	88
E	4	11	18	25	33	41	49	57	65	73	81	89
F	5	12	19	26	34	42	50	58	66	74	82	90
G	6	13	20	27	35	43	51	59	67	75	83	91
H	7	14	21	28	36	44	52	60	68	76	84	92

DONDE:

P = Control Positivo.

N = Control Negativo.

4.3.3.3. Preparación de los Reactivos.

Preparación de la solución de lavado. La solución de lavado concentrada (10x) se dejó equilibrar a una temperatura de 18° - 26°C y se agito para asegurar que se disuelvan todas las sales precipitadas. Este concentrado fue diluido 1:10 con agua destilada para su uso.



Fotografía 4. Preparación de la solución de lavado.

4.3.3.4. Preparación de muestras y controles.

Se diluyo las muestras de suero y los controles 1:2 con la solución diluyente. Posteriormente se dejó durante una noche (18 a 24 horas) a 18 - 26°, con las placas perfectamente selladas, para evitar la evaporación de las muestras.

4.3.3.5. Procedimiento de la prueba.

Para iniciar la prueba se dejó que los reactivos alcancen 18 – 26°C y luego se agito suavemente por inversión y con un movimiento circular.

1. Teniendo las placas recubiertas con antígeno se anota la posición de las muestras.
2. Añadir el control negativo a los pocillos A1 Y A2 (100µl de volumen total).
3. Añadir el control positivo a los pocillos A3 Y A4 (100µl de volumen total).
4. Añadir 100µl de muestra (suero) a los pocillos restantes.
5. Incubar las muestras durante toda una noche a 18- 26°C.
6. Concluido el tiempo de incubación se lava cada pocillo con 300 µl de solución de lavado por cinco veces, aspirando el contenido de cada pocillo después de cada lavado evitando que la placa se seque sobre todo antes de añadir el conjugado. Después de la última aspiración se golpea cada placa suavemente pero firme sobre papel absorbente, para eliminar los residuos de líquido de lavado.
7. Añadir 100µl de conjugado a cada pocillo.
8. Incubar durante 30 minutos (\pm 2min.) a 18 – 26°C.
9. Repetir el paso seis.
10. Agregar 100µl de la solución substrato TMB a cada pocillo.
11. Incubar durante 15 minutos (\pm 1min.) a 18 – 26°C.
12. Agregar 100µl de la solución de frenado a cada pocillo para detener la reacción.
13. Medir la absorbancia de las muestras y los controles a 650 nm.
14. Calcular los resultados.

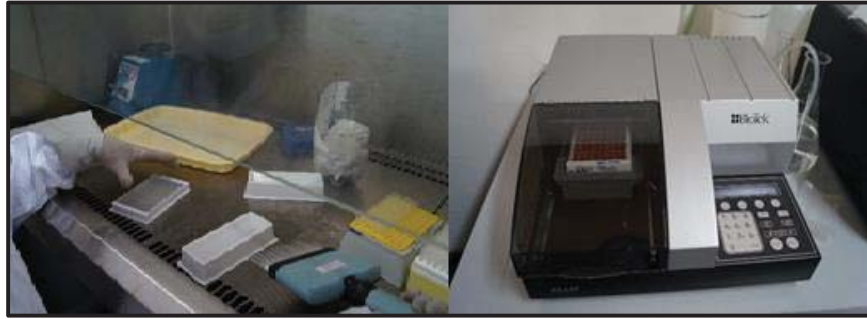
Flujograma de la metodología de ELISA para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).



Fotografía 5. Reactivos y muestras listos para iniciar la prueba de ELISA.



Fotografía 6. Dilución de muestras y controles 1:2 con el diluyente de la muestra.



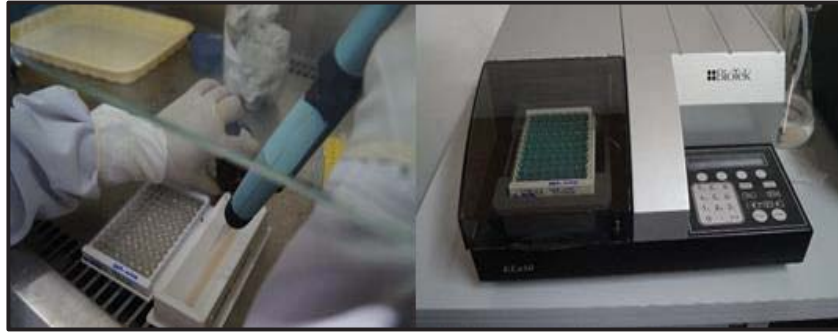
Fotografía 7. Incubación de las placas perfectamente selladas para evitar evaporación por 18 horas a 25 °C.



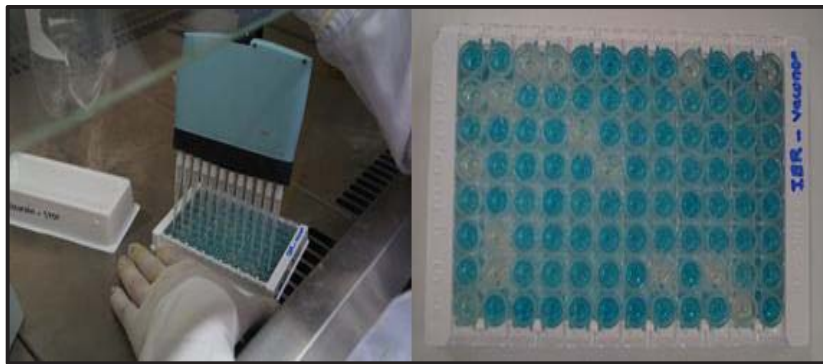
Fotografía 8. Lavado de las placas culminada la incubación de 18 horas con 300µl de solución de lavado por 5 veces.



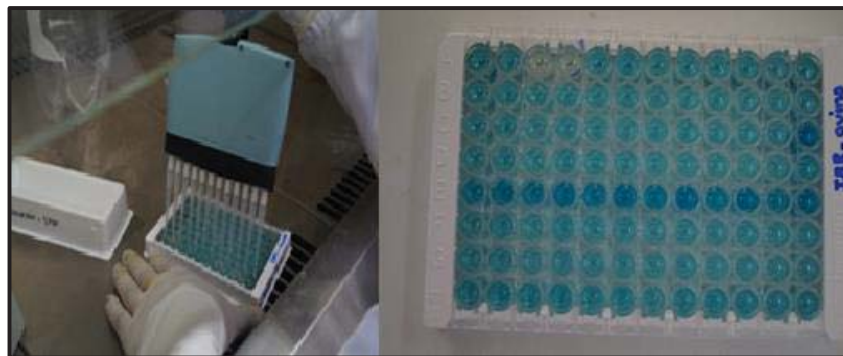
Fotografía 9. Se agregó 100µl de conjugado e incubar por 30 minutos a 25°C, Pasado ese periodo se repite el lavado.



Fotografía 10. Se agregó 100 μ L de sustrato TMB e incubar por 15 minutos a 25°C.



Fotografía 11. Se agregó 100 μ L de solución de frenado para detener la reacción y medir la absorción a 650 nm, para la muestra de vacunos.



Fotografía 12. Se agregó 100 μ L de solución de frenado para detener la reacción y medir la absorción a 650 nm, para la muestra de ovinos.

4.3.3.5.1. Criterios de validación.

La reacción se considera valida si la diferencia entre la media del control negativo (CNx) y la media del control positivo (CPx) es mayor o igual a 0.300.

4.3.4. Cálculos de resultados.

4.3.4.1. Determinación de la Prevalencia.

La prevalencia de anticuerpos del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), se obtuvo en base a las muestras positivas determinadas por serología (ELISA competitivo), utilizando la siguiente formula.

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

Donde:

P = Prevalencias de la enfermedad.

C= número total de casos nuevos.

N= total de animales evaluados.

4.3.4.2. Determinación del intervalo de confianza.

La prevalencia se ajustara a un intervalo de confianza mediante la fórmula.

$$S \pm Z \sqrt{\frac{s \cdot q}{n}}$$

Dónde:

Z= Desviación con relación a una distribución normal estándar.

S= prevalencia de la IBR.

q= Proporción de animales no afectados.

n= Tamaño de la muestra definitiva.

4.3.4.3. Determinación de la media del CPx, CNx y cociente M/N.

La presencia o ausencia de anticuerpos frente al antígeno **gE** se determina calculando el valor **M/N** de cada muestra.

Tabla 6. Fórmula para determinar la media del control positivo, negativo y cociente m/n.

