

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROPECUARIA



TESIS

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) EN VACUNOS HEMBRAS DE LA RAZA BROWN SWISS DE LA COMUNIDAD CAMPESINA DE SAUSAYA DEL DISTRITO DE CHECCA DE LA PROVINCIA DE CANAS - CUSCO.

PRESENTADO POR:

Br. AYDEE ALLPACCA HUILLCA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

Asesor:

Dr. EDGAR ALBERTO VALDEZ
GUTIERREZ

CUSCO – PERÚ

2025



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor MUZ. EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ.....
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: DETECCION DE ANTIEUERPODS Y ANTIGENOS
DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) EN VACUNAS HEMBRAS DE LA
RAZA BROWN SWISS DE LA COMUNIDAD CAMPESINA DE SAUSAYA DEL
DISTRITO DE CHELLA DE LA PROVINCIA DE CANAS - CUSCO.....

Presentado por: AYDEE ALLPAEZA HUZZICA..... DNI N° 76743580.....;

presentado por: DNI N°:

Para optar el título Profesional/Grado Académico de INGENIERO AGROPECUARIO.....

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del *Reglamento para Uso del Sistema Detección de*
Similitud en la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9.....%.

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

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 07 de AGOSTO..... de 2026.....


UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABADEL CUSCO
F.C.A.
Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez
DOCENTE
Firma

Post firma EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ

Nro. de DNI 01285940

ORCID del Asesor 0000-0002-2906-7605

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 27259:608139990

TESIS AYDEEE. 2026 ULTIMO ENERO.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:608139990

150 páginas

Fecha de entrega

15 jul 2026, 7:55 p.m. GMT-5

27.683 palabras

153.410 caracteres

Fecha de descarga

15 jul 2026, 9:00 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS AYDEEE. 2026 ULTIMO ENERO.pdf

Tamaño del archivo

2.1 MB

9% Similitud general

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

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 3%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

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

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

DEDICATORIA

Esta meta de formación profesional, dedicación, perseverancia y esfuerzo diario lo dedico a Dios, por darme la oportunidad de haber participado en este proceso y culminar una de mis metas.

Todo el esfuerzo y la culminación del presente trabajo lo dedico con mucho cariño y amor, de manera especial a mis queridos padres Donato Alpacca Roque y Basilica Huillca Condo, por todo su apoyo durante toda mi vida y de manera incondicional durante todos los años, sin ellos no lograría mis metas.

A mi pareja Emerson por estar a mi lado, tu ayuda ha sido fundamental, has estado conmigo incluso en los momentos más turbulentos. Este proyecto no fue fácil, pero estuviste motivándome y ayudándome hasta donde tus alcances lo permitan.

te lo agradezco muchísimo, amor.

También a mi abuelo Mateo que desde el cielo me guía y a mi abuela Guillermina, por su apoyo moral y sus consejos para seguir adelante, de igual forma a mis hermanas Roxana y Flor Melany, porque sin todos ellos nada de esto fuera posible y a todas las personas que, de una u otra forma, contribuyeron en el logro de este objetivo.

AGRADECIMIENTO

Mi especial agradecimiento a Dios por brindarme salud y fortaleza para la realización del presente trabajo de investigación.

Mi más sincera gratitud y afecto a los docentes y funcionarios de la Escuela Profesional de Ingeniería Agropecuaria, Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por haberme acogido en su recinto a lo largo de mi formación profesional.

Mi agradecimiento especial al asesor de tesis, **MVZ. EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIÉRREZ**, quien con su capacidad de entrega y calidad humana ha sabido guiar, encaminar este trabajo de investigación, para culminar exitosamente y llegar a esta etapa.

Mi agradecimiento a la **Ing. FIORELA GUZMÁN FIGUEROA** por su apoyo incondicional en recolección de muestras en campo y procesamiento de las mismas en laboratorio. Asimismo, por sus sugerencias en redacción del presente trabajo de investigación.

Mi más profundo agradecimiento a todos los productores de vacunos de la comunidad de Sausaya que desinteresadamente nos facilitaron sus animales para la recolección de muestras y poder llevar a cabo la presente investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	iv
INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.	xiv
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN.	3
III. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	5
3.1. OBJETIVOS	5
3.1.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
3.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
3.2. JUSTIFICACIÓN	6
IV. HIPÓTESIS	8
4.1. HIPÓTESIS GENERAL Y ESPECIFICO	8
4.1.1. Hipótesis general.....	8
4.1.2. Hipótesis específico.....	8
V. MARCO TEORICO	9
5.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	9
5.2. BASES TEORICAS	15
5.2.1. Historia	15
5.2.2. Diarrea viral bovina (VDVB)	15

5.2.3.	Agente etiológico.....	16
5.2.3.1.	Taxonomía y estructura.....	16
5.2.3.2.	Genoma y proteínas virales	19
5.2.3.3.	Variabilidad	20
5.2.3.4.	Clasificación	20
5.2.3.5.	Biotipos	21
5.2.3.6.	Genotipos.....	22
5.2.4.	Replicación viral	24
5.2.5.	Epidemiología.....	25
5.2.5.1.	Hospedador.....	26
5.2.5.2.	Prevalencia	27
5.2.5.3.	Fuentes de Infección.....	27
5.2.5.4.	Formas de transmisión.....	28
5.2.6.	Patogenia y manifestaciones clínicas.....	32
5.2.6.1.	Infecciones agudas	33
5.2.6.2.	Infección persistente	38
5.2.7.	Diagnóstico.....	42
5.2.8.	Prevención y control.....	46
5.3.	BASES CONCEPTUALES	51
5.3.1.	Antígeno	51
5.3.2.	Anticuerpo	51
5.3.3.	Reacción antígeno - anticuerpo.....	53
5.3.4.	Prueba de ELISA.....	54
5.3.5.	Prevalencia.....	57
VI.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	58
6.1.	ÁMBITO DE ESTUDIO.....	58

6.1.1. Ubicación.....	58
6.1.2. Ubicación política	58
6.1.3. Ubicación geográfica de la provincia de Canas y del distrito de Checca.....	60
6.1.4. Tiempo de ejecución	60
6.1.5. Datos climáticos	60
6.2. MATERIALES DE ESTUDIO.....	61
6.2.1. Población y muestra.....	61
6.2.1.3. Equipos	63
6.2.1.4. Instrumentos	64
6.2.1.5. Reactivos	64
6.2.1.6. Materiales.....	65
6.2.1.7. Otros materiales.....	66
6.2.1.8. Indumentaria de trabajo	66
6.2.1.9. Materiales de escritorio	66
6.3. METODOLOGÍA.....	66
6.3.1. Área de investigación	66
6.3.2. Tipo De Investigación.....	67
6.3.3. Obtención de muestras sangre	67
6.3.4. Obtención de suero	68
6.3.5. METODOLOGÍA DE LABORATORIO	71
6.3.5.1. Metodología de ELISA competitivo para detectar anticuerpos frente al VDVB.....	71
6.3.5.1.1. Principios de la prueba	71
6.3.5.1.2. Reactivos del kit.....	72
6.3.5.1.3. Distribución de las muestras en la placa ELISA	72
6.3.5.1.4. Preparación de las muestras y reactivos	74
6.3.5.1.5. Procedimiento de la prueba.....	74

6.3.5.1.6.	Criterios de validación.....	75
6.3.5.1.7.	Interpretación de resultados	76
6.3.5.2.	Metodología de ELISA indirecta para detectar antígenos frente al VDVb.....	76
6.3.6.	Determinación de la prevalencia	82
6.3.7.	Determinación del intervalo de confianza.....	82
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	83
7.1.	Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), en vacunos hembras de la raza brown swiss.....	83
7.1.1.	Determinación cualitativa de la presencia de anticuerpos del VDVb en vacunos de la comunidad Sausaya	83
7.1.2.	Determinación cuantitativa de la presencia de anticuerpos contra el VDV.....	84
7.1.3.	Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la comunidad campesina de Sausaya	86
7.2.	Prevalencia de los animales persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza brown swiss....	90
7.2.1.	Determinación cualitativa de la presencia de antígenos contra el VDVb en vacunos de la comunidad Sausaya	90
7.2.2.	Determinación cuantitativa de la presencia de antígenos contra el VDVb por el lector de microplacas de ELISA	92
7.2.3.	Seroprevalencia de antígenos del VDVb de la comunidad de Sausaya.....	93
VIII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	97
8.1.	CONCLUSIONES.....	97

8.2. RECOMENDACIONES	98
IX. REFERENCIA	99
X. ANEXOS.....	112

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1.	Resumen de antecedentes sobre prevalencia de anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y persistentemente infectado (PI).....	14
Tabla 2.	Principales parámetros meteorológicos de la provincia de Canas, temperatura, precipitación y humedad.	61
Tabla 3.	Distribución de muestras de vacas hembras Brown Swiss de la comunidad de Sausaya, por sector.	63
Tabla 4.	Reactivos que se proporciona en el kit de DVB.....	72
Tabla 5.	Distribución de las muestras en la placa de ELISA para detectar anticuerpos del VDVB en vacunos de la comunidad de Sausaya.	73
Tabla 6.	Escalas de interpretación cuantitativa de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB).	76
Tabla 7.	Distribución de controles y muestras en la placa de ELISA para la detección de antígeno del VDVB.....	78
Tabla 8.	Resultado cualitativo para el VDVB de la comunidad de Sausaya - Checca.....	84
Tabla 9.	Porcentaje M/N de las muestras analizadas para determinar la presencia de anticuerpos contra el VDVB de la comunidad de Sausaya, placa I .	85
Fuente:	Elaboración propia.....	85
Tabla 10.	Porcentaje M/N de las muestras analizadas para determinar los anticuerpos contra el VDVB de la comunidad de Sausaya, placa II	85
Tabla 11.	Seroprevalencia de anticuerpos contra el VDVB en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la comunidad de Sausaya	86
Tabla 12.	Resultado cualitativo para antígenos de la Diarrea Viral Bovina (DVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la comunidad de Sausaya	91
Tabla 13.	Porcentaje P/P de las muestras analizadas para determinar los antígenos de la diarrea Viral Bovina (DVB) de la comunidad de Sausaya, placa I.....	92

Tabla 14. Porcentaje P/P de las muestras analizadas para determinar los antígenos de la diarrea Viral Bovina (DVB) de la comunidad de Sausaya, placa II.....93

Tabla 15. Prevalencia de vacas hembras de la raza Brown Swiss persistentemente infectados (PI) con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en la comunidad de Sausaya94

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1.	Morfología estructural propuesta para los pestivirus.	18
Figura 2.	Representación esquemática del virión del VDVB. El VDVB está constituida por 3 proteínas de envoltura y la proteína de la cápside viral la cual empaqueta el ARN genómico.....	19
Figura 3.	Malformación congénita debido al virus de la diarrea viral (VDVB) (Lértora W.J, 2003).	36
Figura 4.	Feto momificado de una vaca con serología positiva (Lértora W.J, 2003).....	36
Figura 5.	Diagrama de los diferentes síndromes ocasionados por la infección del VDVB (Vargas DS et al., 2009).	40
Figura 6.	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.....	56
Figura 7.	Mapa de ubicación política del distrito de Checca y la comunidad Campesina de Sausaya.	59
Figura 8.	Toma de muestras de sangre de la vena caudal.	68
Figura 9.	Separación de suero sanguíneo en una centrifuga a 1500 rpm por 10 min.....	69
Figura 10.	Almacenamiento del suero sanguíneo en crioviales de 2.5ml.	69
Figura 11.	Flujograma de trabajo para determinar anticuerpos y antígenos del VDVB en vacunos.	70
Figura 12.	Preparación de solución de lavado y conjugado.	74
Figura 13.	Placa ELISA con resultados cualitativos para anticuerpos del VDVB en la comunidad de Sausaya	83
Figura 14.	Resultados cualitativos para antígenos del VDVB en la comunidad de Sausaya.....	91
Figura 15.	Reactivos a temperatura ambiente de 18°C para la prueba de ELISA.....	114

Figura 16.	Muestras en descongelación a la temperatura ambiente de 18 °C.....	114
Figura 17.	Adición de la solución tampón de dilución n° 9 a cada pocillo.....	114
Figura 18.	Incorporación de 50 µL de control negativo, positivo y muestras a todos los pocillos.	115
Figura 19.	Incubación de las muestras cubiertas con cinta Parafilm a 26°C por 1 hora.....	115
Figura 20.	Primer lavado de los pocillos de la placa con 300 µL de solución de lavado por 5 veces.	116
Figura 21.	Adición de 100 µl del conjugado en cada pocillo.	116
Figura 22.	Incubación de la microplaca cubierta, por 30 minutos a 26°C.	117
Figura 23.	Segundo lavado de la microplaca con 300µL de solución de lavado por 5 veces.....	117
Figura 24.	Transferencia de 100 µL de substrato TMB n° 9 a cada pocillo. ..	118
Figura 25.	Transferencia de 100µL de solución de frenado n° 3 por cada pocillo para estabilizar la reacción.....	118
Figura 26.	Lectura de la placa con el lector de densidad óptica a 450 nm de longitud de onda.....	119
Figura 27.	Adición de 50 µL del tampón de dilución n° 6 a todos los pocillos.....	119
Figura 28.	Incorporación de las muestras a la placa ELISA.	120
Figura 29.	Sellado de la placa e incubación la placa durante 60 minutos a 22 °C.....	120
Figura 30.	Primer lavado de los pocillos de la placa con 300 µL por 6 veces.....	121
Figura 31.	Transferencia de 100 µL de conjugado diluido a todos los pocillos.....	121
Figura 32.	Incubación de placa por 15 minutos a 26°C.....	121
Figura 33.	Segundo lavado de los pocillos de la placa con 300 µL por 6 veces.....	122

Figura 34.	Incorporación de 100 μ L de substrato TMB e incubación a 26°C durante 15 minutos.....	122
Figura 35.	Transferencia de 100 μ L de la solución de frenado n° 12 a cada pocillo.....	123
Figura 36.	Lectura de las densidades ópticas a 450 nm de longitud de onda en el lector de microplacas ELISA.....	123

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1.	Cálculo, para tamaño de muestra, de la comunidad de Sausaya....	113
Anexo 2.	Fotografías del procesamiento de muestras para la detección de anticuerpos por el método de ELISA para detectar anticuerpos del VDVB	114
Anexo 3.	Fotografías del procesamiento de muestras para la detección de antígenos por el método ELISA para antígenos de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).....	119
Anexo 4.	Resultados del diagnóstico de anticuerpos y antígenos del VDVB en vacunos hembras de la comunidad de Sausaya	124
Anexo 5.	Cantidad de reactivos utilizados para preparar la solución de lavado.....	129
Anexo 6.	Cálculos para determinar la prevalencia de vacunos con anticuerpos del virus de la DVB en la comunidad de Sausaya	130
Anexo 7.	Cálculos para determinar la prevalencia de vacunos persistentemente infectados (PI) a DVB de la comunidad de Sausaya.....	131
Anexo 8.	Ficha de muestreo	132
Anexo 9.	Plantilla ELISA, utilizado para los ensayos	133

ACRÓNIMO.

- **Ac** : Anticuerpo.
- **ADN** : Ácido desoxirribonucleico.
- **Ag** : Antígeno.
- **BRSV** : Virus sincitial respiratorio bovina.
- **CP** : Citopático.
- **CNx** : Promedio control negativo.
- **CPx** : Promedio control positivo.
- **DVB** : Diarrea viral bovina.
- **Dom** : Densidad óptica de la muestra.
- **ELISA** : Ensayo por inmuno-absorción ligado a la enzima.
- **IF** : Inmunofluorescencia.
- **IgG** : Inmunoglobulina.
- **IMA** : Instituto de medio ambiente.
- **IP** : Inmuno peroxidasa.
- **PI** : Persistentemente infectados.
- **IRES** : Sitio de entrada de interno de ribosoma.
- **HRPO** : Peroxidasa de rábano.
- **LB** : Linfocito B.
- **LCR** : Fiebre de cerdos clásicos.
- **LT** : Linfocito T.
- **ML** : Mililitros.
- **MLV** : Vacuna a virus vivo modificado.
- **Mn** : Nanómetro.

- **msnm** : Metros sobre nivel del mar.
- **NV** : Neutralización viral.
- **NCP** : No citopático.
- **PI** : Persistentemente infectado.
- **PCR** : Reacción de la polimerasa.
- **PR** : Problemas reproductivos.
- **PSB** : Solución salina tamponada con fosfato.
- **SENAMHI** : Servicio nacional de meteorología e hidrología.
- **SENASA** : Servicio nacional de sanidad agraria.
- **TMB** : Solución Substrato Tetrametil bencidina.
- **μL** : Microlitros.
- **VDVB** : Virus de la Diarrea Viral Bovina.
- **VEF** : Virus enfermedad de la frontera.
- **VI** : Virus inactivos.
- **VPPC** : Virus peste porcina clásica.
- **INEI** : Instituto Nacional de Estadística e Informática.
- **AGA** : Agencia Agraria.
- **EF** : Enfermedad de la frontera.
- **M/N** : Muestras con porcentaje.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo: Determinar la prevalencia de anticuerpos contra el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y de los animales persistentemente infectados (PI), en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la Comunidad Campesina de Sausaya, distrito de Checca, provincia de Canas - Cusco. Se analizó un total 109 muestras de suero de vacunos hembras de la raza Brown Swiss, mayores de 6 meses, por el método de ELISA Competitivo, para la detección de anticuerpos contra el VDVB y 67 muestras de sueros seronegativos a anticuerpos de VDVB, para la detección de antígenos del virus de la DVB, por el método ELISA indirecta. Los ensayos se realizaron en el Laboratorio Institucional de Investigación de "Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco". La prevalencia de los anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina en las vacas hembras de la raza Brown Swiss en la comunidad de Sausaya fue de $38,53 \pm 0,082 \%$ (42/109). La prevalencia de los vacunos persistentemente infectados (PI) fue de $00,00 \pm 0 \%$ (0/67). Se concluye que; existe la presencia del VDVB en las vacas hembras de la raza Brown Swiss en la comunidad de Sausaya. No se encontró vacunos persistentemente infectados con el virus de la VDVB.

Palabras claves: *Diarrea viral bovina (DVB), Detección de anticuerpo, Prevalencia, Vacunos persistentemente infectados (PI).*

I. INTRODUCCIÓN.

El Perú tiene una población de 5 156 044 cabezas de ganado bovino y el 73,2 % es criado en la sierra peruana, donde los productores se dedican específicamente a la producción de carne y leche, cuya distribución abarca los departamentos de Cajamarca, Puno, Cusco, Apurímac y Ayacucho. El departamento del Cusco cuenta con una población aproximada de 407 267 cabezas de ganado vacuno, considerándose como una región ganadera (INEI, 2013).

La comunidad campesina de Sausaya es una de las zonas que tiene una considerable población de ganado vacuno con un aproximado de 1235 cabezas de vacunos (Agencia Agraria – Canas, 2020). En ese entender, la actividad pecuaria es la principal labor de las familias de la zona; siendo la producción de vacunos de leche y la elaboración de sus derivados muy importante, ya que genera ingresos económicos y sirve de sustento para cada familia.

La ganadería de vacunos en este sector está orientada a la producción de carne y leche; sin embargo, se ven afectadas por múltiples afecciones de tipo reproductivo y productivo, de las cuales los productores desconocen su etiología. Estas patologías diversas que se presentan se podrían deber a la presencia de enfermedades virales como la diarrea viral bovina. Esta enfermedad puede disminuir la producción de leche y generar problemas de orden reproductivo, digestivo, respiratorio e inmunológico (Houe, 2003).