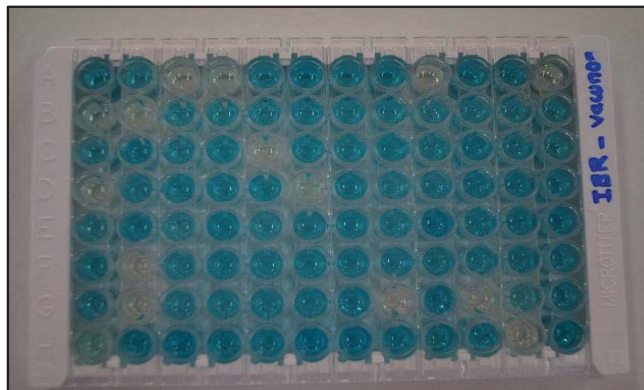
Calculo		
1.	Media de Control Negativo (CN \bar{x})	$\frac{A(650)A1 + A(650)A2}{2} = CN\bar{x}$
2.	Media del Control Positivo(CP \bar{x})	$\frac{A(650)A3 + A(650)A4}{2} = CP\bar{x}$
3.	Cociente M/N	$\frac{\text{Muestra } A(650)}{CN\bar{x}} = M/N$

Fuente: Idexx Laboratories, 2016.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

5.1. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN VACUNOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.

Durante la primera incubación, los anticuerpos frente a Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) presentes en la muestra reaccionan con los antígenos presentes en la placa. Después del lavado se agregó el conjugado de anticuerpos monoclonal anti-BHV1-gE, el cual compite por el antígeno viral gE durante la segunda incubación, pasado ese tiempo se realiza nuevamente el lavado para eliminar el conjugado que no reacciona y se agrega la solución de substrato-cromógeno. En presencia de esta enzima, el substrato se convierte en un producto que reacciona con el cromóforo y forma una coloración azul para los animales que resultaron negativos, lo que no sucede con los positivos que permanecen sin coloración alguna.



Fotografía 13. Resultados cualitativos de vacunos de la comunidad de Vista Alegre.

A la observación cualitativa de la reacción final, se considera positivos los pocillos que no presentan coloración y negativos los de coloración azul, por tanto se tiene un total de 14 animales considerados como positivos en la comunidad de Vista Alegre.

Tabla 7. Resultado cualitativo para IBR de la comunidad de Vista Alegre.

COLORACION	VACUNOS
AZUL (negativo)	78
INCOLORO (positivo)	13
CELESTE (blanquecino) dudoso	1
TOTAL	92

En la tabla 7. Se observa que de los 92 animales muestreados de la comunidad de Vista Alegre 14 resultó positivo, teniendo la presencia de (IBR) a la observación cualitativa anticuerpos de 15.22%.

5.2. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN VACUNOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS, PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.

Tabla 8. Densidades ópticas ofrecidas por el lector de microplacas de ELISA (chroMate Manager) para rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), comunidad de Vista Alegre.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.768	0.576	0.08	0.121	0.578	0.681	0.563	0.644	0.059	0.637	0.597	0.129
B	0.169	0.092	0.598	0.61	0.58	0.655	0.567	0.574	0.522	0.58	0.548	0.655
C	0.525	0.697	0.586	0.732	0.168	0.732	0.576	0.708	0.615	0.692	0.563	0.532
D	0.115	0.552	0.658	0.7	0.724	0.177	0.621	0.523	0.573	0.651	0.641	0.644
E	0.471	0.728	0.499	0.737	0.544	0.843	0.708	0.562	0.748	0.654	0.653	0.733
F	0.613	0.076	0.6	0.627	0.693	0.646	0.652	0.597	0.618	0.642	0.61	0.629
G	0.55	0.059	0.565	0.58	0.619	0.677	0.668	0.035	0.767	0.063	0.417	0.659
H	0.247	0.856	0.898	0.838	0.741	0.859	0.899	0.756	0.784	0.844	0.266	0.811

En la tabla 8. Tenemos las densidades ópticas resultantes al medir la absorbancia a 650nm. En el lector de microplacas de ELISA.

Donde:

- Control negativo.
- Control positivo.
- Muestras de Vista Alegre.

Tabla 9. Resultados del cálculo del cociente M/N de las densidades ópticas para (IBR), comunidad de Vista Alegre.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1.143	0.857	0.119	0.180	0.860	1.013	0.838	0.958	0.088	0.948	0.888	0.192
B	0.251	0.137	0.890	0.908	0.863	0.975	0.844	0.854	0.777	0.863	0.815	0.975
C	0.781	1.037	0.872	1.089	0.250	1.089	0.857	1.054	0.915	1.030	0.838	0.792
D	0.171	0.821	0.979	1.042	1.077	0.263	0.924	0.778	0.853	0.969	0.954	0.958
E	0.701	1.083	0.743	1.097	0.810	1.254	1.054	0.836	1.113	0.973	0.972	1.091
F	0.912	0.113	0.893	0.933	1.031	0.961	0.970	0.888	0.920	0.955	0.908	0.936
G	0.818	0.088	0.841	0.863	0.921	1.007	0.994	0.052	1.141	0.094	0.621	0.981
H	0.368	1.274	1.336	1.247	1.103	1.278	1.338	1.125	1.167	1.256	0.396	1.207

En la tabla 9. Se observa los resultados obtenidos al hacer el cálculo del cociente M/N, el cual nos indica la presencia o ausencia de anticuerpos frente al virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Las muestras que resultaron menores a 0.60 son clasificadas como positivas y las muestras que resultaron mayores a 0.70 son clasificadas como negativas.

Los resultados se obtuvieron en las tabla 9, cuantitativamente de los 92 animales muestreados resultaron positivos 14 y 78 negativos en la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomas Chumbivilcas.

Tabla 10. Vacunos positivos y negativos a (IBR) por categorías de la comunidad de Vista Alegre.

CATEGORIA	Nº DE MUESTRA	POSITIVO	NEGATIVO
Terneras > a 6 meses	15	0	15
vaquillonas	10	1	9
vacas	67	13	54
TOTAL	92	14	78

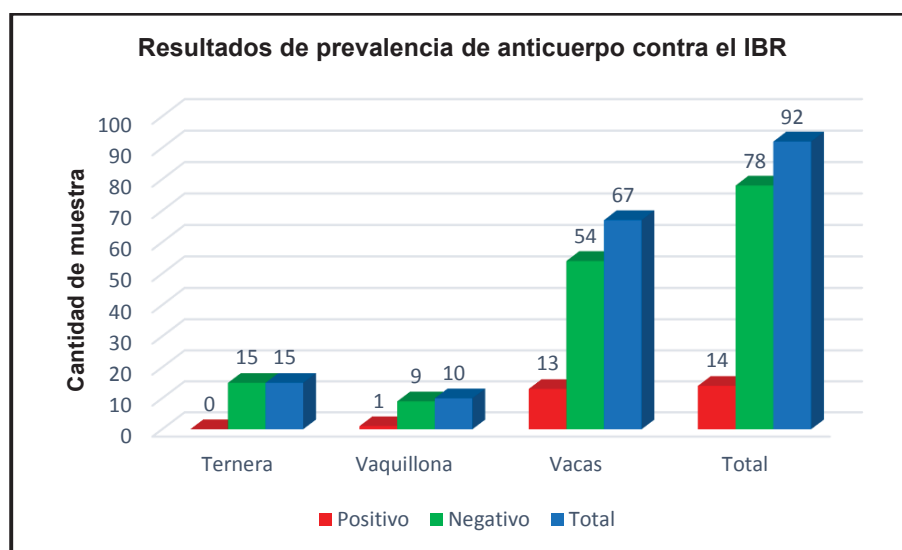


Grafico 1. La barra de estadística representa la prevalencia de positivos y negativos de anticuerpos contra el IBR de la comunidad de Vista Alegre (Tabla 10).

5.3. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR), EN VACUNOS (TERNERAS MAYORES A 6 MESES, VAQUILLONAS Y VACAS) DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE.

Tabla 11. Prevalencia de Anticuerpos contra la (IBR) por categorías en la comunidad de Vista Alegre.

CATEGORIA	N° MUESTRAS	POSITIVOS	PREVALENCIA%
Terneras >6 meses	15	0	0
Vaquillonas	10	1	1.09 ± 0.02
Vacas	67	13	14.13 ± 0.07
TOTAL	92	14	15.22 ± 0.07

Al análisis de las 92 muestras de suero tomadas de las diferentes categorías de la comunidad de Vista Alegre sometidas a la prueba de ELISA competitiva para determinar la prevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) dieron como resultado lo siguiente: El 15.22 ± 0.02 % (1/92) en vaquillonas y 15.22 ± 0.07 (13/92) en vacas de las muestras presentaron anticuerpos frente al virus IBR; encontrándose positivos en las categorías de vacas y vaquillonas con una prevalencia de 15.22 ± 0.07% (14/92) (Tabla 11).