La diarrea viral bovina es una enfermedad de distribución mundial y endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. Es responsable de ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico (Lértora, 2003).

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) potencia a otras infecciones virales y bacterianas como: Parainfluenza tipo 3, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Coronavirus, Rotavirus, Pasteurella Spp., Salmonella Spp., Coccidia, etc.; produciendo un cuadro de enfermedad respiratoria severa denominado complejo respiratorio bovino, que es uno de los problemas causantes de grandes pérdidas económicas en el mundo (Fulton et al., 2000). A demás este virus causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Por lo tanto, esta infección afectaría la función ovárica y reduciría la fertilidad de los bovinos (Lértora, 2003).

Por las razones antes indicadas, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la prevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y de los animales persistentemente infectados (PI), en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la Comunidad Campesina de Sausaya, Distrito de Checca, Provincia de Canas - Cusco. De esta manera, conocer si en la Comunidad Campesina de Sausaya está presente el VDVB, y permitir tomar las medidas adecuadas para la prevención y control de este virus.

II. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN.

A nivel de la Región Cusco se hicieron estudios, en la provincia de Espinar, donde se encontró una prevalencia del virus de la DVB, hallando un 56.2 % de las muestras positivas a anticuerpos contra el VDVB. Todos los grupos tuvieron especímenes positivos contra el VDVB (Cárdenas et al., 2011).

Además, en Chumbivilcas se encontró incidencia de la diarrea viral bovina VDVB de 61.29 % de incidencia de anticuerpos contra el VDVB en bovinos (Anco, 2016). Mientras en Canchis, Cusco, se encontró una seroprevalencia al VDVB y a la EF de 73.7% (28/38) y 76.3% (29/38) en bovinos, respectivamente (Álvarez et al., 2002). De la misma manera en el Distrito de Kunturkanki – Canas – Cusco, se reportó la seroprevalencia general de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina VDVB de 65,9 % en vacas (Chara, 2021).

Estos problemas sanitarios se han visto en la mayoría de los hatos de las poblaciones de vacunos, y hay pérdidas económicas debido a los problemas asociados a cuadros digestivos acompañados de diarreas, erosiones en cavidad oral, problemas reproductivos como infertilidad, reabsorción embrionaria, abortos permanentes, malformaciones y/o alteraciones congénitas que podrían deberse a la presencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) (Hilbe et al., 2007).

Por consiguiente, se evidencia que los productores de vacunos de la Comunidad Campesina de Sausaya realizan una crianza empírica y tradicional, asimismo, realizan el intercambio de reproductores en ferias semanales y/o transacciones comerciales de bovinos, con las provincias vecinas que tienen prevalencia positiva a la enfermedad Diarrea Viral Bovina (DVB).

Al no haber estudios previos en la detección de anticuerpos del VDVB en el Distrito de Checca, se requiere conocer la presencia de esta enfermedad (positivos al anticuerpo y PI) para tomar medidas de control por parte de la autoridad competente -SENASA. De acuerdo con lo expuesto previamente la DVB es una enfermedad que está latente en bovinos tanto hembras como machos de diferentes edades, por tal razón se quiere conocer la detección de anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y (PI) en vacunos de la Comunidad Campesina de Sausaya, Distrito de Checca, Canas -Cusco.

Para lo cual planteamos las siguientes preguntas:

¿La Comunidad Campesina de Sausaya tendrá prevalencia de anticuerpos contra el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y animales persistentemente infectados (PI), en vacunos hembras de la raza Brown Swiss?

¿La Comunidad Campesina de Sausaya, cuanto de prevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), tendrá en vacunos hembras de la raza Brown Swiss?

¿Qué porcentaje de animales persistentemente infectados con el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss, existe en la Comunidad Campesina de Sausaya?

III. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

3.1. OBJETIVOS

3.1.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de anticuerpos contra el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y de los animales persistentemente infectados (PI), en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la Comunidad Campesina de Sausaya del distrito de Checca de la Provincia de Canas - Cusco.

3.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la prevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), en vacunos hembras de la raza Brown Swiss.
- Determinar la prevalencia de los animales persistentemente infectados con el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss.

3.2. JUSTIFICACIÓN

La población de vacas en ordeño en el Perú asciende a 893 769 cabezas, según datos del Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI, 2017), evidenciando una tasa de crecimiento anual de 1.9 % durante el período 2007–2016. Las regiones que concentran la mayor proporción de esta población son Cajamarca (17.7 %), Puno (11.41 %) y Cusco (9.05 %). Asimismo, durante dicho período, las regiones que presentaron las mayores tasas promedio de crecimiento fueron Cusco (11.6 %), San Martín (9.1 %) y Tumbes (6.6 %) (MINAGRI, 2017).

Mientras la comunidad campesina de Sausaya es una de las zonas que tiene una considerable población de ganado vacuno de la raza Brown Swiss con un aproximado de 1235 cabezas de vacunos (AGA – Canas, 2020).

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es un importante patógeno de alta prevalencia en los bovinos de cualquier edad que provoca un importante impacto económico debido a las pérdidas de tipo reproductivo que se manifiestan en abortos, defectos congénitos, mortalidad neonatal y problemas de fertilidad principalmente, aunque tiene otras formas de manifestarse como gastroenteritis aguda y lesiones erosivas del tracto digestivo (Lértora, 2003). Problemas reproductivos como infertilidad, reabsorción embrionaria, aborto, malformación congénita, terneros nacidos débiles, terneros infectados por toda su vida (Olivera, 2002).

Los productores de la Comunidad Sausaya carecen de información técnica sobre causas y consecuencias que ocasionan las enfermedades infecciosas como la Diarrea Viral Bovina (DVB). Lo que nos motiva a determinar la prevalencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en la Comunidad Campesina de Sausaya.

Así mismo, en la Comunidad mencionada no se realizó trabajos de investigación en diagnóstico con respecto a la enfermedad Diarrea Viral Bovina (DVB) en vacunos; sin embargo, se tiene conocimiento de los estudios realizados en las provincias colindantes como: Espinar, Canchis, Chumbivilcas; en estudios realizados se encontró 56.2 % de las muestras positivas a anticuerpos contra el VDVB (Cárdenas et al., 2011), una seroprevalencia al VDVB de 73.7% en bovinos (Álvarez et al., 2002). una incidencia de anticuerpos contra el VDVB de 61.29 % en vacunos (Anco, 2016), respectivamente.

Por consiguiente, es muy importante hacer un diagnóstico específico en la enfermedad del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) para poder eliminar a los vacunos portadores (PI).

La investigación sobre la diarrea viral bovina (DVB) en la Comunidad Campesina de Sausaya se justifica, por lo que los beneficiarios de dicha comunidad son netamente productores de ganado vacuno lechero, por consiguiente la enfermedad VDVB afecta con problemas de infertilidad en la producción ganadera y como efecto negativo el bajo ingreso económico de las familias ganaderos, así mismo con la necesidad de tomar estrategias de prevención y control por entidades involucradas en sanidad animal como SENASA, su importancia para las familias y la contribución al conocimiento científico en el campo de la sanidad animal.

IV. HIPÓTESIS

4.1. HIPÓTESIS GENERAL Y ESPECIFICO

4.1.1. Hipótesis general

Hipótesis nula (H_0):

No se detectan anticuerpos ni antígenos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la comunidad campesina de Sausaya del distrito de Checca, provincia de Canas - Cusco.

4.1.2. Hipótesis específico

Hipótesis alterna (H_1):

Se detectan anticuerpos y/o antígenos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la comunidad campesina de Sausaya del distrito de Checca, provincia de Canas - Cusco

V. MARCO TEORICO

5.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

5.1.1. Internacionales

Roldan (2023) en el presente trabajo colectaron muestras de sueros provenientes de bovinos de dos municipios de la región de la Laguna - México, de dicha región concentra el mayor inventario de bovinos productores de leche del país. Las muestras fueron analizadas por medio de RT-PCR y de 390 muestras totales se obtuvieron 47 muestras positivas al VDVB, lo que representa un 12.05%.

Pacheco (2022) realizó en San Pedro-Cuenca- Ecuador, en 3 zonas diferentes con un muestreo al azar de 184 bovinos en las diferentes explotaciones de la zona ganadera, mediante la técnica de ELISA Competitivo. Los resultados proporcionan una prevalencia para VDVB de 31.52% (58/184), de animales positivos ;67.39% (124/184), de animales negativos y 1.09% (2/184), de animales dudosos.

González (2016) en el Cantón Saraguro, provincia de Loja – Ecuador determinó la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacas lecheras y se trabajó con 154 muestras, para la detección de anticuerpos contra el VDVB en leche. El diagnostico lo realizó mediante la prueba de ELISA indirecta. Resultando el 27,92 % del cantón Saraguro; la parroquia con el mayor porcentaje de VDVB tiene un 66,67 %; las vacas ≥ 8 años de edad presentaron un porcentaje de 35,71 %; entre 3 a 4 partos presentaron un alto porcentaje de positividad con 31,75 %; las vacas Jersey presentaron un porcentaje elevado de positividad con un 66,67 %; en sistemas de manejo el semi extensivo obtuvo el mayor porcentaje de positividad

con un 33,63 %; las granjas que contaban con normas de bioseguridad obtuvieron un porcentaje de 40 %; las vacas sometidas a Inseminación artificial fueron las que más porcentaje de positividad obtuvieron con un 40 %; en lo que refiere a signos clínicos aquellos animales que presentaron diarrea y abortos fueron positivos a presentar anticuerpos de VDVB con un porcentaje del 100 %.

Buitrago (2015) realizó un estudio de identificación de animales persistentemente infectados y seroprevalencia en 930 terneras menores de un año de 31 fincas de la Sabana de Bogotá - Colombia se diagnosticó mediante la prueba ELISA se diagnosticaron 7 animales PI (0.8%) en 31 fincas (22.6%) y una seroprevalencia de anticuerpos promedio del 27.1% (0.90%).

5.1.2. Nacionales

Mamani (2023) determinó la prevalencia de la diarrea viral bovina en animales tanto hembras y machos en el distrito de Yucay del centro poblado Yucay. Utilizó 82 muestras sanguíneas para su procesamiento e identificación de los animales positivos a Ac y Ag, diagnóstico mediante la técnica de inmunoadsorción ligado a enzimas ELISA. Reportó una prevalencia de DVB del 43,9%, en cuanto a la prevalencia de PI 0%, no se encontró ningún portador. Demostrando que no existe una asociación significativa ($p > 0.05$) del mismo sexo.

Mientras Chara (2021) en el distrito de Kunturkanki en las comunidades de Cullcutaya y Pumatahalla determinó la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en vacas. Utilizó 46 muestras de sangre de vacas para el diagnóstico mediante la prueba de inmunoadsorción ligada a enzimas

ELISA. Reportó una seroprevalencia general de 65,9 % y por comunidad encontró 77,8 %, y 57,7% para Cullcutaya y Pumathalla respectivamente. Demostrando que no existe asociación estadística significativa ($p>0.05$) entre comunidades.

Por lo tanto, Valdez et al. (2018) en el distrito de Ancahuasi, Zurite, Anta, Cachimayo y Huaroscondo determinó la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos y se colectó 1135 de bovinos hembra y 57 bovinos macho en una comunidad ganadera, la muestra se analizó mediante la prueba de ELISA indirecta. los resultados fueron de 58.6, 45.5, 63.9, 31.5 y 80%. Todos los ganaderos tuvieron un animal seropositivo, Los anticuerpos contra el VDVB fueron más prevalentes en animales mayores a tres años.

En cambio, Villafuerte (2017) en la comunidad de Vista Alegre del distrito Santo Tomás de la provincia de Chumbivilcas – Cusco, determinó la seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) y animales Persistentemente Infectados (PI) en vacunos para lo cual, colectó 92 muestras de sangre de bovinos hembra mayores a seis meses, vaquillonas y vacas en producción ($n = 92$). El diagnóstico lo realizó mediante el método de ELISA. Sus resultados indican que existe un $71,74 \pm 0,08$ % (66/92) de prevalencia de anticuerpos contra el VDVB con densidades ópticas (DO) que fluctuaron entre 0,417 a 2, 6335. De las 92 muestras de suero pertenecientes a los 54 hatos; además, dentro del grupo de animales seronegativos ($n = 26$) a la re prueba detectó mediante ELISA Indirecta cuatro animales Persistentemente Infectados (PI), siendo portadores el $15,38 \pm 0,05$ % (4/26) de prevalencia con densidades ópticas (DO) que fluctuaron entre 0,258 a 0,674.

Sin embargo, Anco (2016) en las comunidades de Sihuincha y Añahuichi del distrito de Chamaca, provincia de Chumbivilcas – Cusco, determinó la incidencia de la diarrea viral bovina en vacunos. Se colectó muestras de sangre de 186 animales clasificados por categorías, de los cuales 90 pertenecen a la comunidad de Sihuincha y 96 a la comunidad de Añahuichi. El diagnóstico lo realizó mediante el método de ELISA. Sus resultados indican la existencia del virus fue 61.29 % (114/186) de incidencia de anticuerpos contra el VDVB con densidades ópticas (DO) mediante colorimetría a la reacción del conjugado y el sustrato TMB (Tetrametil bencidina) generándose un color amarillo intenso para los negativos y el transparente para los positivos. También determinó para la comunidad de Sihuincha siendo de $64,44 \pm 5,06\%$ (58/90) y la comunidad de Añahuichi fue de $60,42 \pm 5 \%$ (58/96) de incidencia de anticuerpos contra el VDVB.

También Cárdenas et al. (2011) en tres comunidades de la Cuenca de Ccañipia, provincia de Espinar – Cusco, determinó la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en bovinos mayores a seis meses de edad, entre hembras y machos (n = 406), pertenecientes a 114 pequeños criadores. Trabajó con muestras de sangre en tres grupos, según edad (6 a 12, 13 a 23 y >24 meses de edad), el diagnóstico lo realizó mediante la prueba de neutralización viral. Resultando el $56,2 \pm 4,8\%$ (228/406) de prevalencia de anticuerpos contra el VDVB. No detectó animales portadores del virus. Animales con anticuerpos fueron encontrados en los tres grupos etarios pero el 65,4% (149/ 228) de seroreactores estuvieron en el grupo mayor de 24 meses. El 51,3% (20/39) de los toros jóvenes y adultos presentaron anticuerpos contra el VDVB. Los títulos de anticuerpos variaron entre 2 a mayor a 256. El 42,1% de animales entre 13 a >24 meses de edad tuvo títulos

entre 128 a >256. El 86.8% (99/114) de los criadores tuvieron al menos un animal seropositivo al VDVB.

Asimismo, Soto (2010) en el Centro de Investigación y Producción Carolina de la Universidad Nacional del Altiplano, determinó la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB). Ubicado a 9 Km. de la ciudad de Puno, a una altitud de 3995 m., sobre la carretera Puno – Moquegua. se tomaron 90 muestras de sangre procedente de vacunos, ovinos y alpacas considerando clase animal del rebaño mixto. El suero sanguíneo obtenido fue depositado en viales para su conservación a -20°C. El diagnóstico lo realizó en el laboratorio veterinario del sur (Lavetsur) de Arequipa mediante la prueba de ELISA. Para la detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina. Obteniendo como resultado que ninguna muestra de suero sanguíneo de las especies vacuno, ovino, y alpaca fue seropositiva al virus de la diarrea viral bovina (VDVB).

Tabla 1. *Resumen de antecedentes sobre prevalencia de anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y persistentemente infectado (PI).*

Autor Año y Lugar	N° de Animales	Mues tra	Prueba	Incidencia	Seroprevalenci a
Mamani (2023) Yucay – Cusco.	82	Suero	ELISA		El VDVB 43,9% (36/82) y PI 0.00%
Chara (2021) Cullcutaya, Pumathalla- Kunturkanki	46	Suero	ELISA		El VDVB 57.7 y 77.8 %
Valdez (2018) (Acahuasi, Zurite, Anta, Cachimayo y Huaroscondo)	1135		ELISA indirecta		El VDVB 58.6, 45.5, 63.9, 31.5 y 80%
Villafuerte (2017) Vista Alegre – Santo Tomás	92	Suero	ELISA por Competenci a (VDVB) y ELISA Indirecta (PI)		El VDVB 71.74 ± 0.08 % (92/66) y PI 15.38 ± 0.05 % (4/26)
Soto (2010)	90				0,00%
Anco (2011) Añahuichi y Sihuincha	186	Suero	ELISA Indirecta	60.42 ± 5 % (58/96) y 64.44 ± 5.06% (58/90)	
Cárdenas (2011) Ccañipia Espinar Cusco	406	Suero	Neutralizació n Viral		El 56.2 ± 4.8% (228/406)
Gonzales (2016) Loja – Ecuador	154	Suero	ELISA Indirecta		40.98 %
Roldan (2023) Mexico	390		RT-PCR		El DVB 12.5%
Pacheco (2022) Ecuador	184		ELISA Competitivo		EL DVB 31.5%
Buitrago (2015) Colombia	930		ELISA		DVB 27.1% PI 0.8%

Fuente: Elaboración propia.

5.2. BASES TEORICAS

5.2.1. Historia

Esta enfermedad está distribuida mundialmente y la infección tiende a ser endémica en las poblaciones bovinas, en la mayoría de los países alcanza niveles de 0.5 a 2% en bovinos persistentemente infectados y 60 a 80% de bovinos seropositivos (Lértora, 2003).

Esta enfermedad fue diagnosticada por primera vez en 1946, como diarrea viral bovina en los Estados Unidos de América. En este mismo año Olapson la describió como una enfermedad transmisible del ganado, caracterizada por fiebre, diarrea, anorexia y tos, la cual correspondía a la forma epidémica de la enfermedad como de la infección postnatal del VDVB en hatos susceptibles presentándose, además, diarrea intensa de corta duración, leucopenia, descenso temporal en la producción de leche y abortos (Cotrino, 2003).

5.2.2. Diarrea viral bovina (VDVB)

La Diarrea Viral Bovina (VDVB) fue descrita por primera vez como una enfermedad aguda, epizootica, caracterizada por gastroenteritis aguda lesiones erosivas del tracto digestivo y mortalidad alrededor de 4 - 8%. Su agente etiológico ha sido denominado como Pestivirus del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) (Obando et al., 2005).

Inclusive que la diarrea viral bovina es una enfermedad de distribución mundial y endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. Es responsable de ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico (Lértora, 2003).

El VDVB ocasionan pérdidas económicas debido a:

- Problemas reproductivos como infertilidad, reabsorción embrionaria, aborto, malformación congénita, terneros nacidos débiles, terneros infectados por toda su vida (Olivera, 2002).
- Altera la respuesta del animal y así lo condiciona a infecciones secundarias bacterianas, virales o parasitarias del tracto respiratorio y digestivo (Olivera, 2002).
- Ser un importante componente del complejo respiratorio bovino, problema frecuente en los centros de engorde y en los terneros de los establos (Olivera, 2002).

Este virus se considera como uno de los patógenos más importantes que afectan la salud de los bovinos, causando desde infecciones inaparentes hasta infecciones fatales (Paredes, 2023).

El genotipo I incluyen las cepas de laboratorio en las vacunas; NADL, SINGER, NY-1, C virus, TGAN Y Oslos. El genotipo II está compuesta por las nuevas cepas asociadas con una alta mortalidad, trombocitopenia y hemorragias en USA y Canadá; cepas aisladas de animales, infección persistente nacidas de vacas vacunadas y cepas aisladas de suero fetal como: NY-93, 890, AZSPLN, MS-1, SY-89 y V/FLL (Ridpath et al., 2000).

5.2.3. Agente etiológico

5.2.3.1. Taxonomía y estructura

El virus de la diarrea viral bovina VDVB pertenece al género pestivirus de la familia Flaviviridae; son virus envueltos, esféricos y miden de 40 a 60 nm de diámetro, compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella (Lértora, 2003).

La partícula viral está constituida por una molécula de ácido ribonucleico (ARN) protegido por una cubierta proteica y una envoltura externa de naturaleza lipídica. Las proteínas estructurales del virus constituyen la proteína de la cápside y tres glicoproteínas ubicadas en la envoltura lipídica. Estos son virus envueltos, esféricos y miden entre 40 a 60 nm de diámetro, se componen de una cadena simple de ARN, de polaridad positiva, compactado por una cápside proteica y rodeado por una membrana fosfolípidos; y nucleocápside no helicoidal de simetría icosaédrica (Ridpath et al., 2003).

Los pestivirus han sido clasificados de la familia Togaviridae a la familia Flaviviridae por la quinta reunión del comité Internacional de taxonomía viral. Dentro de este género se encuentra el virus de enfermedad de las fronteras de bovinos y la peste porcina clásica (PPC) los cuales son antigénica y genéticamente relacionados (Lértora, et al., 2003).

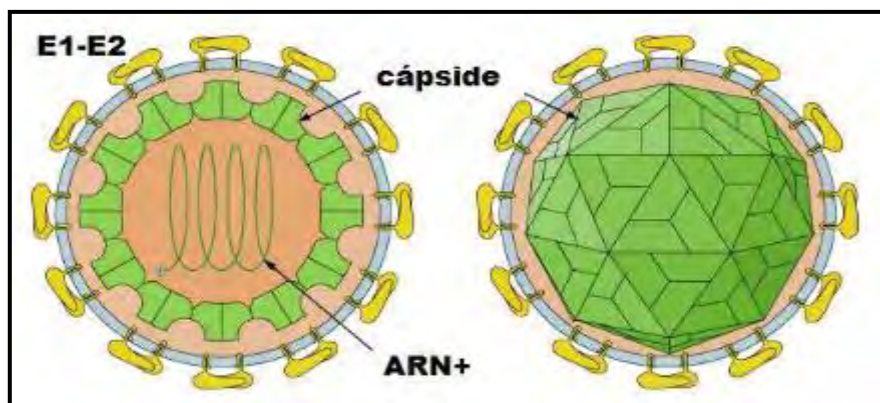
Los pestivirus pueden cruzar la barrera placentaria de hospederos diferentes, invadir el feto y generar una infección persistente que continúa durante la vida postnatal, clínicamente inaparente, excretando el virus e infectando a otras especies (Álvarez et al, 2002).

La DVB es causada por el virus del mismo nombre (VDVB), de ARN pequeño, monocatenario, con revestimiento y de carga positiva (9), el cual hace parte del género Pestivirus dentro de la familia Flaviviridae. La DVB presenta una elevada similitud con otras pestes virus como lo son el virus del cólera porcino o la peste porcina clásica (vPPC) y el virus de la frontera de la oveja. El VDVB oscila de tamaño entre los 40 y 60 nanómetros de diámetro; su envoltura esférica está rodeada de una nucleocápside (estructura que rodea y protege el material genético viral) entre 25-37 nm de grosor, dentro de su núcleo se encuentra el RNA formado

por una cadena simple de carga positiva de 2.9 a 4.4 x Da de volumen y 12.5 kb de largo. Su cadena de RNA se integra a un ORF o marco abierto de lectura flanqueando en los lados de 3' y 5' por zonas no traducidas mostrando el lado 5' UTR, considerada como la porción más preservada en los pestivirus. Debido a la composición y formación el VDVB se dice que tiene un tropismo por las células linfoides como fagocitos mononucleares a células epiteliales (Laura et al., 2019). El genoma posee proteínas estructurales y no estructurales; las proteínas estructurales son: gp48 (EO), gp25 (EI), gp53 (E2) (Reinhardt, et al, 2002).

El VDVB es una partícula esférica de 40 – 60 nm de diámetro, constituido por una nucleocápside icosaédrica entre 25 – 37 nm de diámetro, protegida por una cápside proteica rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella E^{MS} , E1 y E2. (Ridpath et al., 2005).

Figura 1. Morfología estructural propuesta para los pestivirus.



Fuente. (Viral Zone, 2008).

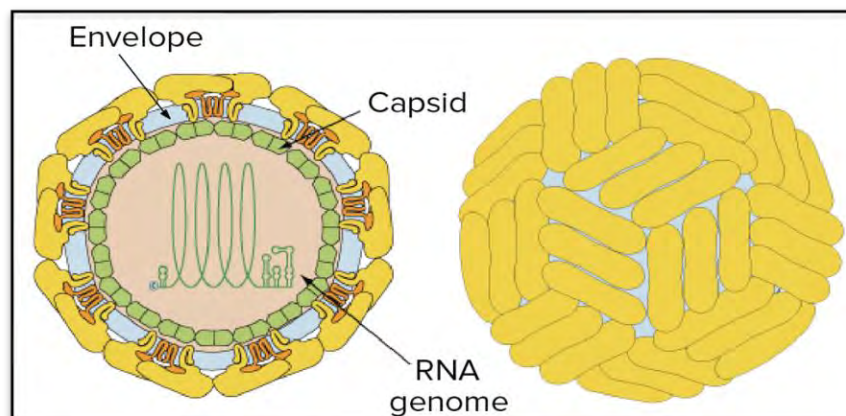
5.2.3.2. Genoma y proteínas virales

Los Pestivirus tienen una cadena simple positiva de ARN (ss (+) ARN). La cápside tiene una estructura icosaédrica, que consiste en una sola proteína de cápside, en la parte C. La cual está limitada por una envoltura, codificada por 3 proteínas de membrana (Erns, E1 y E2), y en la parte B. VDVB tiene un diámetro de 40-60 nm y se cataloga entre los virus de menor tamaño. (Pedrera et al., 2008).

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB), morfológicamente corresponde a una partícula esférica de 30 a 60 nm de diámetro. Es un virus envuelto con una cadena simple de ARN, compactado por una cápside proteica y rodeado por una membrana fosfolipídica, el genoma posee proteínas estructurales y no estructurales; las proteínas estructurales son: gp48 (EO), gp25 (EI), gp53 (E2) (Reinhardt, et al., 2002).

La poliproteína es procesada co- y post-traduccionamente por proteasas celulares y virales generando 11-12 proteínas maduras (Lindenbach et al., 2001).

Figura 2. Representación esquemática del virión del VDVB. El VDVB está constituida por 3 proteínas de envoltura y la proteína de la cápside viral la cual empaqueta el ARN genómico.



Fuente: (Viral Zone, 2016). Swiss institute of Bioinformatics.

5.2.3.3. Variabilidad

La principal característica del VDVB es su variabilidad genética y antigénica, debido a modificaciones genómicas que involucran mutaciones puntuales o recombinaciones del ARN (homólogos y no homólogos) (Ridpath et al., 2007).

Las mutaciones puntuales son de ocurrencia regular, causando sustituciones de bases de alta frecuencia (1 error por cada 10,000 nucleótidos del ARN viral), debido a una falla de la ARN polimerasa, responsable de la replicación del ARN viral. La habilidad de generar mutantes constantemente permite al virus adaptarse rápidamente a la respuesta del hospedero, estableciéndose en algunos casos, infecciones persistentes o crónicas (Bolin et al., 2004). Esta habilidad para mutar rápidamente permite al virus estar mejor adaptado para la replicación en el hospedero y escapar de la respuesta inmunitaria (Becher et al., 2000).

5.2.3.4. Clasificación

La clasificación del VDVB es difícil y compleja, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género Pestivirus (virus de la peste porcina clásica y virus de la enfermedad de la frontera del ovino). Los hospedadores en que eran aislados los Pestivirus fueron las bases iniciales para su subdivisión. Así, los Pestivirus que eran aislados del cerdo, ovinos y bovino se los clasificaba como virus de la peste porcina clásica, virus de la enfermedad de la frontera y VDVB, respectivamente. Sin embargo, este criterio de clasificación es poco fiable debido a que los Pestivirus cruzan fácilmente la barrera de la especie (Bolin et al., 2004).

5.2.3.5. Biotipos

Existen dos biotipos del VDVB según su efecto en los cultivos celulares in vitro. Estos son el biotipo citopatogénico (CP) y no citopatogénico (NCP), es el que predomina en el hato bovino (Saliki, 2004).

En hembras gestantes causan abortos o una infección fetal este biotipo NCP tiene la facilidad de atravesar las membranas de la placenta generando una muerte embrionaria, muerte del animal al nacer en algunos casos el feto se desarrolló con una infección persistente que se convierte en un transmisor del virus perjudicial para los vacunos (OIE, 2018).

No citopático

El biotipo NCP es la forma original del virus, no ocasiona cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Sin embargo, esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar infección persistente (Lértora, 2003).

El VDVB - NCP sirve como virus matriz desde el cual se producirá el VDVB - CP luego de recombinaciones homólogas o heterólogas en el ARN viral no citopático (Bolin et al., 2004). Este biotipo es considerado el más importante porque al infectar vacas gestantes durante el primer tercio de la gestación, cuando el sistema inmune del feto es inmaduro, puede dar lugar al nacimiento de animales inmunotolerantes al virus y con infección persistente (PI); estos animales PI emiten grandes cantidades de VDVB durante toda su vida y sirven como una fuente efectiva de transmisión viral a otros bovinos tanto como a otras especies (Gripshover et al., 2007).

Citopático

El biotipo CP ocasiona vacuolización y muerte celular en los cultivos celulares. El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad mucosa y se originan por mutación a partir del biotipo NCP; ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral. El VDVB - CP infecta de manera predominante células epiteliales (Rondón, 2006).

Según su estructura, se dividen en dos biotipos: citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los primeros, originan formación de vacuolas en el citoplasma por medio de la apoptosis y muerte celular, caracterizándose por la separación de las proteínas NS2 y NS3. Por otra parte, los virus NCP no producen lesiones o efecto alguno en el monocapa celular, en donde se infecta y multiplica adecuadamente; pero, esto no quiere decir que no sean patogénicos. Este biotipo es el más usual en el medio y se representa con la proteasa NS2-3 como proteína fusionada (Martínez et al., 2008).

5.2.3.6. Genotipos

Se clasifica en dos tipos, genotipo I y genotipo II, se presenta mayormente visible en vacas preñadas que provoca en pocas ocasiones abortos y heredándola enfermedad a la cría y procreando un animal persistentemente infectado (PI) (Baule et al, 2001).

La genotipificación, es el método aceptado para clasificar a los pestivirus. Bajo este sistema de clasificación el vDVB, se agrupa en 2 genotipos: Genotipo 1 y Genotipo 2 del virus de la diarrea viral bovina (Ridpath, 2003).

Genotipo 1

El vDVB –1 actualmente puede ser dividido en 13 subgenotipos. De todos éstos, los más comúnmente aislados son los vDVB – 1b, siendo más prevalente en EE UU el subtipo vDVB – 1b. El vDVB -1 ha sido reconocido por muchos años y ampliamente distribuido en el mundo (Fulton et al., 2003). Y ha sido identificado de cepas usadas para pruebas de diagnósticos, investigación y elaboración de vacunas, el vDVB -1a incluye a las cepas NY-1, Oslos y C-60F (Tajima et al., 2005).

Se han propuesto varias diferencias biológicas en determinantes antigénicos entre los subgenotipos del vDVB-1, incluyendo títulos comparativos de neutralización viral y la respuesta selectiva en animales PI para virus extraños al subgenotipo de su virus persistente, pero no para virus dentro de su mismo subgenotipo (Fulton et al., 2003).

Genotipo 2

El vDVB-2 puede ser dividido en 2 subgenotipos (vDVB-2a y vDVB-2b) (Ridpath, 2003). Este genotipo ha sido aislado de cepas virales procedentes de animales PI y una enfermedad aguda hemorrágica fatal en EE UU y Canadá conocida como Síndrome Hemorrágico. El vDVB -2 fue primero identificado en los noventa (1990) en Norteamérica y ha sido esporádicamente detectada en otros países tales como Japón, Alemania y Bélgica. Y en América Latina, en Brasil, Argentina y Chile (Flores et al., 2000). Las cepas de referencia del vDVB -2a son la 890, CD87 y NVSL125 (Tajima et al., 2005). De los dos subgenotipos del vDVB -2 presentes, se ha evidenciado que en los EE UU los aislados del vDVB-2a predominan sobre los del vDVB-2b, estos últimos considerados un evento raro (Ridpath, 2003).

5.2.4. Replicación viral

El vDVB después de entrar en contacto con membranas mucosas de la boca o nariz, empezará la replicación en las células epiteliales con una predicción por las tonsilas palatinas, especialmente las células epiteliales de la cripta. El vDVB presenta tropismo por células mitóticamente activas como: linfocitos, fagocitos, mononucleares y células epiteliales (Rondón, 2006).

La replicación del ARN pestiviral ocurre en el citoplasma de las células infectadas (Becher et al., 2000). El genoma del pestivirus consiste en una simple cadena de ARN de polaridad positiva, la cual sirve como plantilla para la traducción y replicación (Li et al., 2001). La replicación comienza con la adhesión a la membrana plasmática y la penetración en la célula, parece ser que el receptor específico es una proteína de envoltura E2 (Iqbal et al., 2000); sin embargo, según (Maurer et al., 2004) sugieren a la CD46 (cofactor proteico de membrana) como posible receptor del vDVB. Seguidamente, ocurre la fusión de la envoltura con la membrana endosomal (dependiente de pH), y el virus ingresa al citoplasma mediante endocitosis mediada por receptor y libera su genoma en el citosol (Johnson et al., 2001).

Posteriormente, el ARN genómico es traducido por el reclutamiento de los factores de iniciación de la traducción mediados por el sitio de entrada interno al ribosoma (IRES), el cual está presente en la región 5'UTR, promoviendo la iniciación de la traducción de la poliproteína viral. Entonces, nuevas proteínas no estructurales sintetizadas arman complejos funcionales de replicasa y llevan a cabo el primer paso de la replicación del genoma, la síntesis de ARN de cadena negativa (anti-genoma). Luego, la replicasa deberá completar la síntesis de la progenie de

ARN de cadena positiva usando el ARN anti genómico como plantilla (Johnson et al., 2001).

Después, la producción de glicoproteínas de la envoltura requiere de la participación del retículo endoplasmático, implicando en el proceso un mecanismo de señalización celular. Luego de la traducción del ORF en una poliproteína viral, las proteasas virales y celulares cortan el polipéptido nascente en sitios específicos para generar proteínas virales intermedias y/o maduras (Leyssen et al., 2000).

Por último, luego de la replicación, el genoma viral es encapsidado por la proteína C/p14 y dirigido al retículo endoplasmático o al aparato de Golgi, donde el virus inmaduro, rodeado por una envoltura lipídica conteniendo proteínas, surge hacia el lumen (Leyssen et al., 2000). La maduración del virus incluye la estabilización conformacional por el plegamiento de las glicoproteínas E1-E2 (glicosilación), los viriones intactos son liberados por germinación en la cisterna del retículo endoplasmático (Goyal et al., 2005). Finalmente, los virus maduros son liberados en el espacio extracelular mediante exocitosis (Leyssen et al., 2000).

5.2.5. Epidemiología

La especie bovina se muestra como el principal reservorio y fuente de infección del VDVB, tanto para esta especie como para animales de la especie ovina, caprina y porcina. Se ha demostrado que las ovejas también pueden ser transmisoras del VDVB por contacto estrecho con otras ovejas o con bovinos, existiendo otras especies de rumiantes exóticos como camellos, llamas o alpacas las cuales, pese al aislamiento del virus, no parecen jugar un papel importante en la diseminación de este (Pedrera et al., 2007).

Existen cinco fases en el ciclo de infección, debido a la distribución de los anticuerpos en los diferentes hatos con animales PI y sin animales PI (Corrales et al., 2001):

- a) Solo un mínimo porcentaje del ganado será positivo a la enfermedad cuando una parte del ganado presenta una infección aguda sin animales PI.
- b) Porción de ganado contagiados con animales PI que tengan menos de tres a cuatro meses de edad, la gran parte de los vacunos se encuentran con una infección aguda, a una velocidad inconstante necesitando de la producción de carne, leche.
- c) El noventa por ciento del hato es positivo a la enfermedad cuando una porción del ganado que tengan más de tres a cuatro meses de edad es infectada con animales PI.
- d) Porción de ganado anticipadamente infectados, en el cual los bovinos PI fueron reubicados últimamente, los bovinos jóvenes mientras vayan perdiendo las defensas calostrales serán negativos frente a la enfermedad, entre las edades de seis a ocho meses, por otro lado, los bovinos mayores continúan siendo positivos.
- e) Porción de ganado anticipadamente contagiados, cuando los bovinos PI fueron reubicados hace mucho tiempo, todos los bovinos jóvenes serán negativos (con excepción de algunos becerros con defensas calostrales). Progresivamente el ganado será negativo (Corrales et al., 2001).

5.2.5.1. Hospedador

Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. Los Pestivirus infectan a rumiantes como: bovinos, ovinos, caprinos,

alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres. Y a la vez porcinos siendo su huésped preferido los bovinos (Valera, 2007).

5.2.5.2. Prevalencia

En algunos países de Sudamérica como Brasil, Argentina, Colombia y Chile se reportan prevalencias con variaciones entre regiones, pero con tasas superiores al 70% (Rivera, 2008).

El vDVB fue introducida al Perú en la década del 60 con la importación de vaquillas de un país donde la enfermedad era endémica (Rivera, 2008). En el Perú, estudios realizados por investigadores de la FMV-UNMSM ha determinado una amplia distribución del VDVB en las cuencas lecheras, con prevalencias superiores al 70% (Contreras, 2000) (Rivera., 2003). Reportaron una prevalencia del 72.4% en el Valle del Mantaro, mientras que (Jayashi, 2005) encontraron 80.2% en un establo de crianza intensiva de la provincia de Arequipa. Otros estudios encontraron 73.7% en la Provincia de Canchis, Cusco (Álvarez, 2001) y 85.3% en Parinacochas, Ayacucho (Rivera et al., 2001), asimismo, estudios realizados en poblaciones bovinas se mostraron una prevalencia de $98.1 \pm 1.9\%$ en la irrigación de Majes, (Arequipa) (Huamán et al., 2007). Finalmente, en las provincias de Calca (Cusco) y Melgar (Puno) se determinaron prevalencias de $90.9 \pm 6.9\%$ y $47.8 \pm 0.05\%$, respectivamente (Cabello et al., 2006).

5.2.5.3. Fuentes de Infección

Existen varias fuentes de infección, pero la principal es a través de los animales PI (Rufenacht et al., 2001).

La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos PI. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes

cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos (Lértora, 2003).

Se ha demostrado que las ovejas también pueden ser transmisoras del VDVB por contacto estrecho con otras ovejas o con bovinos, existiendo otras especies de rumiantes exóticos como camellos, llamas o alpacas las cuales, pese al aislamiento del virus, no parecen jugar un papel importante en la diseminación de este (Pedrera et al., 2007).

5.2.5.4. Formas de transmisión

La transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto.

Transmisión vertical

- La transmisión vertical es de una vaca PI a su descendencia. La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes de 125 días de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen, además hembras PI siempre dan terneros PI (Lértora, 2003).
- De otro lado, también la transferencia de embriones puede ocasionar una transmisión vertical, ya que, si la hembra donante es PI, y no existe un

adecuado lavado de los embriones, puede transmitir la infección a la receptora, y esta última transmitirla al embrión trasplantado (Houe, 2003).