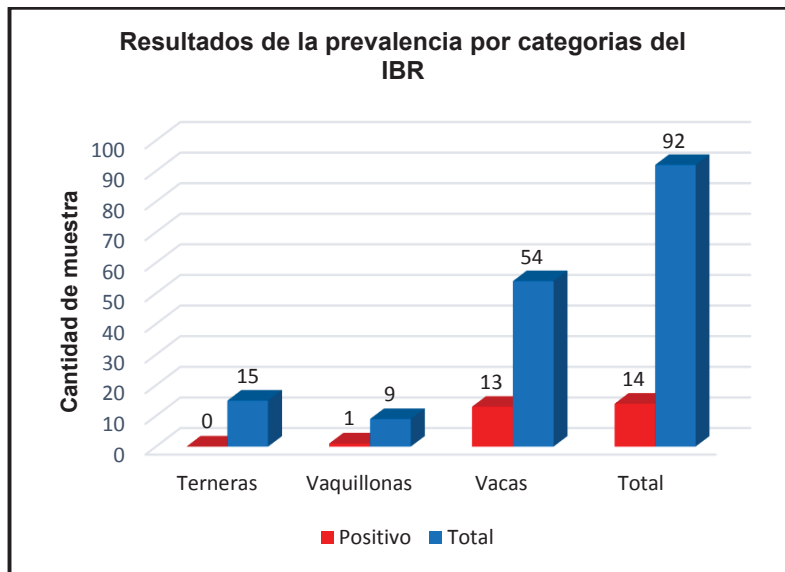


Grafico 2. Resultados de la prevalencia de anticuerpos contra la (IBR) de la comunidad de Vista Alegre (Tabla 11).

Tabla 12. Prevalencia de anticuerpos contra la (IBR), en vacunos de la comunidad de Vista Alegre.

ESPECIE	Nº DE MUESTRA	POSITIVO (IBR)	PREVALENCIA %
VACUNOS	92	14	15.22%

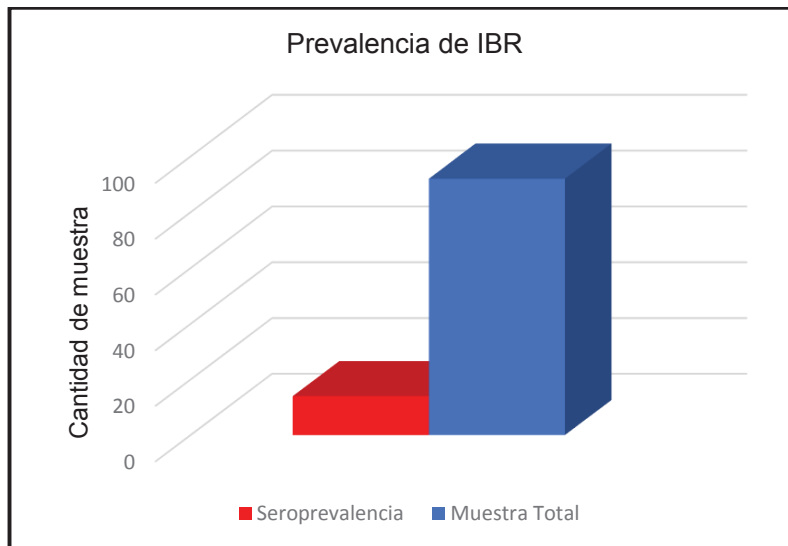
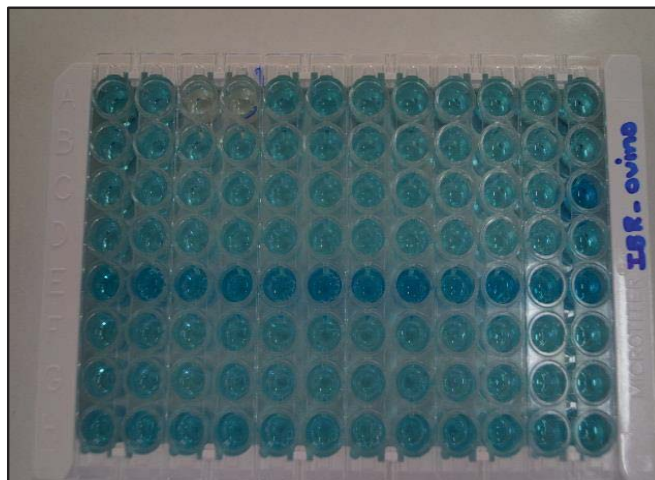


Grafico 3. Resultados de la prevalencia de anticuerpos contra IBR de la comunidad de Vista Alegre (Tabla 12).

5.4. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN OVINOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.

Durante la primera incubación, los anticuerpos frente a IBR presentes en la muestra reaccionan con los antígenos presentes en la placa. Después del lavado se agregó el conjugado de anticuerpos monoclonal anti-BHV1-gE, el cual compete por el antígeno viral gE durante la segunda incubación, pasado ese tiempo se realiza nuevamente el lavado para eliminar el conjugado que no reacciona y se agrega la solución de substrato-cromógeno. En presencia de esta enzima, el substrato se convierte en un producto que reacciona con el cromóforo y forma una coloración azul para los animales que resultaron negativos, lo que no sucede con los positivos que permanecen sin coloración alguna.



Fotografía 14. Resultados cualitativos de ovinos de la comunidad de Vista Alegre.

A la observación cualitativa de la reacción final, se considera positivos los pocillos que no presentan coloración y negativos los de coloración azul, por tanto no se encontraron animales positivos a la (IBR) en la comunidad de Vista Alegre.

Tabla 13. Resultado cualitativo para IBR de la comunidad de Vista Alegre.

COLORACION	OVINOS
AZUL (negativo)	92
INCOLORO (positivo)	0
CELESTE (blanquecino) dudoso	0
TOTAL	92

En la tabla 13. Se observa que; de un total de 92 ovinos muestreados de la comunidad de Vista Alegre; a la observación cualitativa resultaron 92 negativos.

5.5. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL GRADO DE INFECCIÓN EN OVINOS DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE DEL DISTRITO DE SANTO TOMAS, PROVINCIA DE CHUMBIVILCAS.

Tabla 14. Densidades ópticas ofrecidas por el lector de microplacas de elisa (chromate manager) para rinotraqueitis infecciosa bovina, comunidad de vista alegre.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.469	0.468	0.147	0.086	0.524	0.545	0.45	0.432	0.443	0.485	0.437	0.473
B	0.483	0.564	0.486	0.496	0.489	0.745	0.513	0.439	0.589	0.423	0.457	0.48
C	0.522	0.56	0.415	0.477	0.446	0.41	0.498	0.519	0.496	0.792	1.091	1.535
D	1.044	0.502	0.45	0.461	0.453	0.714	0.47	0.428	0.425	0.389	1.158	1.055
E	0.858	1.161	1.009	1.071	1.352	1.876	1.057	1.306	1.002	1.339	0.848	1.218
F	0.468	0.484	0.444	0.533	0.47	0.43	0.436	0.494	0.434	0.458	0.41	0.478
G	1.52	0.532	0.622	0.471	0.533	1.163	0.656	0.542	0.437	1.12	0.461	0.439
H	0.681	0.704	0.621	0.765	0.578	0.598	0.472	0.538	0.675	0.582	0.523	0.566

En la tabla 14. Tenemos las densidades ópticas resultantes al medir la absorbancia a 650nm. En el lector de microplacas de ELISA.

Donde:

- Control negativo.
- Control positivo.
- Muestras de Vista Alegre.

Tabla 15. Resultados del cálculo del cociente m/n de las densidades ópticas para (IBR), comunidad de vista alegre.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1.001	0.999	0.314	0.184	1.118	1.163	0.961	0.922	0.946	1.035	0.933	1.010
B	1.031	1.204	1.037	1.059	1.044	1.590	1.095	0.937	1.257	0.903	0.975	1.025
C	1.114	1.195	0.886	1.018	0.952	0.875	1.063	1.108	1.059	1.691	2.329	3.276
D	2.228	1.072	0.961	0.984	0.967	1.524	1.003	0.914	0.907	0.830	2.472	2.252
E	1.831	2.478	2.154	2.286	2.886	4.004	2.256	2.788	2.139	2.858	1.810	2.600
F	0.999	1.033	0.948	1.138	1.003	0.918	0.931	1.054	0.926	0.978	0.875	1.020
G	3.244	1.136	1.328	1.005	1.138	2.482	1.400	1.157	0.933	2.391	0.984	0.937
H	1.454	1.503	1.326	1.633	1.234	1.276	1.007	1.148	1.441	1.242	1.116	1.208

En la tabla 15. Se observa los resultados obtenidos al hacer el cálculo del cociente M/N, el cual nos indica la presencia o ausencia de anticuerpos frente al virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). Las muestras que resultaron menores a 0.60 son clasificadas como positivas y las muestras que resultaron mayores a 0.70 son clasificadas como negativas.

Los resultados se obtuvieron en las tabla 15, cuantitativamente de los 92 animales muestreados resultaron 92 negativos en la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás Chumbivilcas.

Tabla 16. Ovinos positivos y negativos a (IBR) por categorías de la comunidad de vista alegre.

CATEGORIA	Nº DE MUESTRA	POSITIVO	NEGATIVO
Crías > a 6 meses	10	0	10
Borreguillas	26	0	26
Borregas	56	0	56
TOTAL	92	0	92

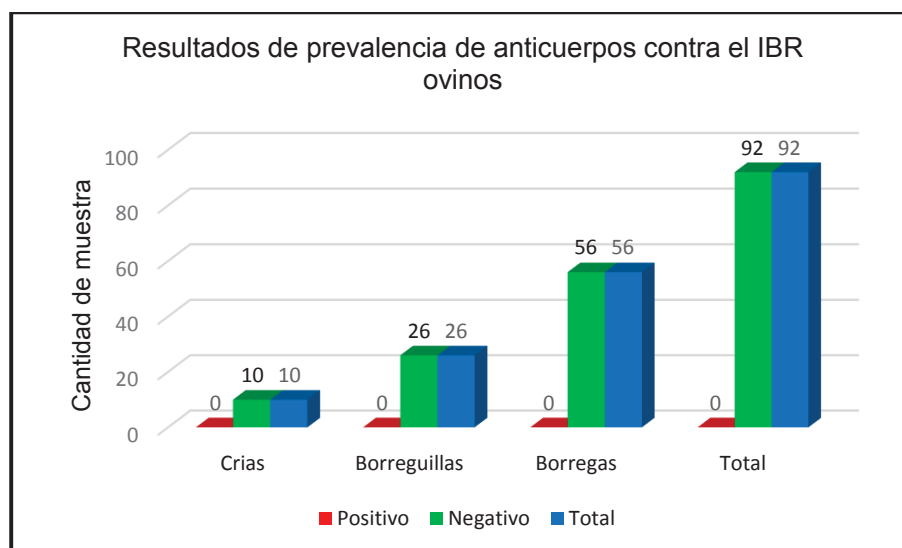


Grafico 4. La barra de estadística representa la prevalencia de positivos y negativos de anticuerpos contra el IBR en ovinos de la comunidad de Vista Alegre (Tabla16).

5.6. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR), EN OVINOS (CRIAS MAYORES A 6 MESES, BORREGUILLAS Y BORREGAS) DE LA COMUNIDAD DE VISTA ALEGRE.

Tabla 17. Prevalencia de Anticuerpos contra la (IBR) por categorías en la Comunidad de Vista Alegre.

CATEGORIA	N° MUESTRAS	POSITIVOS	PREVALENCIA%
Crías >6 meses	10	0	0
Borreguillas	26	0	0.00
Borregas	56	0	0.00
TOTAL	92	0	0.00

Al análisis de las 92 muestras de suero tomadas de las diferentes categorías de la comunidad de Vista Alegre sometidas a la prueba de ELISA competitiva para determinar la prevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) dieron como resultado lo siguiente: El 0.00 % (0/92) de las muestras presentaron anticuerpos frente al virus IBR; en las diferentes categorías de ovinos con una prevalencia de 0.00 % (Tabla 17).

TABLA 18. Prevalencia de anticuerpos contra la (IBR), en ovinos de la comunidad de vista alegre.

ESPECIE	N° DE MUESTRA	POSITIVO (IBR)	PREVALENCIA %
OVINOS	92	0	0.00%

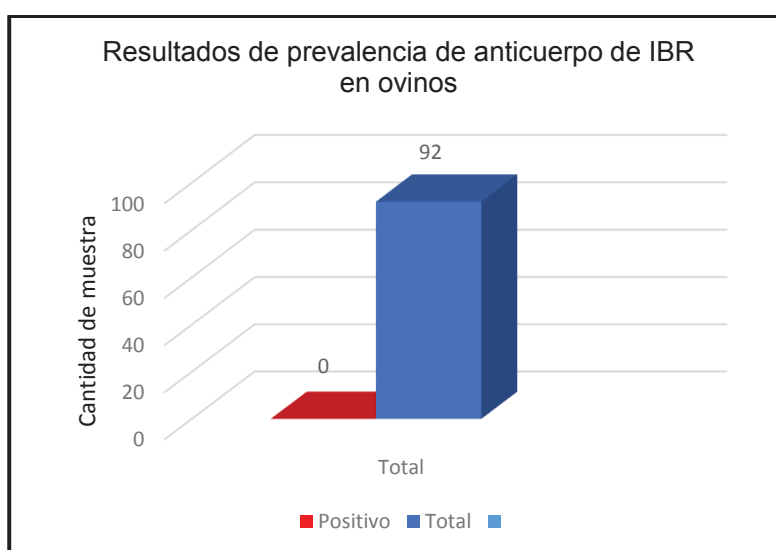


Grafico 5. Resultados de la prevalencia de Anticuerpo contra la (IBR) de la comunidad de Vista Alegre (Tabla18).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación fue 14 casos positivos con una prevalencia de $15.22 \pm 0.07 \%$ (14/92) en vacunos de la comunidad de Vista Alegre, este resultado difiere con el trabajo que realizó Zacarías, E. (2002) en los distritos de Coracora y Chumpi Puyusca, de la provincia de Parinacochas, Ayacucho; quien reporto una incidencia de 67.6% que es superior al trabajo realizado, debido a que dicho autor utilizó la prueba de neutralización viral.

Por otro lado Mendoza, F (2012) en la provincia de Anta, Cusco. Encontró una incidencia de 7.61% siendo inferior al presente trabajo a pesar de ser la misma prueba de (ELISA), se presume esta diferencia por la zona de estudio.

Zacarias, E. (2002) en la provincia de Parinacocha, Ayacucho efectuaron su trabajo por el método de Neutralización Viral y Mamani, E. (2013). Anta, Cusco por el método de prueba de ELISA. Encontraron una prevalencia de $67.6 \pm 4.2\%$ y 54.75% respectivamente, con resultados por encima del presente trabajo, la diferencia puede deberse a que las zonas en estudio son altamente endémicas al virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).

En Chuquibambilla, Puno; Ordoñez, O. (2009) por el método de neutralización viral; quienes reportan una prevalencia de 0.00% en vacunos; es similar a los resultados que obtuvimos en la comunidad de Vista Alegre en ovinos con una prevalencia de 0.00% (0/92) por el método de ELISA.

En estudios realizados por Ordoñez, O. (2009) en Chuquibambilla, Puno., Sánchez, T. (2003) en el valle de Lima y Villacaqui, A. (2006) en San Pablo, Cajamarca; reportan una incidencia de 0.00%, 2 – 90%, 0.60% respectivamente; este resultado difiere con el presente trabajo en donde se puede atribuir a que dichos autores utilizaron la prueba de neutralización viral.

Los resultados obtenidos en el trabajo de investigación mediante la prueba de ELISA por competencia en bovinos y ovinos en la comunidad de Vista Alegre, provincia Chumbivilcas, departamento del Cusco, indica que existe la presencia de esta enfermedad en dicha zona en bovinos con una prevalencia de $15.22 \pm 0.07\%$ (14/92), así mismo los animales con presencia de anticuerpos a IBR se encuentran en un estado de latencia al virus, habiendo la posibilidad de que estos animales

puedan contraer nuevamente la enfermedad y ser portadores de la misma. Mientras en ovinos se obtuvo una prevalencia del virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) de 0.00% (0/92). Esto indica la presencia del virus solamente está presente en bovinos.

En estudios epidemiológicos realizados por Manchego A (1998), en una crianza mixta de la comunidad de Yanque, provincia de Caylloma, del departamento de Arequipa, sobre infecciones virales, como la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), de (n=40) ovinos se obtuvo la detección de los anticuerpos el 33%, esto nos indica muy alto el índice de la enfermedad a la comparación con el trabajo desarrollado.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

6.1. CONCLUSIONES.

1. La prevalencia de anticuerpo de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en vacunos de la comunidad Vista Alegre se ha encontrado en un porcentaje de $15.22 \pm 0.07 \%$ (14/92) donde esto nos indica hay presencia de animales portadores del virus.
2. La prevalencia de anticuerpo de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en ovinos de la comunidad de Vista Alegre no se han encontrado ningún animal portador del virus 0.00% (0/92).

6.2. RECOMENDACIONES.

1. Mediante el presente trabajo de investigación se recomienda a los productores de la comunidad de Vista Alegre, repetir el análisis mediante SENASA a los animales portadores del virus de IBR en bovinos y ovinos, para corroborar los resultados obtenidos.
2. Implementar medidas preventivas en el hato, supervisar el movimiento de ganados bovinos y ovinos, restringiendo el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado de sanidad animal.
3. Proponer a Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), a través de este trabajo de investigación, que tome en cuenta la enfermedad de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).
4. Implementar programas de vacunación contra la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).

BIBLIOGRAFÍA.