Transmisión Horizontal

- Se puede darse de manera directa o indirecta, el contacto nariz-nariz entre un animal PI y un animal susceptible es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales (Lertora, 2003). Además, los animales con infección aguda también pueden esparcir la infección durante una breve viremia (7 - 10 días), pero su rol en el mantenimiento de la infección en el hato parece ser menos importante (Mainar et al., 2001).
- EL semen contaminado de toros infectados o toros PI pueden transmitir esta enfermedad a vacas inseminadas artificialmente, también es posible que el semen de toros que presenten infecciones testiculares persistentes pueda infectar a la vaca, adicionalmente, fluidos, gametos y otras células derivadas de algún animal enfermo representa grandes fuentes de contaminación cuando estos “materiales de origen animal” son usadas en la producción y transferencia de embriones (Gard et al., 2007).
- La forma indirecta es a través de instrumentos de uso veterinario como el uso de agujas hipodérmicas, prácticas de manejo como la palpación rectal (guantes) y la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está determinada, ya que es un virus que se inactiva fácilmente el VDVB es rápidamente inactivo por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergentes, solventes orgánicos y pH de 5.7 a 9.3 (Lértora, 2003).

- El semen fresco o crio preservado de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal (Houe, 2003). Los toros PI diseminan el virus en altas concentraciones por el semen durante toda su vida. En cambio, los toros con infección transitoria pueden transmitir el virus a través del semen, pero no son considerados de gran importancia como transmisores de la infección dado que el virus se encuentra en bajas concentraciones y durante un breve periodo (Morán et al., 2006).
- Los embriones producidos in vitro son fuente potencial de introducción del VDVB. La zona pelúcida de embriones in vitro presenta alteraciones estructurales y bioquímicas permitiendo al virus penetrar hasta aproximadamente 50% de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus, sin embargo, no se ha determinado si la cantidad de virus asociado a estos embriones podría constituir una dosis infectiva para recipientes susceptibles vía intrauterina (Reinhardt et al., 2000).

Transmisión entre Rebaños

Una de las principales formas de transmitir el VDVB a un ganado bovino sensible es mediante la obtención de vacunos PI. Además, otros medios de inserción son: el semen contaminado, la utilización de vacunas vivas, transferencia embrionaria, cohabitación y roce con vacunos que presentan infección aguda (Rivera, 2008).

Transmisión dentro del Rebaño

La tasa de transmisión dentro del hato depende de la forma de introducción del virus al mismo. Cuando un animal PI es introducido a un hato, la transmisión a

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

Animales Persistentemente Infectados del VDVB

“El ternero PI nace cuando la madre se infecta con el biotipo NCP entre los 18 y 125 días de preñez, en este periodo el virus será reconocido como propio por el cuerpo del feto ocasionando inmunotolerancia y persistencia” (Grooms, 2004). Las infecciones persistentes son provocadas por el contagio del feto con virus NCP durante el primer trimestre de gestación. Durante el desarrollo fetal el VDVB inhibe la inducción del interferón tipo I, permitiendo al virus sobrevivir en el hospedero. Estos animales son seronegativos al VDVB, no eliminan al virus del cuerpo y albergan grandes cantidades de virus en sus excreciones y secreciones como leche, semen, saliva, secreciones nasales, orina sangre, por lo tanto, estos individuos son el mayor reservorio del virus y una de las fuentes de mayor importancia de infección entre las poblaciones de ganado (Lanyon et al., 2013).

La infección persistente debe ser considerada en todo ternero pequeño al nacimiento, con escaso desarrollo, baja ganancia de peso y con cuadros recurrentes de enfermedad respiratoria y digestiva. Otros son clínicamente normales, siendo indispensable el diagnóstico de laboratorio para determinar si son animales PI (Goyal et al., 2005).

El ternero PI es portador del virus mientras vive y es incapaz de montar una adecuada respuesta inmune contra el virus presente en su organismo, estos animales son los reservorios y los principales diseminadores del virus en el hato y pueden desarrollar la enfermedad de las mucosas de curso fatal (Rivera et al., 2004).

Por esta razón en los bovinos PI, la vida útil es significativamente corta y generalmente los terneros mueren durante los primeros meses de vida y tan solo el 20% de estos animales logran sobrevivir hasta los dos años. Cuando estos bovinos logran sobrevivir hasta la etapa reproductiva, transmiten el virus a su progenie, de esta forma los machos enfermos transmiten el virus a través del semen y las hembras PI gestantes generan el nacimiento de terneros PI (Paredes, 2022).

5.2.6. Patogenia y manifestaciones clínicas

El VDVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad, y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes (Lértora, 2003). Los síntomas involucran a los sistemas respiratorio y gastrointestinal, además del reproductivo, inmunitario y sistema nervioso central, siendo estos últimos los más importantes; todo esto conlleva a cuadros que van desde una infección subclínica a otra altamente fatal con mortalidad en animales adultos mayores al 50% (Ridpath, 2003), notándose en los siguientes:

5.2.6.1. Infecciones agudas

Cuando la enfermedad de la DVB fue caracterizada como una infección viral transmisible marcada por severa leucopenia, alta fiebre, depresión, diarrea, erosiones gastrointestinales y hemorragias (Ridpath et al., 2006).

La forma aguda se presenta en animales seronegativos, en especial animales entre 6 y 24 meses de edad y es causada en su mayoría por el VDVB-NCP. Puede afectar al sistema respiratorio y digestivo, resultado de la difusión activa del virus (Rondón, 2006). Las infecciones primarias o agudas del VDVB en el ganado juega un rol muy importante como un agente inmunosupresor o como un potenciador para otras enfermedades (Campbell, 2004).

Las principales manifestaciones de las infecciones clínicas agudas por el VDVB son:

Infecciones subclínicas

La gran mayoría de las infecciones causadas por este virus son subclínicas o moderadas, esporádicamente el cuadro clínico cursa con fiebre, leucopenia transitoria, descarga óculo nasal, elevada morbilidad y baja mortalidad. En estas infecciones, hay aparición de anticuerpos neutralizantes en un periodo de 14 a 28 días post infección, ocurriendo la respuesta inmune contra reinfecciones por cepas homologas del virus (Lertora et al., 2003).

Complejo diarrea neonatal bovina

El ternero puede infectarse en la etapa perinatal, es decir en el último tercio de la gestación o después de nacer, desarrollando luego una severa enteritis a veces fatal. Los anticuerpos que el ternero recibe de la madre a través del calostro y leche se agotan entre los 105 a 230 días de edad (Rivera, 1993).

Mientras los efectos inmunosupresivos de la infección aguda por el VDVB son responsables de la potenciación de una variedad de enteropatógenos en el ganado como Salmonella sp, Rotavirus, Coronavirus y Echerichia coli (Campbell, 2004), que resultan en manifestaciones clínicas más severas (Lértora, 2003).

Infecciones respiratorias

La enfermedad respiratoria bovina es reportada como la más importante enfermedad del ganado de carne (Campbell, 2004). El VDVB origina una inmunosupresión sistemática y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios. Además, se ha demostrado que ciertos VDVB actúan como agentes primarios de neumonías (Lértora, 2003).

El VDVB es el virus más frecuentemente hallado en brotes de enfermedades respiratorias agudas en bovinos y generalmente es hallado asociado a Mannheimia (Pasteurella) Haemolytica, virus del herpes Bovino 1 (IBR), Micoplasma bovis (Campbell, 2004), Parainfluenza tipo 3 (Fulton, 2000), y el virus sincitial respiratorio bovino (BRSV) (Bolin et al., 2004).

Infecciones del tracto reproductivo

La Diarrea Viral Bovina (DVB) puede ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico (Lértora, 2003). Problemas reproductivos como infertilidad, reabsorción embrionaria, aborto, malformación congénita, terneros nacidos débiles, terneros infectados por toda su vida (Olivera, 2002). Este virus causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Por lo que esta infección afectaría la función ovárica y reduciría la fertilidad de los bovinos (Lértora, 2003).

El impacto del VDVB durante la preñez se divide en cuatro periodos, en base a las manifestaciones clínicas de la infección considerando los siguientes intervalos de tiempo.

- Etapa embrionaria (0 - 45 días): Las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento de la monta ocasiona muerte embrionaria y repeticiones de servicio hasta que desarrollen respuesta inmune. El virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de embriones hasta el día 8 – 9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles (Grooms, 2004).
- Día 45 a 125 de gestación: Este periodo comienza al finalizar la etapa embrionaria y culmina cuando el feto adquiere competencia inmunológica al VDVB. Durante este periodo también se produce muerte fetal con momificación o aborto meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis (Lértora, 2003).
- Además del Día 125 a 175 de gestación: Este periodo representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, por lo que se produce un alto porcentaje de alteraciones del desarrollo (Lértora, 2003). También se pueden producir abortos, pero estos son más comunes en etapas tempranas de la gestación. Se pueden observar distintos tipos y grados de anomalías congénitas tales como hipoplasia cerebelar, microcefalia, hipomielogénesis, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia del timo, cataratas, microftalmia, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis, retraso general del crecimiento y deformidades esqueléticas (Grooms, 2004).

- En esta etapa el feto se encuentra en un periodo de crecimiento general y es inmunológicamente competente. Las infecciones en este periodo resultan en el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles; mientras que los abortos son ocasionales (Lértora, 2003).

Figura 3. *Malformación congénita debido al virus de la diarrea viral (VDVB) (Lértora W.J, 2003).*



Figura 4. *Feto momificado de una vaca con serología positiva (Lértora W.J, 2003).*



Inmunosupresión

El VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos co-infectantes. Tiene una fuerte afinidad por el tejido linforetico, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos. En el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. Estas células elaboran citoquinas esenciales para el normal desarrollo y maduración de linfocitos, lo que sugiere que la necrosis linfoide es secundaria al trastorno del microambiente que proveen las células intersticiales y no a la acción directa del virus sobre los linfocitos (Lértora, 2003).

Síndrome hemorrágico o infección aguda severa

Los casos de infección aguda severa por VDVB han sido reportados con una alta frecuencia en Norteamérica a principios de la década de los noventa. El síndrome hemorrágico ha sido asociado con infecciones por el genotipo 2 del VDVB - NCP (Ridpath et al., 2006).

Los signos clínicos incluyen alta fiebre, diarreas sanguinolentas (Ridpath et al., 2006).

Depresión, anorexia, pirexia, disminución de la producción láctea y ulceraciones; llegando a una morbilidad del 40% y mortalidad a más del 10% (Ridpath, 2000).

También, una trombocitopenia ha sido descrita por varios autores en una infección aguda por VDVB (Campbell, 2004), debido a la infección de la médula ósea por el VDVB (Goyal et al., 2005).

5.2.6.2. Infección persistente

La infección fetal con VDVB puede resultar en el nacimiento de ganado inmunotolerante a DVB con una infección persistente inaparente. Los animales PI resultan por la infección fetal con VDVB - NCP durante el primer trimestre de gestación dado que el sistema inmune fetal infectado con vDVB - NCP antes del día 125 de preñez, no reconoce el VDVB como agente infeccioso o foráneo (Rondón, 2006).

Las proteínas virales son reconocidas como antígenos propios con una resultante selección negativa de VDVB específica de linfocitos B y T durante su ontogenia (Grooms, 2004).

La amplia distribución del VDVB en tejidos de animales PI podría ser la explicación del porque algunos animales eliminan grandes cantidades de virus por las secreciones oro-nasales, lágrimas, orina, leche, semen y probablemente piel (Chacón et al., 2003).

5.2.6.3. Enfermedades de las mucosas (EM)

La EM requiere una infección persistente congénita con virus biotipo NCP y una subsecuente superinfección con virus biotipo CP (Sentsui et al., 2001). En bovinos la EM se genera cuando animales PI con una cepa NCP son superinfectados con una cepa CP de origen exógeno o generado de cambios genéticos o recombinación del ARN de las cepas del ARN de las cepas NCP resistentes, principalmente por inserción de secuencias celulares o re-arreglos genómicos, esto suele ocurrir entre los 6 a 24 meses de edad (Rondón, 2006).

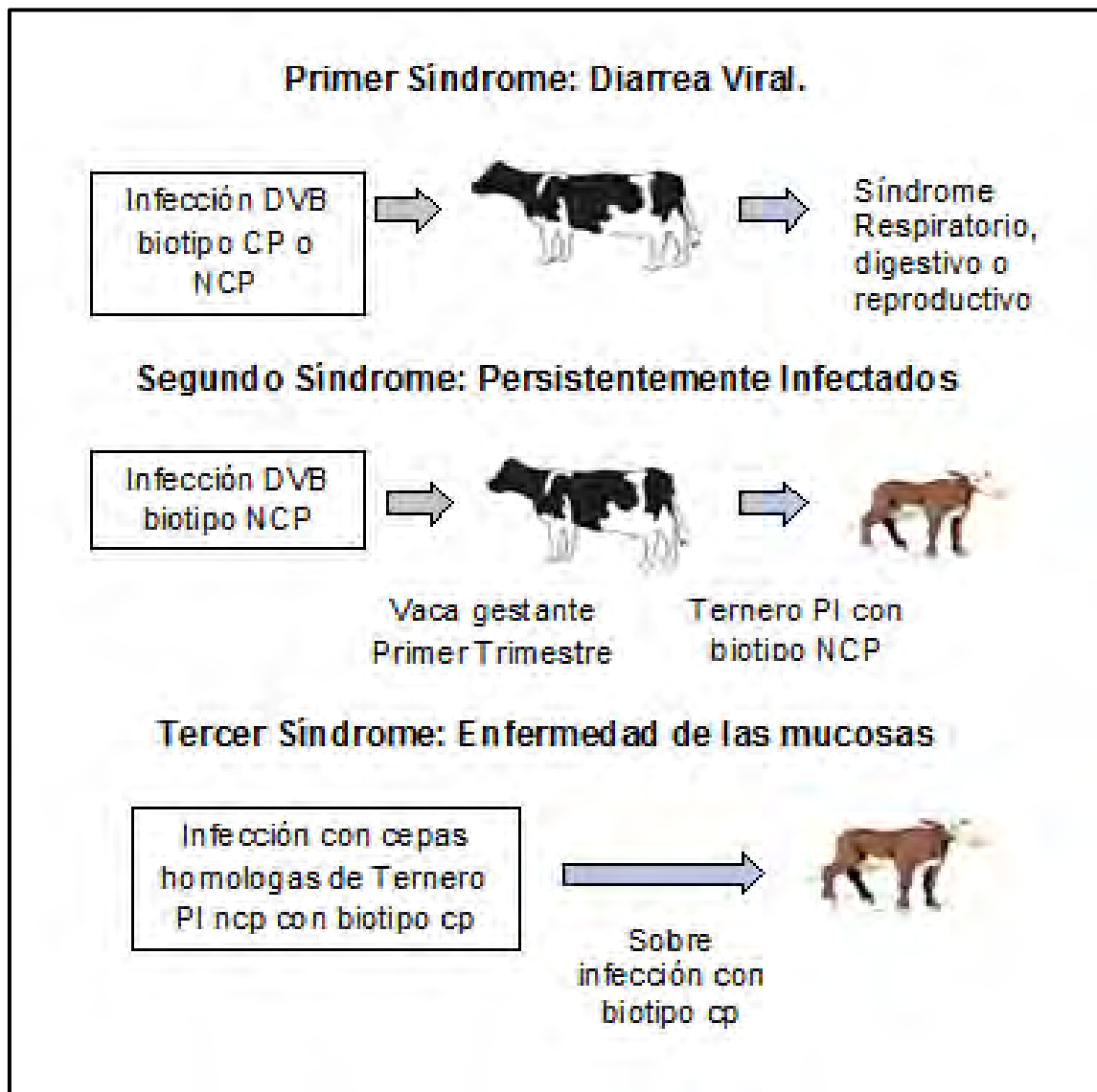
La enfermedad de las mucosas es otra de -las manifestaciones clínicas provocadas por VDVB. Esta enfermedad se presenta de forma aguda cuando un animal persistentemente infectado durante la vida intrauterina con un biotipo NCP

se sobreinfecta -con -una cepa antigénicamente homologa, pero de tipo cp. El biotipo citopático se -origina por mutación a partir del biotipo no citopático; ya sea -por depresión de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos -de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral. Generalmente, esta enfermedad se presenta en animales de -6 a 18 meses, aunque también se ha reportado en terneros de 5 semanas y en vacas de más de 5 años, provocando un 1-00% de mortalidad. Los casos pueden presentarse en el transcurso de varios días, o aparecer esporádicamente en varias semanas a meses (Morales, 2001).

Cuando la sobre - infección de un animal -inmuno tolerante portador -del VDVB ocurre con una cepa citopática pero antigénicamente diferente, heteróloga, se desencadena la enfermedad de las mucosas de tipo crónica, la que se manifiesta con inapetencia, diarrea intermitente y emaciación progresiva; el pelaje se presenta -hirsuto, deformación -de las uñas y lesiones -erosionadas con escaras a nivel del periné, escroto orificio prepucial y vulva, entre piernas, en el rodete coronario y a - nivel de la hendidura interdigital, -que pueden hacerse extensivas al resto -de la piel. Los casos crónicos pueden sobrevivir por varias semanas a -meses y finalmente la muerte ocurre por inanición crónica, neumonía y otras enfermedades (Zacarías, 2002).

Las severas lesiones que causan muerte de animales son encontradas en membranas mucosas del tracto gastrointestinal, especialmente en sitios con tejido linfóide asociado a intestino (Placas de Peyer). La examinación histológica confirma una ulceración extensiva y necrosis epitelial; y masiva destrucción de tejido linfóide en el intestino (Sentsui et al., 2001).

Figura 5. Diagrama de los diferentes síndromes ocasionados por la infección del VDVB (Vargas DS et al., 2009).



5.2.6.4. Infección venérea

Los toros infectados en forma aguda o PI producen semen infectado con el vDVB, como consecuencia de la replicación del virus en la vesícula seminal y glándula prostática, el cual sirve como medio para la transmisión de virus a vacas susceptibles. La calidad del semen infectado por el VDVB es caracterizada por el decrecimiento de la motilidad, incremento del porcentaje de anomalías morfológicas de las células espermáticas (Cauti, 2002).

Virus de la Diarrea Viral Bovina en Terneros Recién Nacidos

El VDVB, raramente causa enfermedad en animales menores de 6 meses de edad. Los terneros recién nacidos infectados con VDVB pueden padecer de severas enteritis que son ocasionalmente de curso fatal. Experimentalmente se ha demostrado que en terneros que tomaron tarde el calostro, la infección que resultó fue una enfermedad clínica benigna con rápido restablecimiento (Giraudó, 2000)

Infección en Hembras Gestantes

Estos cuadros y manifestaciones clínicas aparecen según el tiempo de gestación. Si ocurre en los primeros días, la infección causa efectos negativos en la concepción e implantación del nuevo ser, reflejado en bajas tasas de preñez y un número creciente de repeticiones de celo. Si hay aborto, este suele ocurrir a causa de la infección viral con cepas CP y NCP en los días 45 y 175 de gestación. La aparición de malformaciones y defectos congénitos ocurren como resultado de la infección viral entre los días 100 y 150 de la gestación. Los posibles defectos son: hipoplasia cerebelar, micro encefalia, hidrocefalia, hidro encefalia, poro encefalia, hipo mielinización, cataratas, microftalmia, degeneración retinal, neuritis óptica, hipoplasia tímica, hipo tricosis, osteogénesis alterada y retardo en el crecimiento (Berrios, 2015).

Los efectos de la infección durante la etapa prenatal son variados, complejos y dependerán de la edad gestacional en la que se haya producido la infección (Lanyon et al., 2013).