1. **ABBAS A. 2002.** "Inmunología Celular y Molecular" 4a Edición, Editorial McGraw-Hill-Interamericana. P. 97.
2. **BABIUK, L. VAN DRUNEN, S. TIKOO S. 1996.** Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. V.333. Microbiol 31-42, 56-57.
3. **BLAHA T. 1995.** "Epidemiología Especial Veterinaria" Segunda Edición Editorial Acriba.
4. **BENITO A, CHACON J, RIVERA H. 2001.** Técnicas diagnósticas disponibles para el estudio de la diarrea viral bovina en el Perú. Rev. Inv. Vet. Perú, Supl 1: 387-389.
5. **BROWNLIW, J. L. B. HOOPER, I. THOMPSON Y M. E. COLLINS 1998.** Maternal recognition of foetal infection with bovine. Clin and Dia Virol 141-150.
6. **CHASE C. BRAUM, L. JESSEN, J. HUERLEY, D. 1995.** Estudying virus cell interactions: finding new ways to prevent infestiousbovine rinotracheitis in cattle, Departaments og veterinary Science and Biology/Microbiology.
7. **DANIEL, W. 1996.** Bioestadística: Base para el análisis de las Ciencias de la Salud 3°. Pag 198-206.Editorial Limusa. México.
8. **ENGELS, M. Y ACKERMANN, M. 1996.** Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. Vet. Microbiol 3-15, 21-28.
9. **FENNER, B. 1995.** Herpesvirus en Virología Veterinaria. Edit. Acriba Zaragoza -España. Pag. 30-31.
10. **JONES, C. 1999.** Alfhaherpesviruses latency its rolens in disease and survival of the virus nature. Advances in virus research (51) 81-112.

11. **KAASHOEK, M. 1994.** A conventionally attenuated glycoprotein e negative estrain of bovine herpes virus type 1 is en efficacious and safe vaccine. Pag. 439-444. Edit. Vet Microbiol.
12. **MAMANI CURSI, N. 2013.** Incidencia de la rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) Relacionado con las constants Hematologicas en vacas de las comunidades San Nicolas de Bari y Katañiray de la Provincia de Anta. Tesis de la carrera profesional de Zootecnia de la Facultad de Ciencias Agrarias UNSAAC – 2012.
13. **MANCHEGO, A; H. RIVERA; R. ROSADIO. 1998.** Seroprevalencia de agentes virales en rebaños mixto de una comunidad andina Peruana. Rev. Pec. IVITA (Perú) 9:1-10.
14. **MANRIQUE, J. TERAN M. 1990 - 2002.** Medicina de la producción. Rev. LABVETSUR, Arequipa. Pag. 3 -18.
15. **MANUAL MERCK DE VETERINARIA. 1988.** traducción. Traslacion Co. Of. Amércia. 3a edición España, Centrum págs. 1918.
16. **MENDOZA CONDORI, F. M. 2012.** Incidencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) y Diarrea Viral Bovina (DVB) en vacas en edad reproductiva en las comunidades de Tambo Real, Distrito de Zurite, Provincia de Anta. Tesis – de la carrera profesional de Zootecnia de la Facultad de Ciencias Agrarias UNSAAC – 2012.
17. **MORRISON 1992.** “Detección de terneros con infección congénita del virus de la diarrea viral bovina en 2 hatos lecheros de la Provincia de Arequipa”: Tesis de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM. Lima- Perú.

18. **OBANDO R, CESAR. 1999.** Emphasis on diagnosis and Concomitant Infections with other Viruses of the Bovine Respiratory Disease Complex Swwedish Univerity of Agricultural Sciences. Revista Facultad de Veterinaria, UCV. 33(1-4): 49-57. Venezuela.
19. **OIE, 2000.** Infectious bovine rhinotracheitis/ infectious pustular vulvovaginitis. En: Manual of standard diagnostic tests and vaccines.
20. **OIE – ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL, (OFFICE INTERNACIONAL OF EPIZOOTIES). 2004.** Infectious bovine rhinotracheitis infectious vulvovaginitis. En: Manuel of standards diagnostic test and vacciones.
21. **ORDOÑEZ O. B.Y. 2009.** Prevalencia de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina y Diarrea Viral Bovina en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla Univ. Nac. Tesis. Fac. Med. Vet. UNA – Puno.
22. **PARIENTES A. EDGAR. 2006.** Anticuerpos contra el virus causante de la rinotraqueitis infecciosa en vacunos de la provincia Melgar Puno. Tesis bach. Fac Med. Vet. y Zoot. Univ. Nac. del Altiplano. UNA – Puno.
23. **PIDONE, H. GALOSI, C. Y ETCHEVERRIGARAY, M. 1999.** Herpes bovino 1-5. Analecta Argentina, 19 (1/2) 40-50.
24. **PROTOCOLO DE LABORATORIO IDEXX, 2016.**
25. **RICHEY, E. 1994.** In beef cattie (Infections bovine rhinotracheitis / red noce). VM-55. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences.
26. **RIVERA, H. 1993.** El virus de la diarrea viral bovina (BVD). Rev Inv Pec Ivita (Perú). 6: 1-7.

27. **ROSADIO, R.; H. RIVERA; A. MANCHEGO. 1993.** Prevalence of neutralising antibodies to bovine herpesvirus-1 in Peruvian livestock. *Vet. Rec.* 132: 611-612.
28. **SANCHEZ T. 2003.** Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en Ganado lechera del valle de Lima. Tesis bach. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima - Peru.
29. **SASHI B DUTTA; MOHANTY, SUKANTA K. 1988.** *Virologia Veterinaria, Virus de animales.* Edicion Interamericana-Mexico, 1988.
30. **THIRY, E. SALIKI, J. BUBLLOT, M. Y PASTORET, P. 1987.** Reactivation of Infectious Bovine Rinotracheitis Virus by transport. *Comp immune Microbiol Infect Dis.* 10: 59-63.
31. **VAN OIRSCHOT, J. 1995.** Bovine Herpesviru-1 in semen of bulls and the risk of transmission: A Brief Review. *Veterinary Quartely.* 29-33.
32. **VAN OIRSCHOT, J. RIJSEWIJK, F. Y KAASHOEK, M. 1996.** Advances in the development and avaluation of bovine herpesvirus 1 vaccione. *Vet Microbial.* 43-54.
33. **VILLACAQUI A. EGLINTON, MANCHEGO S. ALBERTO, BAZAN R. VICTOR, 2006.** Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en bovinos de crianza extensiva en la zona de Cajamarca. *Rev. Investig. Vet. Peru* - vol. 17; N°2, pag. 144-147.
34. **WENTINK, G. VAN OIRSCHOT, J. Y VERHOEFF, J. 1993.** Risk of infection with bovine herpes virus 1 (bhv-1): a review. *Vet. Quart.* 15:30-33.
35. **WINKLER, M. DOSTER A. Y JONES, C. 2000.** Persistence and reactivation of bovine Herpesvirus 1 in the tonsils of latently infectes calves *Journal. Virology.* 74:5337-46.

36. **ZACARÍAS, E. BENITO, A, RIVERA H. 2002.** Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas Ayacucho. Tesis bach. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima - Perú.

ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para determinar el tamaño de muestra en vacunos de la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás Chumbivilcas.

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

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

p: Variabilidad 0.5.

q: Variabilidad 0.5.

E: Precisión o error Experimental 0.1% al 90%.

n: Tamaño de muestra.

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

$$n = \frac{1986 (1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(1986 - 1) (0.1)^2 + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = \frac{1986 (3,8416) (0.25)}{(1985) (0.01) + (3,8416) (0.25)}$$

$$n = \frac{1986 (0.9604)}{19.85 + 0.9604} = \frac{1907.3544}{20.8104} = 91.65 = 92$$

Anexo 2. Cálculos para determinar el tamaño de muestra en ovinos de la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás Chumbivilcas.

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

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

p: Variabilidad 0.5.

q: Variabilidad 0.5.

E: Precisión o error Experimental 0.1% al 90%.

n: Tamaño de muestra.

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

$$n = \frac{1998 (1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(1998 - 1) (0.1)^2 + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = \frac{1998 (3,8416) (0.25)}{(1997) (0.01) + (3.8416) (0.25)}$$

$$n = \frac{1998 (0.9604)}{19.97 + 0.9604} = \frac{1918.8792}{20.9304} = 91.679 = 92$$

Anexo 3. Registro de vacunos y resultado a la prueba de ELISA para (IBR) de la comunidad de vista alegre.

N° ORDEN	N° DE MUESTRA	NOMBRE DEL ANIMAL	EDAD	CAT	NOMBRE DEL PROPIETARIO	ANEXO	IBR	OBSERVACIONES
1	1	Pachamama	4 Años	Vaca	Camilo Huamani Sacsí	Santiago	NEGATIVO	2 Partos
2	2	María	4 Años	Vaca	Camilo Huamani Sacsí	Santiago	POSITIVO	1 Parto y preñada
3	3	Rebequita	7 meses	Ternero	Rosa Cruz Puma	Santiago	NEGATIVO	>6 M
4	4	Esela	6 Años	Vaca	Aniceto Aroni Ancasí	Santiago	POSITIVO	2 partos y preñada
5	5	Blanquita	11 Meses	Ternero	Aniceto Aroni Ancasí	Santiago	NEGATIVO	>6 M, Diarrea leve
6	6	Flaquita	3 Años y medio	Vaca	Santusa Quispe Condori	Santiago	NEGATIVO	En producción, Raquitismo
7	8	Ana Karla	6 Años	Vaca	Florencia Yallercco de Huamani	Santiago	NEGATIVO	En producción
8	9	Karola	5 Años	Vaca	Cecilio Huamani Casquina	Santiago	POSITIVO	En producción, Diarrea
9	10	Esperanza	5 Años	Vaca	Cecilio Huamani Casquina	Santiago	POSITIVO	PR, Diarrea
10	11	Diana	4 Años	Vaca	Apolinaria Aroni Ancasí	Santiago	NEGATIVO	1 Parto Diarrea, tos frecuente
11	13	Eva	11 Meses	Ternero	Florencia Yallercco de Huamani	Santiago	NEGATIVO	>6 M Decaimiento
12	14	Flaca	2.Años y medio	Vaquillona	Pablo Huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	PR
13	15	Cegarrera	6 Años	Vaca	Pablo Huamani Casquina	Santiago	POSITIVO	2 Partos
14	16	Dora	6 Años	Vaca	Salvador Ancasí Huamani	Central	POSITIVO	Con cría ,PR, Diarrea
15	17	Juliana	3 Años y medio	Vaca	Salvador Ancasí Huamani	Central	NEGATIVO	Con cría, Diarrea y PR
16	18	Sara	6 Años	Vaca	Eloy Ancasí Gonzales	Central	NEGATIVO	Reducción de leche en 2do parto
17	19	Anali	10 Meses	Ternero	Pedro Huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	>6 M, Pelos erizados.
18	20	Sandra	8 Años y medio	Vaca	Octaviano Casquina Games	Santiago	NEGATIVO	4 partos, nacen crías débiles
19	21	Reyna	3 Años	Vaca	Saturnina Llanllaya Choqqe	Santiago	NEGATIVO	PR, Partos distócicos
20	22	Karmen	3 Años	Vaca	Juvenal Casquina Gómez	Santiago	NEGATIVO	Un pezón ciego, Diarrea persistente
21	23	Yemi	11 Meses	Ternero	Juvenal Casquina Gómez	Santiago	NEGATIVO	>6 M, Neumonía
22	24	Ana mamá de Yemi	6 Años	Vaca	Alicia Ccorimanya Gonzales	Santiago	NEGATIVO	Diarrea permanente en su cría

23	25	Nilda	5 Años	Vaca	Marcos Huamani Llanllaya	Santiago	NEGATIVO	Reducción de peso y Diarrea
24	26	Olimpica	5 Años	Vaca	Marcos Huamani Llanllaya	Santiago	NEGATIVO	2 partos, PR
25	28	Juana	5 Años	Vaca	Vicente Gómez Casquina	Santiago	NEGATIVO	1 parto, PR
26	29	Charola	6 Años	Vaca	Vicente Gómez Casquina	Santiago	NEGATIVO	Su madre presento PR, Timpanismo permanente
27	30	Sonia	2 Años y medio	Vaquillona	Alejandro Huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	PR, Tullo
28	32	Marleny de manto negro	3 Años	Vaca	Agripina Llanllaya Gonzales	Santiago	NEGATIVO	En producción, Conjuntivitis
29	33	Yaureña	2 Años y medio	Vaquillona	Celso Huamani Sacsí	Santiago	NEGATIVO	PR, Raquitismo
30	34	Basilia	6 Años	Vaca	Celso Huamani Sacsí	Santiago	NEGATIVO	Mortandad de su cría por tullo
31	35	Jacinta	6 Años	Vaca	Efraín Huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	En producción
32	37	Florencia	6 Años	Vaca	Florencia Casquina Aroni	Santiago	POSITIVO	En producción
33	38	Rocío	8 Años	Vaca	Beto David Huamani Gómez	Santiago	NEGATIVO	En producción
34	39	Flor	4 Años	Vaca	Beto David Huamani Gómez	Santiago	NEGATIVO	Con cría, PR
35	40	Yane	6 Meses	Ternero	Delfina Ccorimanya Huamani	Santiago	NEGATIVO	>6 M, Tose en las noches
36	41	Negrta	4 Años y medio	Vaca	David Huamani Gómez	Santiago	NEGATIVO	En producción, PR
37	42	Candy	6 Años y medio	Vaca	David Huamani Gómez	Santiago	NEGATIVO	En producción, PR
38	43	Asly	2 Años y medio	Vaquillona	Guido Huamani Yallercco	Central	NEGATIVO	PR
39	45	Blanca	3 Años	Vaca	Guido Huamani Yallercco	Central	NEGATIVO	PR
40	46	Juanita	3 Años	Vaca	Juana Yallercco Roque	Central	NEGATIVO	En producción, PR
41	47	Blanca pequeña	5 Años	Vaca	Víctor Colque Alaude	Central	NEGATIVO	En producción, PR
42	49	Blanquita grande	5 Años	Vaca	Víctor Colque Alaude	Central	POSITIVO	En producción
43	51	Rossy blanca	5 Años	Vaca	Vidal Colque Ancasí	Central	NEGATIVO	PR
44	52	Negra Bronw swiss	5 Años	Vaca	Josefina Quintana Ccorimanya	Central	NEGATIVO	2 Partos
45	53	Mónica Negra	2 Años y medio	Vaquillona	Josefina Quintana Ccorimanya	Central	NEGATIVO	Tos frecuente
46	54	Bertha Amarillo	10 meses	Ternero	Gervasio Ancasí Huamani	Central	NEGATIVO	>6 M
47	56	Naty Barrojo	10 meses	Ternero	Gervasio Ancasí Huamani	Central	NEGATIVO	>6 M

48	57	Panty	6 Años y medio	Vaca	Simona Anccasi Anccasi	Central	NEGATIVO	En producción
49	58	Surpuy	4 Años	Vaca	Simona Anccasi Anccasi	Central	NEGATIVO	En producción, PR
50	59	Zorra	3 Años	Vaca	Celestino Anccasi Huamani	Central	NEGATIVO	Preñada
51	60	Magaly	5 Años	Vaca	Celestino Anccasi Huamani	Central	NEGATIVO	En producción, PR
52	61	Bronw Swisscha	4 Años	Vaca	Teófila Huamani Anccasi	Central	NEGATIVO	En producción
53	62	Yhoselin	6 Años	Vaca	Marcos Anccasi Roque	Central	NEGATIVO	En producción
54	63	Blanca	4 Años	Vaca	Andrés Anccasi Huamani	Central	NEGATIVO	En producción
55	64	Hija de Blanca	7 Meses	Ternero	Andrés Anccasi Huamani	Central	NEGATIVO	>6 M
56	66	Sarita	6 Años	Vaca	Clemente Llanllaya Anccasi	Central	NEGATIVO	En producción
57	67	Lola - Hija de Sarita	9 Meses	Ternero	Clemente Llanllaya Anccasi	Central	NEGATIVO	>6 M, En las noches tose
58	68	Prado	5 Años	Vaca	Fortunata Vilcas Casquina	Central	NEGATIVO	PR
59	69	Blanquita-hija de prado	11 Meses	Ternero	Fortunata Vilcas Casquina	Central	NEGATIVO	>6 M, Presenta dificultad en patas post.
60	70	Lucía	5 Años	Vaca	Lucía Anccasi Vilcas	Central	POSITIVO	En producción
61	71	Farisa	4 Años	Vaca	Pablo Huamani Aroni	Central	NEGATIVO	En producción
62	73	Yaqueline	6 Años	Vaca	Alejandro Melitón Anccasi Casquina	Central	POSITIVO	2 partos , PR
63	74	Ana	11 Meses	Ternero	Alejandro Melitón Anccasi Casquina	Central	NEGATIVO	>6 M
64	75	Blanca	4 Años y medio	Vaca	Bonifacia Anccasi Huamani	Central	NEGATIVO	2 parto aborto, PR
65	76	Yandi	11 Meses	Ternero	Bonifacia Anccasi Huamani	Central	NEGATIVO	>6 M
66	77	Shirly	4 Años	Vaca	Isidora Anccasi Casquina	Corazón	NEGATIVO	En producción
67	78	Blanca	7 Años	Vaca	Isidora Anccasi Casquina	Corazón	NEGATIVO	En producción
68	80	Rosa	5 Años	Vaca	Porfirio Huamani Zevallos	Corazón	NEGATIVO	En producción
69	81	Girasol	3 Años y medio	Vaca	Cirilo Casquina Medina	Corazón	NEGATIVO	Preñada
70	82	Margarita	5 Años	Vaca	Cecilia Checya Apaza	Corazón	NEGATIVO	Preñada, PR
71	83	Merlya	2 Años y Medio	Vaquillona	Jaime Portilla Quispe	Corazón	NEGATIVO	PR
72	84	Ana	3 Años	Vaca	Justina Quispe Anccasi	Corazón	NEGATIVO	PR