- Si la infección se da durante los primeros 18 días de gestación, mientras el embrión aún no se ha implantado, no se desarrollará una infección fetal.

- Antes de los 25 días, en la mayoría de los casos conducirá a la muerte embriofetal.
- La infección de la hembra a partir del día 30 y durante el primer trimestre de gestación puede ocasionar el nacimiento de individuos inmunotolerantes y con una infección persistente de por vida con VDVB.
- Una infección entre los 80 a 150 días ocasiona efectos teratógenos en el feto, entre ellos la atrofia del cerebelo, hidrocefalia, degeneración ocular, defectos esqueléticos y un posible retraso en el crecimiento, probablemente a consecuencia de una disfunción hipofisaria.
- El nacimiento de terneros normales seropositivos puede darse cuando la infección se da después de los 180 días de gestación (Lanyon et al., 2013).

5.2.7. Diagnóstico

Actualmente, los métodos disponibles para el diagnóstico de infecciones agudas o persistentes del VDVB incluyen la inmunohistoquímica, ELISA para la detección de anticuerpos y captura de antígenos, pruebas de RT-PCR, el aislamiento viral (Fulton, 2000).

5.2.7.1. Detección de anticuerpos

La medición de la respuesta de anticuerpos de animales expuestos a un agente infeccioso a través de una exposición natural o mediante un protocolo de inmunización es todavía un procedimiento estándar. Para el VDVB, los formatos de pruebas han sido grandemente limitados a las pruebas de neutralización viral (NV) y ELISA (Saliki et al., 2004). La detección de anticuerpos es el método diagnóstico

más común, aunque de menor utilidad en hatos o en zonas donde se usa la vacunación contra el VDVB (Rivera, 2008).

A. Neutralización Viral (NV)

La NV es la técnica estándar para la detección de anticuerpos neutralizantes o protectores inducidos por la E2/gp53 del vDVB de campo o por el virus vacunal y su función es renovar al virus de la circulación y proteger al animal contra futuras infecciones con cepas del mismo tipo. La muestra requerida para esta prueba es el suero y/o fluido torácico fetal pero no plasma. Actualmente la prueba es realizada en microplacas de 96 hoyos y requiere de una cepa CP del VDVB que debe ser mantenida en el laboratorio debidamente titulada en cultivo celular secundario o línea celular continua libre de VDVB endógeno y la lectura se hace al tercer o cuarto día (Benito et al., 2001).

Esta técnica es cualitativa y permite detectar y titular anticuerpos (Houe et al., 2006). La titulación de anticuerpos es de gran utilidad, ya que permite evaluar la respuesta inmune luego de una vacunación. El título neutralizante de suero es la recíproca dilución de suero, expresado en Log, capaz de proteger un monocapa celular de por lo menos 1000 DL50 del virus (Saliki et al., 2004).

B. Ensayo de Inmuno-absorbancia Ligada a Enzimas (ELISA)

Son técnicas de diagnóstico muy versátiles que pueden trabajar numerosas muestras simultáneamente y tienen alta sensibilidad y especificidad por lo que son utilizados en estudios epidemiológicos en gran escala como pruebas de tamiz. Las muestras requeridas para esta prueba son: suero, plasma y leche descremada. Estas pruebas pueden ser básicamente de dos tipos: ELISA indirecta en el cual el

antígeno está inmovilizado en un sustrato cromógeno; y la ELISA de competencia donde el anticuerpo virus específico sin marcar presente en la muestra, compite o bloquea la unión por el antígeno con anticuerpos monoclonales específicos marcados con una enzima, resultando en una ausencia o baja señal (cambio de coloración) para la muestra positiva (Benito et al., 2001).

Es un ensayo utilizado ampliamente para cuantificar anticuerpos o antígenos, que pueden ser proteínas, glicoproteínas en muestras de origen biológico. Similar a otros métodos inmunológicos, su funcionamiento se basa en la interacción entre anticuerpos y sus objetivos, lo que facilita su detección. Se utilizan diversos tipos de muestras, como leche, suero, plasma, sobrenadantes de cultivos celulares, saliva y orina, en los inmunoensayos más usados dependiendo de la necesidad están el ELISA indirecta, directa, por competencia y sándwich (Prueba ELISA, 2021).

ELISA competitivo

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente no fijados.
- Adición en concentración conocida de una mezcla de antígenos del anticuerpo utilizado en el paso anterior, marcados con una enzima. Lavar para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado.
- Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.

- Lectura visual o colorimetría del producto final coloreado de ambas pruebas y comparar los resultados. Si las lecturas de ambas pruebas son análogas, el antígeno a estudio no tiene nada que ver con los anticuerpos empleados para tapizar el soporte. Si hay diferencia en las lecturas de ambos pocillos, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica (DO), es proporcional a la concentración del antígeno problema en la muestra (Soluciones de ELISA Protocolo y Técnicas, 2013).

ELISA Indirecta

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición del suero problema, de tal forma que sus anticuerpos reaccionarán específicamente con los antígenos fijados al soporte. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de anti-anticuerpos conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los anticuerpos específicos añadidos en el paso anterior y que se encuentran fijados a los antígenos. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- Lectura visual o colorimetría del producto final coloreado.

5.2.7.2. Detección de antígenos

La detección del antígeno del VDVB de muestras sospechosas es mucho más rápida y de menor costo que el aislamiento viral. Para el diagnóstico de infecciones agudas, los métodos de detección de antígeno deberían ser normalmente usados como métodos exploratorios (Saliki et al., 2004). Las técnicas son como sigue:

ELISA de captura de antígenos

Esta técnica es muy útil para detectar antígeno viral en muestras de sangre con anticoagulante, en la capa leucocitaria (buffy coat), en suero o plasma o de tejidos en suspensión (Benito et al., 2001). La mayoría de los métodos están basados en el principio de ELISA tipo sándwich, con un anticuerpo de captura ligado a la fase sólida, y un detector de anticuerpo conjugado (OIE, 2004). Esta prueba permite estudiar numerosas muestras simultáneamente y tiene una sensibilidad y especificidad diagnóstica de 97 y 99% respectivamente. Se debe tener presente que existen muchas cepas de campo del VDVB por lo que el anticuerpo monoclonal utilizado para detectar si no a todas las cepas de virus, la proteína estructural NS23/NS3. Esta prueba es adecuada para la detección de animales PI (OIE, 2004); y también en casos agudos de DVB (Benito et al., 2001).

5.2.8. Prevención y control

La utilización de pruebas diagnósticas en los programas de control permite: la vigilancia o monitoreo de la prevalencia a nivel del hato, así como también a nivel regional; establecer el estatus del hato frente a la enfermedad, e identificar animales PI para su posterior eliminación (Sandvik, 2005). Entre las metodologías

diagnósticas se tienen: la detección de antígeno, la detección de anticuerpos y la detección del genoma viral (Houe et al., 2006).

La estrategia para impedir que los vacunos no se contagien de manera masiva son las medidas de bioseguridad, identificación y remoción de los animales PI e implementación de vacunas contra VDVB en el hato (Becher et al., 2018).

Implementación de medidas de Bioseguridad

La implementación de medidas de bioseguridad está dirigida a cómo evitar las reinfecciones en la población bovina en evaluación (Sandvik, 2004). Por lo tanto, se debe establecer un control estricto de los animales nuevos que ingresen al hato, deben ser seronegativos al virus antes y después de un periodo de cuarentena (Sandvik, 2004) de 30 días (Brock, 2004).

Un programa de prevención, control o erradicación de una enfermedad puede adoptar distintas estrategias que van a variar de acuerdo con la situación inicial de la explotación, pero apoyadas en tres pilares fundamentales que son: las medidas de bioseguridad, identificación y remoción de los animales PI y vacunación contra VDVB en el hato (Muñoz et al., 2000).

Es necesario evitar el contacto de los animales con crías vecinas y con otras especies que puedan actuar como reservorios del VDVB. Además, se debe tener cuidado con el uso de productos biológicos como semen, embriones y calostro sin certificación de animales libres de VDVB. Al mismo tiempo, es necesario desinfectar adecuadamente materiales y vestimenta de trabajo de profesionales y otros visitantes que hayan tenido contacto con otros establos. Por último, se debe limitar al máximo el movimiento de animales dentro y fuera del establo, en especial las hembras gestantes (Brock, 2004) y evaluar las medidas de

bioseguridad por pruebas serológicas periódicas asegurando que el VDVB no está siendo introducido (Brock, 2004).

5.2.8.1. Identificación y eliminación de animales PI

El diagnóstico de los animales PI es de gran importancia debido a que ellos constituyen los principales diseminadores de la enfermedad representando entre el 1 al 2% de la población bovina afectada. A esto se debe establecer el estatus del hato frente a la enfermedad, e identificar animales PI para su posterior eliminación (Vargas et al., 2009).

La presencia de animales persistentemente infectados (PI) en hatos bovinos en nuestro país ha sido reportado por varios estudios (Chacón et al., 2003). Estos estudios demuestran que la infección con VDVB es altamente prevalente en hatos que tienen animales PI (Huamán, 2007).

5.2.8.2. Vacunación

A partir de la década del 60, el control del VDVB estaba focalizado en prevenir la ocurrencia clínica de la enfermedad mediante la vacunación (Rivera, 2008). Las vacunas comerciales contra el VDVB son ampliamente usadas en muchas partes del mundo. Ambas vacunas inactivas y vivas modificadas están disponibles (Zimmer et al., 2002).

A la fecha se han fabricado más de 150 vacunas comerciales a virus vivo modificado o a virus inactivo; sin embargo, su uso masivo en algunos países por más de cuatro décadas no ha logrado la reducción de la prevalencia e incidencia de la VDVB (Rivera, 2008).

En Alemania se ha implementado un programa de vacunación a dos pasos. Se utiliza una vacuna inactiva para la primera inmunización y cuatro semanas después una vacuna a virus vivo modificado. Esta primera vacunación con la vacuna inactiva reduce o incluso previene la viremia después de la vacunación de refuerzo usando la vacuna atenuada, por lo tanto, reduciendo o previniendo la emisión de virus vacunal. Este sistema ha producido una respuesta inmune prolongada y protección fetal contra el desafío de VDVB a partir del quinto mes luego de la vacunación (Moennig et al., 2005).

En el Perú no existe un programa de control de la DVB. Algunos ganaderos de las principales cuencas lecheras utilizan la vacunación. Las vacunas autorizadas oficialmente son de tipo inactivo y su uso es voluntario y profiláctico más que de control sistemático y a la vez juntamente con la detección de animales PI y vigilancia permanente (Rivera, 2008).

Vacunas a virus vivo modificado (MLV)

Vacunas generalmente produce una mayor reacción cruzada que la inducida por las vacunas inactivadas, la cual es importante en la inmunidad contra el VDVB debido a la variabilidad antigénica entre los diferentes aislamientos. Este tipo de vacunas confieren protección contra infección fetal cuando se utilizan los tipos de VDB I y II (Baule et al., 2001). Para el control efectivo de la enfermedad es imperativo que la vacunación contra DVB produzca un alto nivel de protección tanto en la madre como en el feto contra los dos tipos de cepas (Baule et al., 2001).

Por ejemplo: en pruebas de inmunidad protectora cruzada con distintas vacunas, demostraron que las vacunas a virus vivo modificado indujeron mayor protección

que las vacunas muertas, cuando los animales fueron desafiados con DVB de diferente tipo al que contenían las vacunas (Giraudó, 2000).

Las vacunas a virus vivo modificado tienen ventajas sobre las vacunas inactivadas: las primeras generalmente son administradas una sola vez, los costos son bajos, debido al pequeño número de partículas virales necesarias para la inmunización (Raymond, 2002), otra ventaja que mostraron las vacunas vivas modificadas fueron la estimulación de mayor respuesta a anticuerpos neutralizantes, mayor duración del tiempo de protección, y menor requerimiento del número de dosis.

Como regla general, se considera que los anticuerpos neutralizantes son más eficientes en protección contra los biotipos citopáticos de VDVB (cuadros de enfermedad de las mucosas), mientras que los linfocitos T citotóxicos son eficaces para el control del DVB no citopáticos y para limitar cuadros inmunopatológicos que estos virus pueden causar (Gogorza et al., 2001). El mayor riesgo de las vacunas modificadas reside en la reversión de la virulencia, que puede presentarse en los animales sometidos a factores estresantes, tales como o transporte. Asociación al uso de vacunas vivas modificadas, se han presentados cuadros de inmunosupresión, la potencial infección y la infección fetal por contaminación con DVB adventicio o por la potencial recuperación de la virulencia del virus vivo modificado (Gogorza et al., 2001).

Otra desventaja puede presentarse en el uso durante la etapa perinatal, ya que los anticuerpos maternos inhiben la replicación del virus vivo modificado y por lo tanto ello reduce la respuesta inmune a la vacuna (Gogorza et al., 2001).

En la vacuna a virus vivo modificado se ha evaluado su capacidad en la prevención de infección fetal, abortos y en el nacimiento de animales PI. Las novillas preñadas

inmunizadas con la vacuna 4 a 8 semanas antes de la inseminación, no desarrollaron efectos adversos y se convirtieron 4 semanas después de la inmunización. Las novillas preñadas vacunadas no desarrollaron viremia mientras que los controles no vacunados desarrollaron 100% de viremia, abortos y muerte fetal en 86% (Vera et al., 2006).

Vacunas Inactivas

Las vacunas inactivas tienen la ventaja de no causar enfermedad de las mucosas, problemas reproductivos, inmunosupresión o recombinación a diferencia de las vacunas MLV. Además, pueden administrarse de manera segura a animales preñadas (Ridpath, 2000). Estas vacunas no inducen inmunidad celular y pueden retener una infectividad residual si la inactivación no fue realizada correctamente (Young et al., 2005). Así mismo, pueden inducir reacciones inflamatorias localizadas, y adicionalmente requieren altos costos en su producción (Makoschey et al., 2004).

5.3. BASES CONCEPTUALES

5.3.1. Antígeno

Sustancia ajena al cuerpo que genera la producción de anticuerpos desencadenando una respuesta inmune en el organismo (Diccionario 2025).

5.3.2. Anticuerpo

Los anticuerpos son moléculas glicoprotéicas que tienen la capacidad de combinarse específicamente con un antígeno. El anticuerpo se une al antígeno en

forma específica, en respuesta del sistema inmune a la presencia de un cuerpo extraño para el organismo (Vega, 2008).

El anticuerpo típico está constituido por unidades estructurales básicas, cada una de ellas con 2 grandes cadenas pesadas y 2 cadena ligeras de menor tamaño, que forman por ejemplo monómeros con una unidad, dímeros con 2 unidades o pentámeros con 5 unidades. Los anticuerpos son sintetizados por un tipo de leucocitos denominado linfocito B. Existen distintas modalidades de anticuerpo, isotipos, basadas en la forma de cadenas pesada que posean (IDEXX Laboratorios, 2016).

5.3.2.1. Estructura de un anticuerpo

Todas las moléculas de los anticuerpos tienen una estructura básica en forma de Y y en la que varias piezas se unen mediante estructuras químicas llamadas enlaces bisulfuro. Una molécula de anticuerpo se divide en regiones variables y constantes. La región variable determina a qué antígeno se unirá el anticuerpo. La región constante determina la clase de anticuerpo (IgG, IgM, IgD, IgE o IgA).

Una molécula de anticuerpo está formada de 4 polipéptidos; dos polipéptidos idénticos de tamaño mayor (Cadena polipéptidicas pesadas o heavy chains, en verde oscuro) y dos polipéptidos idénticos de tamaño menor (Cadenas polipéptidicas livianas o light chains, en verde claro), unidas por puentes disulfuro (S-S) y otros enlaces covalentes y no covalentes. El contacto con el epítipo del antígeno (Señalado con un círculo) se establece en un punto de unión específico: El paratopo o antigen binding site (Señalado en color fucsia) ubicado en la región variable de cada anticuerpo (Sombreada en color celeste), formada por los extremos N de las cadenas pesadas y ligeras (V_H , V_L). Existen dos regiones

variables y dos parátomos por molécula de anticuerpo. El resto de la molécula presenta una estructura constante, común a todas las inmunoglobulinas (Sombreada en color gris). El punto de bifurcación de la Y, donde existen dos puentes disulfuro, constituye la región de la bisagra (Hinge). Tanto las cadenas livianas como las pesadas contienen una serie de unidades repetidos de unos 110 aminoácidos cada uno que se queda de forma independiente y forman un motivo estructural globular denominado dominio Ig (Regiones con forma de herradura) (Merck, 2006).

- a) Son la respuesta del organismo ante la presencia de un agente infeccioso.
- b) Los anticuerpos son moléculas proteicas secretadas por los plasmocitos, y tienen una altísima afinidad por sus antígenos correspondientes.
- c) Anticuerpos se caracteriza por:
 - Ser defensa natural.
 - Tener utilidad terapéutica.
 - Tener utilidad diagnóstica (Enzyme Linked Inmuno Sorbent Assay, Br. Leomar Palacios).

5.3.3. Reacción antígeno - anticuerpo

La unión de antígeno - anticuerpos es específica, cada anticuerpo reconoce y se une a un determinado antígeno. Esta unión se realiza por medio de uniones intermoleculares entre el antígeno y la zona del anticuerpo y da lugar al complejo antígeno – anticuerpo según el método llave – cerradura.

Es la unión de Ag- Ac y sucede cuando un antígeno es reconocido por un anticuerpo para neutralizarlo o destruirlo, la reacción se diferencia por la rapidez, especificidad, espontaneidad y reversibilidad (Mex, 2005)

5.3.4. Prueba de ELISA

Es una prueba de unión de primaria que detecta enlace específico antígeno y anticuerpo y cuantifica los inmunocomplejos formados mediante el marcador enzimático que actúan con un sustrato cromogénico apropiado. El grado de transformación del sustrato incoloro a un producto coloreado se cuantifica objetivamente por espectrofotometría y es proporcional a la cantidad de inmuno complejos formados (IDEXX Laboratorios, 2016).

La técnica de ELISA se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una base sólida (Placas de inmunolon) impregnadas de anticuerpos que directa o indirectamente producen reacciones 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 inmune 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 (Morales et. al, 2002).

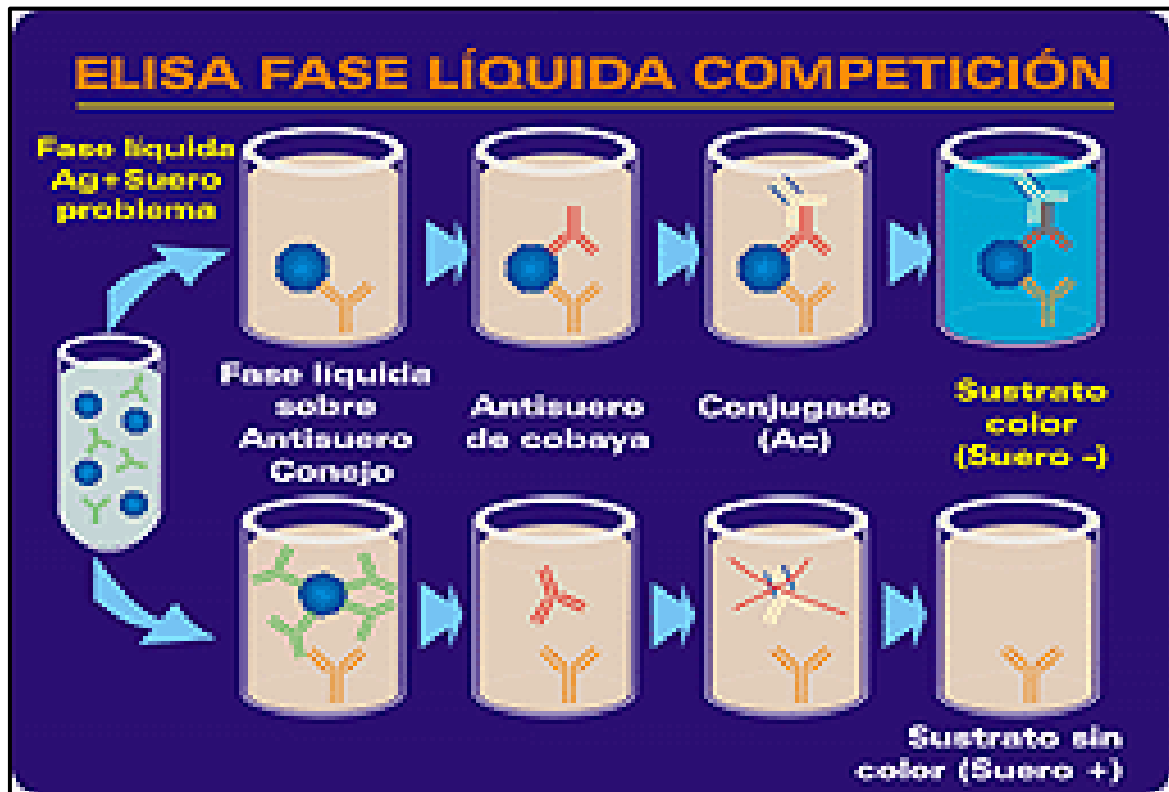
El principio de ELISA se basa en determinar si una proteína particular está presente en una muestra con una posibilidad de cuantificar. Hay 2 variaciones principales en este método: En la primera puede determinarse cuanto anticuerpo está en la muestra, o puede determinarse cuanta proteína es limitada por un anticuerpo. Se ha realizado múltiples variantes de ensayo de ELISA, siendo lo más utilizados son los siguientes: (IDEXX Laboratorios, 2016).

5.3.4.1. ELISA competitivo

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 (Laboratorio Life Technologies, 2016).

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 positiva (Laboratorio Life Technologies, 2016).

Figura 6. 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.



a) Ventajas de la prueba de ELISA:

- Alta sensibilidad y especificidad.
- Método rápido.
- Los reactivos son estables.
- Resultado visual.

b) Desventajas de la prueba de ELISA:

- Costo de microplacas.
- Costo de equipo automatizado.

5.3.5. Prevalencia

La prevalencia se refiere al número de casos con enfermedad registrados en una población determinada, sin distinción entre casos nuevos y antiguos, en un momento, o periodo de tiempo, determinado.

VI. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

6.1.1. Ubicación

El presente estudio se realizó en dos etapas: la primera consistió en la toma de muestras sanguíneas de los vacunos hembras de la Comunidad de Sausaya, siendo las comunidades intervenidas: Tacomayo, Sausaya Central, Soromisa y Alto Sausaya, del distrito de Checca, provincia de Canas, Región Cusco. La Comunidad de Sausaya se encuentra al sur de la ciudad del Cusco.

La segunda etapa consistió en el procesamiento de las muestras en el Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco” de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

6.1.2. Ubicación política

- Región : Cusco.
- Departamento : Cusco.
- Provincia : Canas.
- Distrito : Checca.
- Comunidad : Sausaya.

Figura 7. Mapa de ubicación política del distrito de Checca y la comunidad Campesina de Sausaya.



Fuente: Instituto Geográfico Nacional (IGN), 2010.

Zona de estudio comunidad
campesina Sausaya.

6.1.3. Ubicación geográfica de la provincia de Canas y del distrito de Checca

- Latitud Sur : 14° 29' 08.34" S.
- Longitud Oeste : 71° 27' 22.49" W.
- Altitud Máxima : 4090 m.s.n.m.
- Altitud Mínima : 3743 m.s.n.m.

Fuente: Instituto Geográfico Nacional (IGN), 2010.

6.1.4. Tiempo de ejecución

El trabajo de investigación tuvo una duración de 5 meses calendarios; siendo el periodo de ejecución del 15 de agosto al 20 de diciembre del 2021.

6.1.5. Datos climáticos

6.1.5.1. Clima

El clima es generalmente frío durante casi todo el año, cuenta con promedio de temperatura de 14°C durante el día y durante la noche llega a los 0°C, además se caracteriza porque el aire es seco.

La temperatura media anual es de 11.5°C; y se caracteriza por presentar veranos lluviosos e inviernos secos con fuertes heladas hasta -5°C. (SENAMHI, 2015).

6.1.5.2. Precipitación

La precipitación promedio anual está alrededor de 791.5 mm/año. Respecto a la distribución de la precipitación a lo largo del año, se presentan lluvias frecuentes durante los meses de noviembre hasta marzo, las épocas de la siembra y la cosecha (SENAMHI, 2015).

Tabla 2. Principales parámetros meteorológicos de la provincia de Canas, temperatura, precipitación y humedad.

Rubros	Máxima	Mínima
Temperatura (°C)	17.5°C (noviembre)	-5,0°C (Julio)
Precipitación total	175,3 mm (febrero)	2,8 mm
mensual (mm)		(Julio)
Humedad relativa	59%	42,0 %
media mensual (%)	(marzo)	(Julio)

Fuente. (SENAMHI, 2015)

6.2. MATERIALES DE ESTUDIO

6.2.1. Población y muestra

El ganado bovino estuvo conformado por vacunos hembras de la comunidad de Sausaya. Las muestras se tomaron de 14 terneras mayores a seis meses de edad, 22 vaquillonas y 73 vacas en producción de la raza Brown Swiss PPC.

6.2.1.1. Tamaño de muestra

El tamaño de muestra fue determinado teniendo en cuenta un nivel de confianza de 92% y error de precisión de 0.08, mediante el método paramétrico de muestreo simple al azar (Daniel, 1996). Considerando la población total de 1 235 cabezas de vacunos que tiene la comunidad Campesina de Sausaya, información que fue obtenida mediante encuesta realizada a productores en una asamblea general.

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

Z: 1.75, nivel de confianza que se da a la muestra

p: Variabilidad 0.5. (50% de probabilidad a favor)

q: Variabilidad 0.5. (50% de probabilidad en contra)

E: Error del 8%

n: Tamaño de muestra.

Tabla 3. *Distribución de muestras de vacas hembras Brown Swiss de la comunidad de Sausaya, por sector.*

Sector	Terneros > a 6 meses	Vaquillonas	Vacas	Total
Taco mayo	5	14	6	25
Sausaya Central	8	5	32	45
Soromisa	1	2	15	18
Alto Sausaya		1	20	21
Total				109

Fuente: Elaboración propia.

La Comunidad Campesina de Sausaya tiene una población aproximada de 1 235 cabezas de bovinos, de las cuales se realizó el muestreo de 109 vacunos entre terneras mayores a 6 meses, vaquillonas y vacas en producción.

6.2.1.2. De las muestras

Las muestras estuvieron constituidas por suero sanguíneo de 109 vacunos muestreados, las que se sometieron a evaluación.

Materiales

6.2.1.3. Equipos

- Cabina de flujo laminar (Telstar Bio II A)
- Centrifuga (Nuve 200)
- Congeladora de -20°C (Electrolux – EU 21)
- Incubadora de 26° C (JITERBUG – 4, BOEKEL)

- Lavador de placas de ELISA (Biotek EL x 50)
- Lector de microplacas de ELISA (Biotek EPOCH 2)
- Refrigeradora para muestras (ELECTRIX EU21 a T° de 8°C)
- Vortex (GENIE 2)

6.2.1.4. Instrumentos

- Cámara
- Cronómetro de tiempo
- Micropipeta multicanal de 10 a 300 µL
- Micropipeta Unicanal de 100 a 1000 µL
- Micropipeta Unicanal de 20 a 200 µL

6.2.1.5. Reactivos

A. Reactivos del kit IDEXX, para detección de anticuerpos

- Agua destilada
- Conjugado concentrado (100X)
- Control negativo – suero bovino, conservado con azida de sodio.
- Control positivo – suero que contiene p80 anti – DVB, conservado con azida de sodio.
- Placa tapizada con proteína p80 del BVDV/MD/BDV.
- Solución de lavado concentrada (20X)
- Solución frenado n°9
- Solución tampón de dilución n°1
- Solución tampón de dilución n°9
- Substrato TMB n°9

- Suero sanguíneo 50 µL de cada muestra a analizar por pocillo (un pocillo por muestra).

B. Reactivos del kit PrioCHECK, para detección de antígenos

- Dilución de conjugado 30X (componente 4)
- Solución de frenado (componente 12)
- Solución de lavado 200X (componente 7)
- Suero sanguíneo 50 µL para cada pocillo
- Sustrato cromógeno (TMB) (componente 11)
- Tampón de conjugado (componente 5)
- Tampón de dilución (componente 6)
- Tampón de referencia 1 (lío­filizada) control positivo
- Tampón de referencia 2 (lío­filizada) control negativo
- Tampón de referencia 3 (lío­filizada) blanco

6.2.1.6. Materiales

- Agua destilada
- Agujas Vacutainer
- Alcohol al 70%
- Algodón
- Barbijos
- Gorros
- Guantes de látex
- Marcadores indelebles
- Papel toalla
- Pipetas Pasteur
- Puntas de pipetas desechables o tips
- Tubos vacutainer

- Viales criogénicos de 2ml

6.2.1.7. Otros materiales

- Bandejas para depósito de reactivos
- Cooler refrigerante
- Geles refrigerantes
- Probetas graduadas

6.2.1.8. Indumentaria de trabajo

- Botas
- Mameluco
- Mandil

6.2.1.9. Materiales de escritorio

- Computadora personal
- Cuadernos de campo
- Fichas clínicas
- Lapiceros
- Marcador indeleble
- Tablero acrílico

6.3. METODOLOGÍA

Según el nivel de medición y análisis de información es una investigación de tipo Cualitativa y cuantitativa.

6.3.1. Área de investigación

El presente estudio de investigación pertenece al área de conocimiento de las Ciencias Agrarias y a la línea de investigación de sanidad agraria

6.3.2. Tipo De Investigación

- Según el alcance de la investigación es de tipo de descriptivo debido a que se cuantificó y mostró el porcentaje de prevalencia.
- Según el diseño de la investigación es no experimental y transversal, debido a que las variables del estudio se midieron una sola vez y con esa información se realizó el análisis.
- Según el nivel de medición y análisis de información es una investigación cuantitativa y cualitativa.

6.3.3. Obtención de muestras sangre

Para dar inicio al presente estudio, se obtuvo la autorización de los productores de la Comunidad Campesina de Sausaya del distrito de Checca, Provincia de Canas; en la cual se planteó el trabajo de investigación frente a los productores, los cuales estuvieron de acuerdo con que se realice la toma de muestras.

Las muestras de sangre fueron colectadas mediante punción de la vena caudal en tubos vacutainer con separador de suero con un sistema al vacío, previa desinfección con alcohol. Una vez obtenidas las muestras de sangre se rotularon con sus respectivos datos (número de muestra, nombre y edad del ejemplar), luego se registró en la ficha de registros los siguientes datos (número de muestra, nombre y/o código de arete, edad, categoría, nombre del propietario, lugar de ubicación, estado sanitario y antecedentes reproductivos), estas muestras se depositaron en un cooler refrigerante con pilas de hielo para su conservación de 2-4°C. Las muestras se conservaron en refrigeración para posteriormente obtener el suero

sanguíneo, el mismo fue conservado en congeladora a -20°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Figura 8. Toma de muestras de sangre de la vena caudal.



6.3.4. Obtención de suero

Para la obtención de suero sanguíneo se centrifugaron las muestras a una velocidad de 1500 RPM, por un lapso de 10 minutos. Luego se aspiró cuidadosamente la fracción superior de aspecto claro, transparente y de color amarillento (suero) con ayuda de una pipeta Pasteur estéril sin tocar el gel de la interfaz. Consecuentemente se fraccionó en alícuotas en fracciones de al menos, 0.3-0.5 ml en viales de congelación adecuados, debidamente etiquetados e identificados hasta transferir todo el suero. Se realizó el sellado correcto de los tubos para conseguir un cierre hermético. Se registró el número de alícuotas obtenidas para cada muestra. Estas muestras se conservaron en la congeladora de -20 °C hasta el momento de la realización del ensayo ELISA, por un periodo de 15 días.

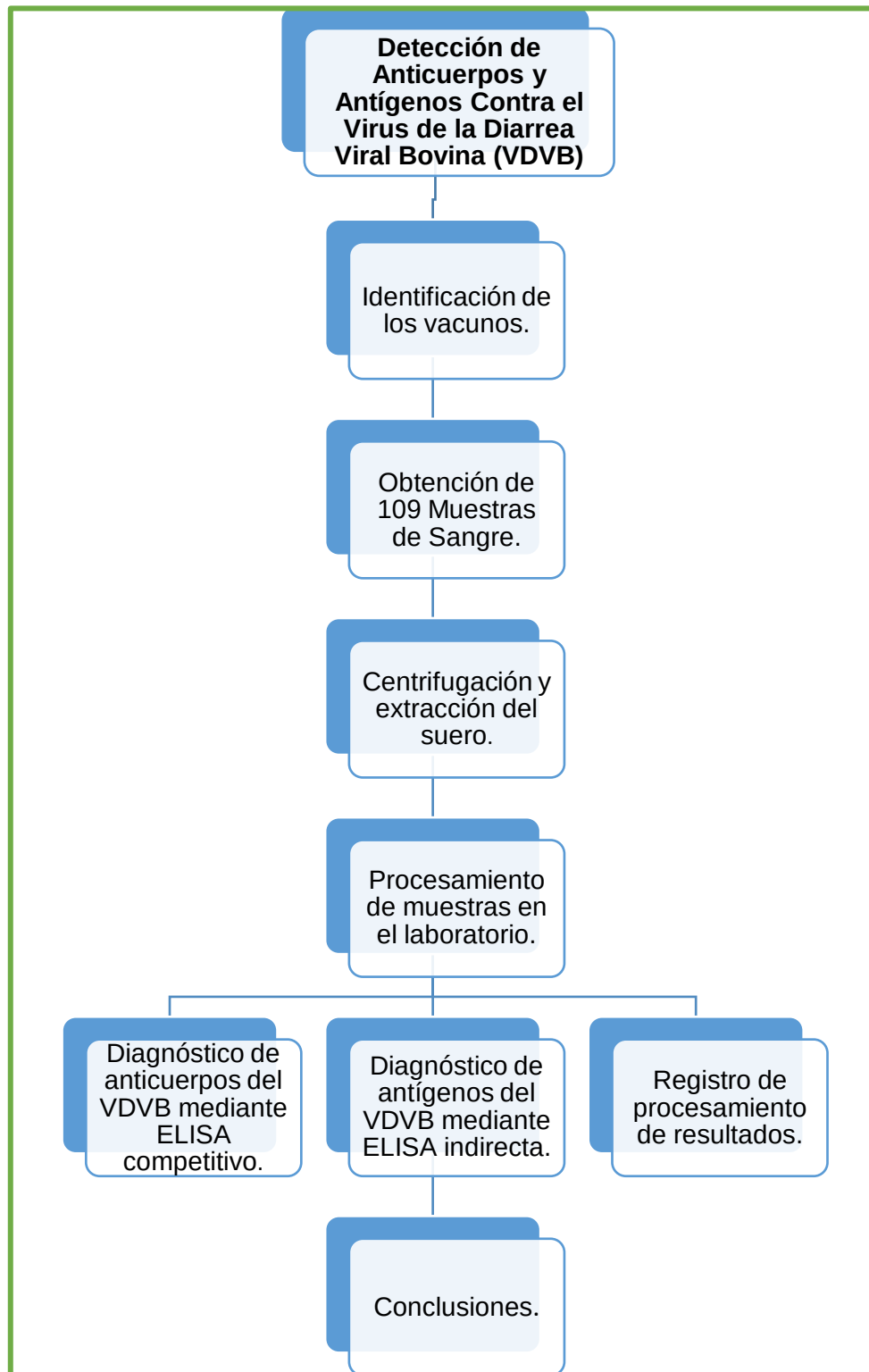
Figura 9. Separación de suero sanguíneo en una centrifuga a 1500 rpm por 10 min.



Figura 10. Almacenamiento del suero sanguíneo en crioviales de 2.5ml.



Figura 11. Flujograma de trabajo para determinar anticuerpos y antígenos del VDVB en vacunos.



Fuente: Elaboración propia.

6.3.5. METODOLOGÍA DE LABORATORIO

6.3.5.1. Metodología de ELISA competitivo para detectar anticuerpos frente al VDVB

6.3.5.1.1. Principios de la prueba

El kit IDEXX BVDV total Ab es un Inmunoensayo enzimático indirecto diseñado para detectar anticuerpos específicos de VDVB en muestras de suero, plasma y leche. El ensayo consiste en una técnica ELISA indirecta donde se utilizan placas de micro titulación tapizada con antígenos de VDVB. Los anticuerpos frente a VDVB presentes en la muestra se unen al antígeno de la placa. El material no ligado se elimina mediante un lavado. El complejo antígeno- anticuerpo se detecta mediante un conjugado que contiene anticuerpo secundario la enzima peroxidasa de rábano, el resto de conjugado se elimina mediante el lavado de la placa y se añade una solución de substrato/ cromógeno. En presencia de la enzima, el substrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno generando una coloración azul. Al añadir la solución de frenado, se genera un color amarillo. El desarrollo del color transparente indica la presencia de anticuerpo (positivo) frente VDVB y las muestras de color amarillo indican ausencia de anticuerpo frente al DVB (IDEXX, 2021).

6.3.5.1.2. Reactivos del kit

Tabla 4. *Reactivos que se proporciona en el kit de DVB.*

N°	Reactivo	Volumen
1	Placas tapizadas con proteína p80 del BVDV/MD/BDV	5 ud.
2	Control positivo	1 x 2,0 ml
3	Control negativo	1 x 2,0 ml
4 ^a	Conjugado concentrado (100X)	1 x 0.75 ml
4b	Solución tampón de dilución n°1	1 x 120 ml
5	Solución tampón de dilución n°9	1 x 120 ml
A	Substrato TMB n°9	1 x 60 ml
B	Solución de frenado n°9	1 x 60 ml
C	Solución de lavado concentrada (20X)	1 x 100 ml

Fuente: Elaboración propia.

Los reactivos que se suministran el kit, se conservan a una temperatura entre 2°- 8°C.

6.3.5.1.3. Distribución de las muestras en la placa ELISA

La distribución de las muestras en la plantilla ELISA, se realizó de acuerdo con la tabla 5.

Tabla 5. Distribución de las muestras en la placa de ELISA para detectar anticuerpos del VDVB en vacunos de la comunidad de Sausaya.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85
B	CP	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86
C	CN	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87
D	CN	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88
E	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
F	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
G	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
H	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92

Fuente: Elaboración propia.

Dónde:

CN = Control negativo.

CP = Control positivo.

1 al 92 = Muestra de suero.

Preparación de reactivos.

- **Preparación de la solución de lavado:** La solución de lavado concentrada (10x) se dejó a una temperatura ambiente hasta alcanzar al 18 °C aproximadamente y luego se agitó para asegurar la disolución de posibles precipitados. La solución de lavado concentrada fue diluida en 1 en 10 con agua destilada antes de su uso. Si la preparación se realizó en condiciones estériles, la solución de lavado puede almacenarse durante una semana a 2-8°C.

Figura 12. Preparación de solución de lavado y conjugado.