73	85	Mariluz	4 Años y medio	Vaca	Cirila Condori Huamani	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción
74	86	Line	10 meses	Ternero	Roseline Casquina Condori	Cruce Calvario	NEGATIVO	>6 M,A veces presenta Diarrea
75	87	Nely	4 Años	Vaca	Salvador Casquina Yallercco	Cruce Calvario	NEGATIVO	PR
76	88	Berbena	4 Años y medio	Vaca	Salvador Casquina Yallercco	Cruce Calvario	POSITIVO	En producción
77	89	Pequeña	2 años	Vaquillona	Roger Casquina Anccasi	Cruce Calvario	NEGATIVO	
78	90	Fricialinda	4 Años	Vaca	Roger Casquina Anccasi	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción
79	91	Tenke	3 Años	Vaca	Sabina Yallercco Gonzales	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción, PR
80	93	Yola	5 Años	Vaca	Edgar Casquina Yallercco	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción, PR
81	95	Rocío	4 Años	Vaca	Edgar Casquina Yallercco	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción, PR
82	96	Katy	2 Años	Vaquillona	Bertha Anccasi Casquina	Cruce Calvario	NEGATIVO	De cría Diarrea y Neumonía
83	97	Blanquita	4 años	Vaca	Juan Casquina Sacsí	Cruce Calvario	NEGATIVO	Preñada
84	98	Rosa Mariela	2 Años	Vaquillona	Epifanio Anccasi Casquina	Cruce Calvario	DUDOSO	
85	99	Gloria	6 Años	Vaca	Paulina Huamani Yallercco	Cruce Calvario	POSITIVO	En producción, PR
86	100	Negríta	2 Años y medio	Vaquillona	Delfina Martha Huamani Inga	Cruce Calvario	POSITIVO	Su madre murió con diarrea.
87	101	Meliza	5 Años	Vaca	Juan Anccasi Huamani	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción
88	102	Lomba	5 Años	Vaca	Dorotea Anccasi Apaza	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción
89	103	Silvia	4 Años	Vaca	Julio Anccasi Casquina	Cruce Calvario	NEGATIVO	Abortó una vez
90	104	Naty	7 Años	Vaca	Wilfredo Cayo Anccasi Huamani	Cruce Calvario	NEGATIVO	En producción
91	105	Natalya	10 Meses	Ternero	Yeni Casquina Ccorimanya	Cruce Calvario	NEGATIVO	>6 M
92	106	Blanquita	4 Años	Vaca	Benito Casquina Flores	Cruce Calvario	NEGATIVO	Preñada

Anexo 4. Registro de ovinos y resultado a la prueba de ELISA para (IBR) de la comunidad de vista alegre.

N° ORDEN	N° DE MUESTRA	EDAD	CAT	NOMBRE DEL PROPIETARIO	ANEXO	IBR	OBSERVACIONES
1	1	4 Años	Borrega	pablo huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	
2	2	4 Años	Borrega	pablo huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	
3	3	11 meses	Cria	pablo huamani Casquina	Santiago	NEGATIVO	
4	4	8 meses	Cria	Eloy anccasi Gonzales	Santiago	NEGATIVO	
5	5	6 años	Borrega	juvenal Casquina Gómez	Santiago	NEGATIVO	
6	6	3 Años	Borrega	juvenal Casquina Gómez	Santiago	NEGATIVO	
7	7	1 Años y medio	borreguilla	beto David huamani Gómez	Santiago	NEGATIVO	
8	8	6 meses	Cria	beto David huamani Gómez	Santiago	NEGATIVO	
9	9	6 meses	Cria	Cipriano huamani Ramírez	Santiago	NEGATIVO	
10	10	4 años	Borrega	Cipriano huamani Ramírez	Santiago	NEGATIVO	
11	11	7 meses	Cria	Juana Yallercco roque	central	NEGATIVO	
12	12	2 años	borreguilla	Juana Yallercco roque	central	NEGATIVO	
13	13	2 años	borreguilla	Juana Yallercco roque	central	NEGATIVO	
14	14	2 años	borreguilla	Juana Yallercco roque	Central	NEGATIVO	
15	15	2 años	borreguilla	Juana Yallercco roque	Central	NEGATIVO	
16	16	1 año y 10 meses	borreguilla	Juana Yallercco roque	Central	NEGATIVO	
17	17	2 años	borreguilla	Juana Yallercco roque	Central	NEGATIVO	>
18	18	1 año y 9 meses	borreguilla	Juana Yallercco roque	Central	NEGATIVO	
19	19	10 meses	Cria	domingo Casquina quinua	Cruce calvario	NEGATIVO	
20	20	7 Años	Borrega	domingo Casquina quinua	Cruce calvario	NEGATIVO	
21	21	2 años	borreguilla	domingo Casquina quinua	Cruce calvario	NEGATIVO	
22	22	3 Años	Borrega	Tiburcio huamani anccasi	Cruce calvario	NEGATIVO	

23	23	2 Años	borreguilla	Tiburcio huamani anccasi	Cruce calvario	NEGATIVO	
24	24	4 Años	borrega	salvador Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
25	25	4 Años	borrega	salvador Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
26	26	3 años	borrega	salvador Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
27	27	4 años	borrega	salvador Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
28	28	5 años	borrega	salvador Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
29	29	4 años	borrega	Bertha anccasi Casquina	Cruce calvario	NEGATIVO	
30	30	2 años y 4 meses	borreguilla	Bertha anccasi Casquina	Cruce calvario	NEGATIVO	
31	31	4 años	borrega	Bertha anccasi Casquina	Cruce calvario	NEGATIVO	
32	32	4 años	borrega	Edgar Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
33	33	11 meses	Cria	Edgar Casquina Yallercco	Cruce calvario	NEGATIVO	
34	34	2 años y medio	borreguilla	Hermenegilda huamani Quispe	Cruce calvario	NEGATIVO	
35	35	3 Años y 4 meses	borrega	Hermenegilda huamani Quispe	Cruce calvario	NEGATIVO	
36	36	10 meses	Cria	benedicta Casquina huamani	Cruce calvario	NEGATIVO	
37	37	3 años	borrega	benedicta Casquina huamani	Cruce calvario	NEGATIVO	
38	38	2 años	borreguilla	juan Casquina sacsi	Cruce calvario	NEGATIVO	
39	39	4 años	borrega	Epifanio anccasi Casquina	Cruce calvario	NEGATIVO	
40	40	4 años	borrega	Epifanio anccasi Casquina	Cruce calvario	NEGATIVO	
41	41	1 año y medio	borreguilla	paulina huamani Llanllaya	Cruce calvario	NEGATIVO	
42	42	4 años	borrega	paulina huamani Llanllaya	Cruce calvario	NEGATIVO	
43	43	7 meses	Cria	paulina huamani Llanllaya	Cruce calvario	NEGATIVO	
44	44	8 meses	Cria	delfina huamani inga	Cruce calvario	NEGATIVO	
45	45	3 años	borrega	delfina huamani inga	Cruce calvario	NEGATIVO	
46	46	3 años	borrega	juan anccasi huamani	Cruce calvario	NEGATIVO	
47	47	4 años	borrega	juan anccasi huamani	Cruce calvario	NEGATIVO	
48	48	6 Años	Borrega	Elsa samata huamani	Cruce calvario	NEGATIVO	

49	49	2 años	borreguilla	Elsa samata huamani	Cruce calvario	NEGATIVO	
50	50	2 años	borreguilla	rosa Condori Chauca	central	NEGATIVO	
51	51	4 años	borrega	rosa Condori Chauca	central	NEGATIVO	
52	52	4 años	borrega	Melitón Ramírez Condori	central	NEGATIVO	
53	53	1 año y medio	borreguilla	Melitón Ramírez Condori	central	NEGATIVO	
54	54	2 años	borreguilla	Nely checco Ramírez	central	NEGATIVO	
55	55	7 años	borrega	hidalgo Casquina flores	Central	NEGATIVO	
56	56	5 años	borrega	hidalgo Casquina flores	Central	NEGATIVO	
57	57	2 años	borreguilla	hidalgo Casquina Flores	Central	NEGATIVO	
58	58	4 años	borrega	julia huamani inga	Central	NEGATIVO	
59	59	4 años	borrega	julia huamani inga	Central	NEGATIVO	
60	60	5 años	borrega	julia huamani inga	Central	NEGATIVO	
61	61	4 Años	borrega	delia sacsi Salhua	Central	NEGATIVO	
62	62	4 Años	borrega	Bernabé huamani Zevallos	Central	NEGATIVO	
63	63	4 años	borrega	Bernabé huamani Zevallos	CORAZON	NEGATIVO	
64	64	5 año	Borrega	Bernabé huamani Zevallos	Central	POSITIVO	
65	65	5 años	borrega	Bernabé huamani Zevallos	Central	NEGATIVO	
66	66	6 años	borrega	wiliam huamani anccasi	Corazón	NEGATIVO	
67	67	2 Años y 2 meses	borreguilla	wiliam huamani anccasi	Corazón	NEGATIVO	
68	68	2 Años y 3 meses	borreguilla	wiliam huamani anccasi	Corazón	NEGATIVO	
69	69	2 Años	borreguilla	wiliam huamani anccasi	Corazón	NEGATIVO	
70	70	4 Años	borrega	Porfirio huamani Zevallos	Corazón	NEGATIVO	
71	71	6 Años	borrega	Porfirio huamani Zevallos	Corazón	NEGATIVO	
72	72	5 Años	borrega	Isidora anccasi Casquina	Corazón	NEGATIVO	
73	73	5 Años	borrega	Vilma Casquina huamani	Corazón	NEGATIVO	
74	74	2 años	borreguilla	Vilma Casquina huamani	Corazón	NEGATIVO	