6.3.5.1.4. Preparación de las muestras y reactivos

- Se retiró las muestras de la congeladora de -20 °C y se dejó descongelar a temperatura ambiente (18 °C) y se homogenizaron en un vórtex por 1 minuto.
- Se retiró los reactivos de la refrigeradora de 8°C se llevó a una temperatura de 21°C en una incubadora antes de ser utilizados.

6.3.5.1.5. Procedimiento de la prueba

1. Se marcó la posición de las muestras en cada una de las placas tapizadas.
2. Se añadió 50 µL de solución tampón de dilución en cada pocillo.
3. Se dispensó:
 - 50 µL de control negativo (CN) en dos pocillos.

- 50 μ L de control positivo (CP) en dos pocillos.
 - 50 μ L de las muestras de suero en los pocillos restantes.
4. Se mezcló el contenido de los pocillos agitando levemente.
 5. Se incubó durante 90 minutos a 26°C, tapar y sellar con papel Parafilm para evitar evaporación.
 6. Se eliminó el líquido de cada pocillo y lavar con aproximadamente 300 μ L de solución de lavado, por 5 veces. Se Eliminó el fluido de lavado residual de la placa golpeándola sobre papel absorbente.
 7. Se agregó 100 μ L de conjugado en cada pocillo.
 8. Se incubó la placa durante 30 minutos a una temperatura de 26°C.
 9. Se repitió el paso 8.
 10. Se agregó 100 μ L de sustrato TMB n° 12 en cada pocillo.
 11. Se incubó por 10 minutos a una temperatura de 26°C.
 12. Se añadió 100 μ L de la solución de frenado n°3 en cada pocillo.
 13. Se programó el lector de microplacas a 450nm de longitud de onda y medir la absorbancia de las muestras y controles.
 14. Se realizó el cálculo de los resultados.

6.3.5.1.6. Criterios de validación

La reacción de la prueba se consideró válida, si la media del control negativo ($CN\bar{x}$) tiene un valor mínimo medio de DO 450 de 0.800 y si el porcentaje M/N (razón muestra a negativo) del control positivo es inferior al 20%.

- $CN\bar{x} \geq 0.800$
- $CP/CN\bar{x} < 0.20$

6.3.5.1.7. Interpretación de resultados

Las muestras con porcentaje de M/N (% M/N), mayores o iguales al 50% son considerados negativos, mientras que las muestras con % M/N mayores a 40% y menores a 50% se consideran dudosas, y las muestras con % M/N menores al 40% se consideran positivas (ver tabla 6).

Tabla 6. Escalas de interpretación cuantitativa de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB).

Muestras de suero	
Resultado	Interpretación cuantitativa
% M/N $\geq$ 50	Negativo
40 < % M/N < 50	Dudoso
% M/N $\leq$ 40	Positivo

Fuente: Elaboración propia.

6.3.5.2. Metodología de ELISA indirecta para detectar antígenos frente al VDVB

De los sueros que resultaron negativos a anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina, se realizó el ensayo ELISA indirecta para detectar antígenos presentes en el suero, con la finalidad de detectar a los vacunos persistentemente infectados (PI).

A. Principio de la prueba

Durante el primer periodo de incubación, los antígenos del VDVB presentes en la muestra se unirán a los anticuerpos monoclonales específicos contra el VDVB fijados a la placa. Después, se lavan las placas y se incuban con otro anticuerpo monoclonal específico contra el VDVB conjugado con peroxidasa (AcM contra otro sitio antigénico de NS-3). Finalmente, el conjugado único y por lo tanto los antígenos de VDVB de la muestra se visualizan añadiendo el sustrato cromógeno (TMB). En el caso de una muestra positiva, se visualizará la presencia de color. En el caso de una muestra negativa, no se visualizará color (PRIOCHECK, 2021).

B. Componentes del Kit

Componente	Descripción
Componente 1	Placa de ensayo: Diez placas de ensayo, formato tipo tira.
Componente 2	Tampón de extracción (listo para usar): Cuatro viales, cada uno con 60 ml de tampón de extracción.
Componente 3	Aditivo de tampón de extracción (liofilizado): Cuatro viales, cada uno con 60 ml de aditivo de tampón de extracción para un vial tampón de extracción.
Componente 4	Conjugado (30x): Dos viales, cada uno con 2,5 ml de conjugado.
Componente 5	Tampón de conjugado (listo para usar): Dos viales, cada uno con 60 ml de tampón de conjugado
Componente 6	Tampón de dilución (listo para usar): Dos viales, cada uno con 60 ml de tampón de dilución.
Componente 7	Líquido de lavado (concentrado 200x) (Concentrado 200x, diluir ante de usar).
Componente 8	Referencia 1 (liofilizada): Un vial contiene 2.0 ml de referencia 1.

Componente 9	Referencia 2 (líoofilizado): Un vial contiene 2.0 ml de referencia 2.
Componente 10	Referencia 3 (líoofilizado): Un vial contiene 2.0 ml de referencia 3.
Componente 11	Sustrato cromógeno (TMB) (listo para usar): Dos viales, cada uno con 60 ml de sustrato cromógeno (TMB).
Componente 12	Solución de frenado (listo para usar): Dos viales, cada uno con 60 ml de solución de frenado

Fuente: (PRIOCHECK, 2021).

C. Distribución de las muestras en la placa ELISA

La distribución de las muestras en la plantilla ELISA, para la detección de antígenos del virus de la diarrea viral bovina se realizó de acuerdo con la tabla 7.

Tabla 7. *Distribución de controles y muestras en la placa de ELISA para la detección de antígeno del VDV B.*

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

Fuente: Elaboración propia.

Donde:

N = Control Negativo.

P = Control Positivo.

B = Pocillos en blanco.

M = Muestras evaluadas.

D. Preparación de muestras y reactivos

Solución de lavado

La solución de lavado se preparó utilizando una parte de la solución de lavado concentrada (200x) con 199 partes de agua destilada; se mezcló con un agitador magnético (vórtex).

Preparación de muestras y controles

- Se retiró las muestras de la congeladora de -20 °C y se dejó a temperatura ambiente, para que todas las muestras alcancen una temperatura de 18 °C antes de su uso.
- Se retiró los reactivos de la refrigeradora de 8°C y se colocaron en una incubadora a 21°C antes de su uso.
- Se homogenizaron las muestras y reactivos en un vórtex por medio minuto.

E. Procedimiento de la prueba

1. Se anotó la posición de las muestras en las placas tapizadas con anticuerpos.
2. Los reactivos se mezclaron mediante movimientos circulares suaves. Se utilizó solo el número de micro pocillos necesarios para realizar el test.
3. Se agregó 50 µL de tampón de dilución (componente 6) a todos los pocillos.
4. Se añadió 50 µL de tampón de referencia 1 a los pocillos A1 y B1 (= DO máx.)
5. Se adicionó 50 µL de tampón de referencia 2 a los pocillos C1 y D1.

6. Se agregó 50 μL de tampón de referencia 3 a los pocillos E1 y F1 (= DO blanco).
7. Seguidamente se colocó 50 μL de las muestras de ensayo al resto de pocillos.
8. Se selló la placa de ensayo y se agitó con cuidado.
9. Se incubó durante 60 minutos a 25°C.
10. Se vació la placa de ensayo y se lavó 6 veces con 300 μL de solución de lavado. Se secó bien las placas después del último ciclo de lavado.
11. Se agregó 100 μL de conjugado diluido a todos los pocillos.
12. Se selló la placa de ensayo con cinta Parafilm para evitar evaporación.
13. Se incubó la placa de ensayo durante 60 minutos a 22 °C.
14. Se vació la placa de ensayo y se lavó 6 veces con solución de lavado. Al terminar el último lavado, se secó los pocillos golpeando la placa invertida sobre papel absorbente.
15. Se cubrió los pocillos y se incubó a 37 °C durante 60 minutos.
16. Se agregó 100 μL de sustrato cromógeno (TMB) (componente 11) a cada pocillo.
17. Se incubó la placa de ensayo de 15 minutos a 25°C.
18. Se agregó 100 μL de la solución de frenado (componente 12) a cada pocillo.
19. Se mezcló el contenido de los pocillos de la placa de ensayo.

20. Se hizo la lectura en lector de microplacas con densidad óptica (DO) a 450 nm.

F. Cálculos de resultados

- Se calculó el promedio de DO450 de los pocillos E1 y F1 (DO blanco).
- Se calculó el promedio de DO450 corregido de todas las muestras restando la DO blanco.
- Se calculó el promedio de DO450 corregido de los pocillos A1 y B1 (=DO Max corregida).
- Se calculó la positividad porcentual (PP) de la referencia 2 (Control negativo) y de las muestras del ensayo según la siguiente formula.

$$PP = \frac{DO450 \text{ corregida de la muestra del ensayo}}{DO \text{ max corregida}} \times 100\%$$

G. Criterios de Validación

- El promedio de DO (450 nm) de la referencia 3 (blanco) debe ser $\leq 0,300$.
- Promedio de la DO (450 nm) corregida de la referencia 1 (control positivo) debe ser $\geq 0,800$.
- El porcentaje de positividad de la referencia 2 (control negativo) debe ser menor al 30%.

H. Interpretación de la prueba

- $PP \geq 30\%$ (positivo), hay antígeno de VDVB presente en la muestra del ensayo.
- $PP < 30\%$ (negativo), no hay ningún antígeno detectable presente en la muestra del ensayo.

6.3.6. Determinación de la prevalencia

La prevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) se obtuvo en base a las muestras positivas determinadas por serología (ELISA indirecta), utilizando la siguiente fórmula:

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

Donde:

S = Seroprevalencia de la enfermedad.

C = Número total de casos nuevos.

N = Total de animales evaluados.

6.3.7. Determinación del intervalo de confianza.

El intervalo de confianza para la seroprevalencia se calculará mediante la fórmula:

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

Donde:

Z = Desviación con relación a una distribución normal estándar.

P = Proporción de animales positivos del VDVB.

q = Proporción de animales no afectados.

n = Tamaño de la muestra definitiva.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), en vacunos hembras de la raza brown swiss

7.1.1. Determinación cualitativa de la presencia de anticuerpos del VDVB en vacunos de la comunidad Sausaya

A partir de la observación cualitativa de la reacción final, se consideraron positivos los pocillos que no presentaron coloración y negativos aquellos con coloración amarillo intenso. En consecuencia, se identificaron 42 vacunos positivos y 67 vacunos negativos en la comunidad campesina de Sausaya, ver (Figura 12)

Figura 13. Placa ELISA con resultados cualitativos para anticuerpos del VDVB en la comunidad de Sausaya

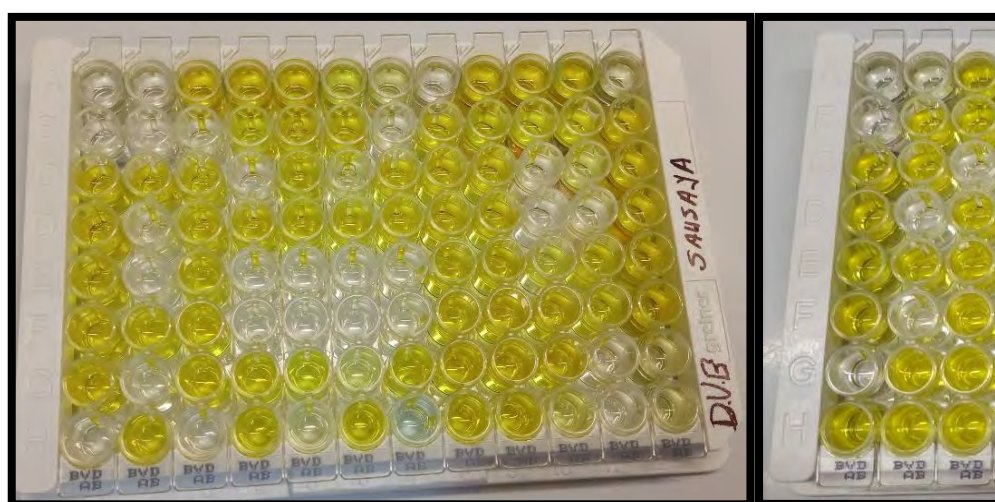


Tabla 8. Resultado cualitativo para el VDVB de la comunidad de Sausaya -
Checca

Comunidad de Sausaya	
Coloración	Cantidad
Incoloro (Positivo)	42
Amarillo (Negativo)	67
Total	109

Fuente: Elaboración propia.

En las Tablas 9 y 10 se presenta la prevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en la comunidad de Sausaya. De un total de 109 vacunos hembras evaluadas, 42 animales resultaron positivos, lo que evidencia una exposición previa al agente viral. Estos resultados sugieren la circulación del VDVB en la población bovina de la comunidad, constituyendo un riesgo sanitario relevante que podría impactar negativamente en la productividad y en el desempeño reproductivo del hato.

7.1.2. Determinación cuantitativa de la presencia de anticuerpos contra el VDVB

Con las lecturas de densidades ópticas, se validó el ensayo y se realizaron los cálculos correspondientes para determinar los porcentajes M/N, mediante la cual se determinó si las muestras son positivas o negativas (ver tabla 9).

Tabla 9. Porcentaje M/N de las muestras analizadas para determinar la presencia de anticuerpos contra el VDVB de la comunidad de Sausaya, placa I

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	3,86	3,86	98,56	104,44	95,69	30,20	13,92	4,58	100,13	93,73	94,77	7,12
B	3,20	3,27	5,29	45,49	96,60	101,31	6,60	94,05	86,60	54,31	56,86	104,71
C	99,28	95,49	84,44	3,53	90,98	10,65	93,86	95,75	92,61	5,95	18,17	99,15
D	100,72	13,60	98,24	96,99	93,53	99,54	97,91	99,54	96,41	5,49	8,30	99,67
E	92,81	5,23	91,70	3,92	4,84	3,79	4,25	93,60	95,56	26,47	70,72	99,80
F	96,28	93,79	97,65	4,51	3,60	4,12	5,56	94,97	95,56	87,78	63,73	99,48
G	95,03	5,10	90,98	88,30	65,43	16,99	90,92	98,56	92,81	96,47	5,82	12,09
H	5,03	84,18	3,99	83,73	9,28	95,10	14,97	91,11	85,69	19,28	4,84	13,79

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10. Porcentaje M/N de las muestras analizadas para determinar los anticuerpos contra el VDVB de la comunidad de Sausaya, placa II

	1	2	3
A	5,94	6,67	99,06
B	6,35	100,9	80,52
C	103	103,9	8,33
D	96,98	7,08	99,38
E	100,8	102,6	102,1
F	107,1	6,77	
G	14,9	102	
H	104,2	109,4	

Fuente: Elaboración propia.

En las Tablas 9 y 10 se presentan los valores porcentuales M/N correspondientes a los controles negativos, controles positivos y muestras evaluadas. De acuerdo con los criterios de interpretación, los valores menores o iguales al 40 % se consideraron positivos, mientras que los valores mayores o iguales al 50 % se clasificaron como negativos. En consecuencia, en el presente

estudio se identificaron 42 muestras positivas a anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), lo que evidencia la prevalencia y circulación del virus en la comunidad campesina de Sausaya.

7.1.3. Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la comunidad campesina de Sausaya

La seroprevalencia se determinó en función a los vacunos seropositivos a anticuerpos del virus de la Diarrea Viral Bovina (ver tabla 11).

Tabla 11. Seroprevalencia de anticuerpos contra el VDVB en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la comunidad de Sausaya

Categoría	Número de Muestras	Vacunos Positivos	Seroprevalencia (%)
Vacas	75	32	42.67 ± 0.10%
Vaquillas	22	8	36.36 ± 0.18%
Terneras > a 6 Meses	14	2	1.28 ± 0.16%
Total	109	42	38.53 ± 0.08%

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 11 se evidencia que la seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la comunidad campesina de Sausaya fue de 38,53 ± 0,082 %, lo que corresponde a 42 animales seropositivos de un total de 109 evaluados. Este resultado confirma la exposición previa al agente viral y

demuestra la circulación del VDVB en la población bovina de la comunidad, constituyéndose en un problema sanitario de importancia.

Por consiguiente, confrontar los resultados del presente estudio con otros trabajos realizados a nivel internacional, se evidencian diferencias y similitudes relevantes. En este sentido, Roldán (2023), en la región de La Laguna, México, evaluó 390 muestras bovinas, de las cuales 47 resultaron positivas al virus de la diarrea viral bovina, lo que representó una prevalencia de 12,05 %. Este valor, aunque evidencia la circulación del VDVB en dicha región, es relativamente bajo en comparación con otros reportes internacionales, lo que sugiere la posible aplicación de mejores prácticas sanitarias o una menor presión de infección en los hatos evaluados.

De manera similar, Pacheco (2022) reportó una prevalencia de 31,52 % (58/184) de animales positivos al VDVB, valor que, si bien confirma la presencia del virus en la población bovina estudiada, se mantiene dentro de rangos moderados en comparación con estudios que reportan prevalencias superiores al 50 %. Estos resultados coinciden con lo observado en el presente estudio, donde la seroprevalencia detectada fue de 38,53 %, lo que evidencia que el VDVB se encuentra presente en distintos sistemas productivos, aunque con variaciones asociadas a factores epidemiológicos y de manejo.

En conjunto, los estudios realizados por Roldán (2023) y Pacheco (2022), al igual que otros reportes internacionales, confirman que el virus de la diarrea viral bovina es una enfermedad de distribución mundial, con prevalencias variables según la región y las condiciones de manejo del ganado. Esta situación refuerza la necesidad de implementar estrategias de prevención y control sostenidas, incluso en zonas donde la prevalencia es considerada baja o moderada, ya que la

introducción del virus puede generar importantes pérdidas productivas y reproductivas.

En este contexto, los resultados obtenidos en la comunidad de Sausaya adquieren relevancia, ya que permiten ubicar la situación sanitaria local dentro del panorama epidemiológico internacional, evidenciando que, si bien la seroprevalencia detectada no es elevada en comparación con otros estudios, el VDVB continúa representando un riesgo latente para la producción ganadera, lo que justifica la adopción de medidas preventivas basadas en experiencias nacionales e internacionales.

Así mismo, al comparar los resultados del presente estudio con investigaciones previas realizadas en la región Cusco, se observa que la seroprevalencia encontrada es inferior a la reportada por Chara (2021) en las comunidades de Cullcutaya y Pumathalla, distrito de Kunturkanki, y por Valdez et al. (2018) en los distritos de Ancahuasi, Zurite, Anta, Cachimayo y Huaroscondo (provincia de Anta), quienes mediante la prueba de ELISA reportaron prevalencias de 77,8 % y 51,44 %, respectivamente. Estas diferencias sugieren una mayor diseminación del virus en dichas zonas, posiblemente asociada a un manejo sanitario deficiente, mayor densidad animal o ausencia de programas de control.

De manera similar, Villafuerte (2017) en la comunidad de Vista Alegre, distrito de Santo Tomás, y Anco (2016) en las comunidades de Sihuincha y Añahuichi, distrito de Chamaca, provincia de Chumbivilcas, utilizando la técnica de ELISA, reportaron una prevalencia e incidencia de $71,74 \pm 0,08$ % y 61,29 %, respectivamente. Estos valores, significativamente superiores a los del presente estudio, evidencian que dichas áreas presentan un alto grado de contaminación viral, probablemente debido

a la presencia de animales persistentemente infectados (PI), los cuales representan la principal fuente de mantenimiento y diseminación del VDVB en los hatos bovinos.