75	75	5 Años	borrega	Cipriano anccasi Huamani	Corazón	NEGATIVO	
76	76	2 Años	borreguilla	Cipriano anccasi Huamani	Corazón	NEGATIVO	
77	77	5 años	borrega	Gabino Casquina anccasi	Corazón	NEGATIVO	
78	78	5 Años	borrega	Gabino Casquina anccasi	Corazón	NEGATIVO	
79	79	6 Años	Borrega	gabino Casquina anccasi	Corazón	NEGATIVO	
80	80	5 Años	borrega	demesio anccasi sacsi	Corazón	NEGATIVO	
81	81	1 Año y 10 meses	borreguilla	demesio anccasi sacsi	Corazón	NEGATIVO	
82	82	6 Años	borrega	demesio anccasi sacsi	Corazón	NEGATIVO	
83	83	5 años	borrega	demesio anccasi sacsi	Corazón	NEGATIVO	
84	84	5 Años	borrega	marcosa anccasi apaza	Corazón	NEGATIVO	
85	85	5 Años	borrega	marcosa anccasi apaza	Corazón	NEGATIVO	
86	86	5 Años	borrega	maura anccasi Checya	Corazón	NEGATIVO	
87	87	5 Años	borrega	nicanor Huamani Casquina	Corazón	NEGATIVO	
88	88	6 Años	Borrega	nicanor Huamani Casquina	Corazón	NEGATIVO	
89	89	5 Años	borrega	nicanor Huamani Casquina	Corazón	NEGATIVO	
90	90	5 años	borrega	rolando Huamani Casquina	Corazón	NEGATIVO	
91	91	3 años	borrega	Santiago Huamani Casquina	Corazón	NEGATIVO	
92	92	1 y ½ año	Borreguilla	Jaime portilla Quispe	Corazón	NEGATIVO	

Anexo 5. Cálculos para determinar la prevalencia de anticuerpos contra la IBR, en vacunos de la comunidad de Vista Alegre.

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

$$S = \frac{14}{92} \times 100$$

$$S = 15.22\%$$

Entonces:

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

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{15.22 \times 76.78}{92}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{0.1522 \times 0.7678}{92}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{0.11685916}{92}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{0.001270208261}$$

$$IC \pm 1.96 \times 0.03563998121$$

$$71.74 \pm 0.07\%$$

Anexo 6. Cálculos para determinar la prevalencia de Anticuerpos contra la IBR, en ovinos de la comunidad de Vista Alegre.

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

$$S = \frac{0}{92} \times 100$$

$$S = 0.00\%$$

Entonces:

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

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{00.00 \times 0}{92}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{0}{92}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{0}$$

$$IC \pm 1.96 \times 0$$

$$71.74 \pm 0.0\%$$

Anexo 7. Ficha de trabajo en campo.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROPECUARIA

REGISTRÓ DE MUESTRAS DE SANGRE.

COMUNIDAD:..... DISTRITO:.....

PROVINCIA:..... DEPARTAMENTO:.....

PROPIETARIO:.....

FECHA:.....

N°	ARETE N°	NOMBRE	EDAD	RAZA	OBSERVACION
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Anexo 8. Ficha de trabajo en laboratorio – Área de Sanidad Animal.

NOMBRE DE PRUEBA..... SECTOR.....

DISTRITO..... PROVINCIA.....DEPARTAMENTO.....

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Fecha..... Especie.....

Serie/cod.Kit.....

Propietario.....

Anexo 9. Participación en la asamblea para peticionar el permiso para la toma de sangre de los bovinos y ovinos de la comunidad de Vista Alegre.



Anexo 10. Toma de muestra en vacuno de la comunidad de Vista Alegre.



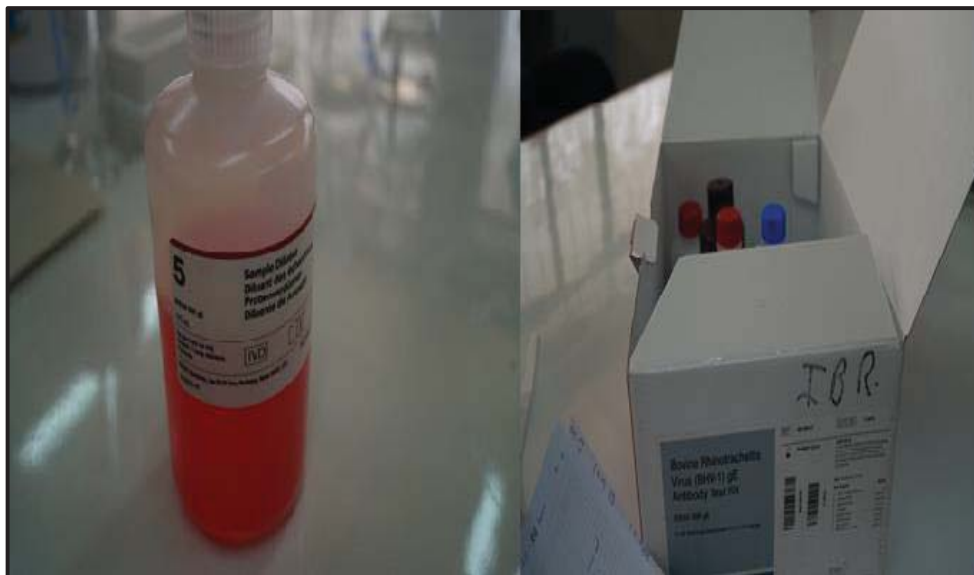
Anexo 11. Toma de muestra en ovino de la comunidad de Vista Alegre.



Anexo 12. Crioviales con suero y descongelamiento antes de ser procesados.



Anexo 13. Kit de laboratorio IDEXX para el diagnóstico de IBR.



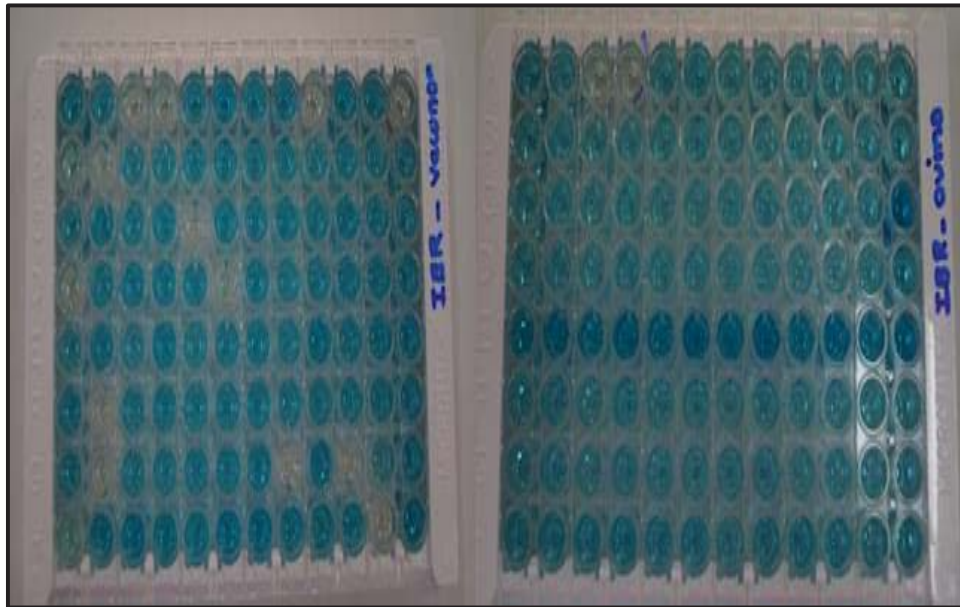
Anexo 14. Preparación de solución de lavado y conjugado.



Anexo 15. Incubación de las placas perfectamente selladas para evitar evaporación por 18 horas a 25 °C.



Anexo 16. Resultados finales en placas de ELISA de vacunos y ovinos.



Anexo 17. Resultado final en la lectura de densidad óptica, Por el método de lector de microplacas.