Por otro lado, Cárdenas et al. (2011), en la cuenca de Ccañipia, provincia de Espinar–Cusco, utilizando la prueba de neutralización viral, reportaron una prevalencia de $56,2 \pm 4,8 \%$, valor superior al encontrado en Sausaya. Esta diferencia podría atribuirse al método diagnóstico empleado, ya que la prueba de neutralización viral presenta menor sensibilidad y especificidad en comparación con la técnica de ELISA, ampliamente utilizada en estudios epidemiológicos por su mayor capacidad de detección de anticuerpos.

Asimismo, Mamani (2023), en el centro poblado de Yucay, distrito de Yucay–Cusco, mediante la prueba de ELISA, reportó una prevalencia de $43,9 \%$, valor ligeramente superior al obtenido en el presente estudio. Estos resultados refuerzan la necesidad de implementar medidas de prevención y control, tales como la identificación y eliminación de animales PI, el control del movimiento de animales y la aplicación de programas de vacunación, con el fin de reducir las pérdidas productivas y reproductivas asociadas a esta enfermedad.

En conclusión, los resultados obtenidos mediante la prueba de ELISA indirecta en la comunidad de Sausaya, distrito de Checca, provincia de Canas, departamento de Cusco, confirman la existencia de seroprevalencia de anticuerpos contra el VDVB, con un valor de $38,53 \pm 0,081 \%$. Este hallazgo indica que la enfermedad podría incrementarse progresivamente, debido a la ausencia de medidas sistemáticas de control y prevención. Si bien el diagnóstico serológico es una herramienta fundamental para la detección de anticuerpos y antígenos del VDVB, su uso se limita principalmente a estudios de investigación, sin ser incorporado de

manera rutinaria en los programas sanitarios de los productores ni en las estrategias de control implementadas por las autoridades competentes.

7.2. Prevalencia de los animales persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza brown swiss

7.2.1. Determinación cualitativa de la presencia de antígenos contra el VDVB en vacunos de la comunidad Sausaya

Las muestras de suero evaluadas como negativas no mostraron reacción, comportándose de manera similar a los controles negativos de la placa ELISA, lo que indica la ausencia de antígenos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en los sueros analizados.

En la observación cualitativa de la reacción final, se evidenció que los controles positivos presentaron una coloración amarillo intenso, mientras que los controles negativos no desarrollaron coloración. No se detectaron muestras positivas en la primera prueba de detección de antígenos del VDVB en la comunidad campesina de Sausaya; en consecuencia, no fue necesario realizar la prueba confirmatoria y/o (reprueba).

Figura 14. Resultados cualitativos para antígenos del VDVB en la comunidad de Sausaya

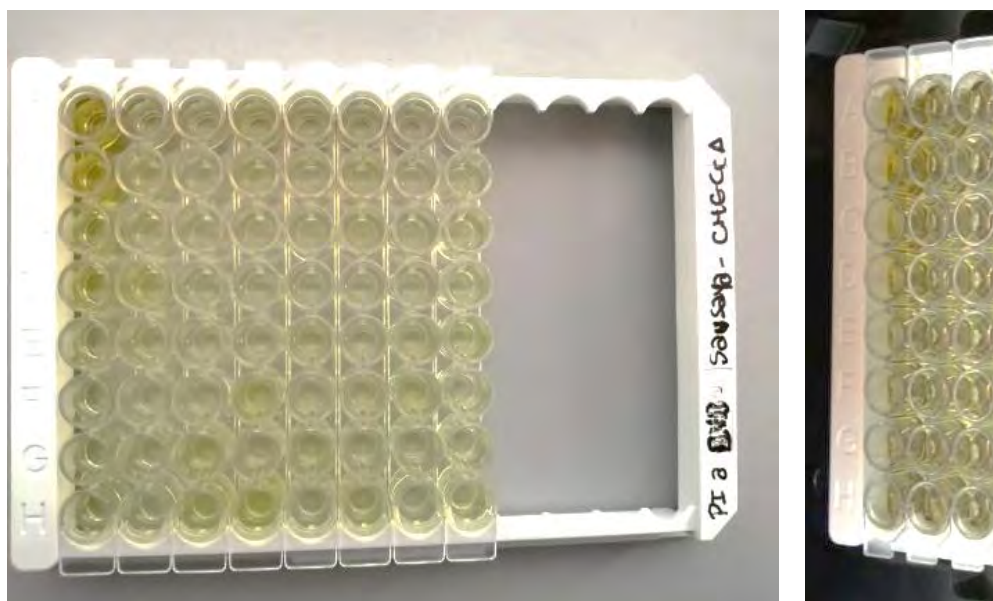


Tabla 12. Resultado cualitativo para antígenos de la Diarrea Viral Bovina (DVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss de la comunidad de Sausaya

Comunidad de Sausaya	
Coloración	Cantidad
Amarillo (Positivo)	0
Incoloro (Negativo)	67
Total	67

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 12 se presentan los resultados cualitativos de las muestras evaluadas, correspondientes a un total de 67 sueros negativos para antígenos del

virus de la diarrea viral bovina (VDVB). En consecuencia, no se identificaron vacunos en fase de infección aguda ni animales portadores del virus en la población evaluada.

7.2.2. Determinación cuantitativa de la presencia de antígenos contra el VDVB por el lector de microplacas de ELISA

A partir de los valores de densidad óptica de los controles positivos y negativos, se procedió a la validación del ensayo, realizándose posteriormente los cálculos correspondientes para la determinación de los porcentajes P/P, mediante los cuales se estableció el diagnóstico positivo o negativo de las muestras evaluadas (ver Tabla 13).

Tabla 13. Porcentaje P/P de las muestras analizadas para determinar los antígenos de la diarrea Viral Bovina (DVB) de la comunidad de Sausaya, placa I

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	101,85	-7,94	-10,04	-8,84	-8,24	-5,05	-8,44	-4,55
B	98,15	-9,74	-10,34	-3,15	-8,94	-9,84	-10,54	-1,85
C	18,33	-5,84	-11,14	-9,84	-8,44	-6,94	-10,84	-0,55
D	17,03	-11,84	-13,54	-11,34	-10,64	-4,65	-9,04	-5,94
E	0,25	-9,64	-12,04	-11,84	-9,64	-10,04	-8,34	-5,94
F	-0,25	1,95	-13,84	-12,84	-3,75	-7,94	-9,74	
G	-3,15	-1,35	-10,64	-11,44	-10,74	-8,74	-8,64	
H	-7,24	-8,04	-6,84	-6,44	-3,55	-7,54	-4,65	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14. Porcentaje P/P de las muestras analizadas para determinar los antígenos de la diarrea Viral Bovina (DVB) de la comunidad de Sausaya, placa II

	1	2	3
A	102,93	1,69	2,04
B	97,07	1,24	6,66
C	19,98	-3,11	
D	19,45	-1,33	
E	-2,49	11,72	
F	2,49	3,38	
G	-0,18	-1,33	
H	1,07	1,78	

Fuente: Elaboración propia.

En las Tablas 13 y 14 se presentan los porcentajes P/P correspondientes a los controles negativos, controles positivos y muestras evaluadas. De acuerdo con los criterios de interpretación establecidos, los valores iguales o mayores al 20 % se consideraron positivos, mientras que los valores menores al 20 % fueron clasificados como negativos. En consecuencia, en el presente estudio no se identificaron muestras positivas para antígenos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB).

7.2.3. Seroprevalencia de antígenos del VDVB de la comunidad de Sausaya

Al realizar el ensayo de detección de antígenos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), no se identificaron vacunos positivos en la primera prueba, por lo que no fue necesario efectuar la reprobación. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Prevalencia de vacas hembras de la raza Brown Swiss persistentemente infectados (PI) con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en la comunidad de Sausaya

Categoría	Muestras	Positivo	Seroprevalencia %
Vacas	42	0	0.00 ± 0.00
Vaquillonas	13	0	0.00 ± 0.00
Terneritas > a 6 Meses	12	0	0.00 ± 0.00
Total	67	0	0.00 ± 0.00

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 15 se presentan los resultados del análisis realizado a 67 muestras seronegativas, las cuales fueron evaluadas mediante la prueba de ELISA indirecta para la detección de antígenos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB). Los resultados obtenidos evidencian una seroprevalencia de antígenos de 0,00 % (0/67), lo que indica que no se identificaron animales persistentemente infectados (PI) en la población bovina evaluada de la comunidad campesina de Sausaya. Este acierto sugiere que, al momento del estudio, no existe presencia de animales PI en dicha comunidad, los cuales constituyen la principal fuente de diseminación y mantenimiento del VDVB en los hatos ganaderos.

La ausencia de animales PI en la comunidad de Sausaya representa un aspecto epidemiológico favorable, ya que estos animales eliminan el virus de manera continua y desempeñan un rol clave en la transmisión horizontal y vertical de la enfermedad. No obstante, este resultado no descarta la circulación previa del virus,

considerando la seroprevalencia de anticuerpos detectada en el presente estudio, la cual evidencia una exposición anterior al VDVB.

Por consiguiente, al comparar los resultados del presente estudio con investigaciones realizadas a nivel internacional, se observa lo reportado por Buitrago (2015), quien evaluó 930 terneras menores de un año en 31 fincas, diagnosticándose 7 animales persistentemente infectados (PI), lo que representó una prevalencia de 0,8 % y una frecuencia de fincas afectadas del 22,6 %. Dichos resultados, aunque bajos en términos porcentuales, confirman la presencia del VDVB en sistemas productivos bovinos, incluso cuando la prevalencia de animales PI es reducida. El autor priorizó la evaluación de animales con antecedentes clínicos y reproductivos, especialmente aquellos provenientes de madres con historial de abortos, diarreas recurrentes y otros signos compatibles con infección por VDVB, lo que incrementó la probabilidad de detección de animales PI. En contraste, en el presente estudio no se identificaron animales persistentemente infectados en la comunidad de Sausaya, lo cual podría explicarse por diferencias en los criterios de selección de los animales muestreados, el momento epidemiológico del muestreo, así como por las condiciones de manejo y bioseguridad propias de cada sistema productivo.

Al comparar estos resultados con lo reportado por Villafuerte (2017), quien encontró una prevalencia de animales PI de $15,38 \pm 0,05$ % (4/26) en la comunidad de Vista Alegre, distrito de Santo Tomás, provincia de Chumbivilcas–Cusco, se observa una diferencia significativa, siendo los valores reportados por dicho autor muy superiores a los del presente estudio. Esta discrepancia podría explicarse por

diferencias en las dinámicas de manejo sanitario, la presencia activa de animales PI en dicha zona, así como por el movimiento frecuente de animales entre comunidades.

En el caso de la comunidad de Sausaya, es posible que los vacunos seropositivos hayan adquirido la infección por contacto con animales procedentes de comunidades aledañas, dado que los productores suelen trasladar sus animales entre distintas áreas de pastoreo y, en algunos casos, transportarlos a ferias agropecuarias regionales e interdistritales, lo que incrementa el riesgo de exposición al virus. Sin embargo, la no detección de antígenos en el presente estudio indica que dichas infecciones no derivaron en la generación de animales PI, lo cual podría estar relacionado con la edad de infección, el estado inmunológico de las hembras o la ausencia de infecciones durante el periodo crítico de gestación.

En conclusión, los resultados obtenidos en la comunidad de Sausaya evidencian la ausencia de animales persistentemente infectados por el VDVB, lo cual constituye una oportunidad estratégica para la implementación de programas de prevención y control, orientados a evitar la introducción del virus mediante el control del movimiento animal, el monitoreo serológico periódico y la aplicación de medidas de bioseguridad. La adopción temprana de estas acciones permitiría preservar el estatus sanitario del hato bovino, reducir el riesgo de brotes futuros y minimizar las pérdidas productivas y reproductivas asociadas a la diarrea viral bovina.

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

8.1. CONCLUSIONES

- Existe presencia de anticuerpos del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en vacunos hembras de la raza Brown Swiss con un $38.53 \pm 0.08\%$, en la comunidad de Sausaya, esto nos indica que existe enfermedad.
- No existe animales Persistentemente Infectados (PI) 0% con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en las vacas hembras de la raza Brown Swiss evaluadas.

8.2. RECOMENDACIONES

- Realizar en su totalidad las evaluaciones serológicas para la detección de anticuerpos del VDVB en vacunos hembras de la raza Brown Swiss para erradicar la enfermedad VDVB, así mismo, realizar la compra y aplicación de pajillas de semen procedentes de toros certificados.
- Realizar evaluaciones serológicas para la detección de antígenos del virus de la DVB a nivel comunal y comunidades aledañas, para identificar y eliminar a los portadores del virus.

IX. REFERENCIA

- Aguilar R., 2006.** Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de Lima, Tesis para optar el Título Profesional de Médico veterinario, facultad de medicina veterinaria Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Álvarez S; Rivera H; Pezo D; García W. 2002.** Detección de anticuerpos contra Pestivirus en Rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. Rev. Investig. Vet. Perú. 13 (1): 46 - 51. [Internet]. Disponible link: <https://doi.org/10.15381/rivep.v13i1.1705>.
- Anco M. 2016.** Incidencia de la Diarrea Viral Bovina en vacas de las comunidades de Sihuincha y Añahuichi del distrito de Chamaca provincia de Chumbivilcas - tesis para optar el grado de ingeniero agropecuario - FCA - Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Barrientos, C. 2002.** Presencia de Anticuerpos Neutralizantes contra el Virus de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en Sueros Bovinos de 4 Predios de la IX Región. Tesis, Universidad de Temuco- Chile.
- Baule, C., Kulcsár, G., Belák, K., Albert, M., Mittelholzer, C., Soós, T., Kucsera, L., & Belák, S. (2001).** Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic clúster of bovine viral diarrhea virus type I
- Becher P; Orlich M; Thiel HJ. 2000.** Mutations in the 5' nontranslated region of bovine viral diarrhea virus result in altered growth characteristics. J Virol 74 (17): 7884 - 7894.
- Becher, P. Moennig, V., & 2018.** Control of bovine viral diarrhea. Pathogens, 7(1). <https://doi.org/10.3390/pathogens7010029>

- Benito A; Chacón J; Rivera H. 2001.** Técnicas diagnósticas disponibles para el estudio de la diarrea viral bovina en el Perú. Rev. Inv. Vet. Perú. 1: 387 - 389.
- Berrios, P. 2015.** Diarrea Viral Bovina: Enfermedad de las mil caras. Journal Article, 231 - 237.
- Bolin SR; Grooms DL. 2004.** Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. Vet. Clin Food Anim 20: 51 - 68.
- Brock KV. 2004.** Strategies for the control and prevention of bovine viral diarrhea virus. Vet. Clin. Food. Anim 20: 171 - 180.
- Buitrago E. 2015.** Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infectados con el virus de Diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá - tesis presentado como requisito parcial para optar al título de Magister en Salud Animal – Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Nacional de Colombia. <https://bffrepositorio.unal.edu.co/server/api/core/bitstreams/db409923-4f4d-4341-b847-36dd0a554106/content>
- Cabello K; Quispe R; Rivera H. 2006.** Frecuencia de los virus Parainfluenza - 3, respiratorio sincitial y diarrea viral bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina de Cusco. Rev. Inv. Vet. Perú 17(2): 167 - 172. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/1535/1315>
- Campbell JR. 2004.** Effect of bovine viral diarrhea virus in the feedlot. Vet Clin Food Anim 20: 39 - 50.
- Cárdenas Cesar; Rivera Hermelinda; De Paz Jimmy. 2011.** Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y de animales portadores del virus en bovinos en la provincia

de Espinar, Cusco. Rev. Investig. Vet PERU. V. 23 (3): 261 - 267.
<https://www.redalyc.org/pdf/3718/371838856012.pdf>

Cauti, S. M. 2002. Detección de Terneros con Infección Congénita con el Virus de la Diarrea Viral Bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. (Tesis de Grado). Universidad Nacional de San Marcos, Lima.

Chacón J; Benito A; Rivera H. 2003. Detección de animales portadores del virus de la diarrea viral bovina en un establo vacunado y en otro sin vacunar del Valle de Lima. Rev. Acad. Perú Cienc. Vet. 3(1): 14 - 23.

Chara Ch. 2021. Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina y rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado vacuno en las comunidades de Cullcutaya Y Pumathalla del distrito de Kunturkanki, Canas – Cusco 2021.

Contreras, O., K. Stahl, C. Arana, H. Rivera, 2000. Anticuerpos Contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina en Muestras de Leche de Bovinos del Valle de Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo) Rev. inv. Perú 12(2): 167 -122.

Contreras. 2000. Prevalencia del VDVB en la cuenca lechera del valle del Mantaro. Rev. Inv. Pec. IVITA.

Corrales JC, Sanjuán ML, García C 2001. Epidemiología e importancia económica de la diarrea vírica bovina. Patología Infecciosa y Epizootiología. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela. Ciencias Veterinarias.

Corrales JC. Y S. García 2003. Epidemiología e Importancia Económica de la DVB. Info. Vet. Ciencias V. FEBOL, p.p. 1-30.

Cotrino A, 2003. Origen de la enfermedad de la Diarrea Viral Bovina (DVB). Actualización en IBR y DVB, aspectos moleculares epidemiológicos y de control Universidad Nacional de Colombia.

Daniel W, 1996. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud 3^{ra} Ed.
Pag 198 – 206. Limusa. México.

Diccionario Nacional de Cáncer [internet]. Disponible en:
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/buscar/antigeno/?searchMode=Begins>. Sacado 20-04-2025.

Flores EF; Gil LH; Botton SA; Ridpath JF; Wendelstein A. 2000. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. Vet Microbiol 77: 175 - 183.

Fulton RW; Ridpath JF; Confer AW; Saliki JT. 2000 - 2003. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. Biologicals 31: 89 - 95.

Gard J A.; Givens MD.; Stringfellow DA., 2007. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): epidemiologic concerns relative to semen and embryos. Theriogenology, v. 68, n. 3, p. 434-42.

Giraud, J. A., 2000. Diarrea Viral Bovina. Jornada sobre enfermedades emergentes del Bovino. Universidad Nacional De Rio Cuarto, Córdoba.

Gogorza L.m., Moran P.E., Larghi J.L, Iglesias M.A. y Perez A 2001. Vacunacion contra la Diarrea Viral Bovina; y limitaciones. Departamento de virologia y Sanidad Animal:FCV UNCPBA 4-15.

Gonzales K, 2016. Estudio de la prevalencia de diarrea viral bovina en ganaderías del Cantón Saraguro, provincia de Loja” tesis presentada al tribunal de grado como requisito, previo a la obtención del título de médico veterinario zootecnista, carrera de medicina veterinaria y zootecnista, Universidad Nacional de Loja- Ecuador.

Goyal SM; Ridpath JF. 2005. Bovine Viral diarrhoea virus. Diagnosis, management, and control. Blackwell Publishing - USA, 260 pp.

- Gripshover EM; Givens MD; Ridpath JF. 2007.** Variation in *E^{ms}* viral glycoprotein associated with failure of immunohistochemistry and commercial antigen capture ELISA to detect a field strain of bovine viral diarrhea virus. Vet. Microbiol 125: 11 - 21.
- Grooms DL. 2004.** Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. Vet. Clin Food Anim 20: 5 - 19.
- Hilbe M., E. Stalder, M. Peterhans, Haessig M. Nussbaumer, C. Egli, Schelp, K Zlinszky And F. Ehrensperger 2007.** Comparison of five Diagnostic Methods for Detecting Bovine Viral Diarrhea Virus Infection in Calves. J Vet Diagn. Invest. 19:28-34.
- Houe H. 2003.** Economic impact of BVDV infection in dairies. Biologicals 31: 137 - 143.
- Houe H; Lindberg A; Moenning V. 2006.** Test strategies in bovine viral diarrhea virus control and eradication campaigns in Europe. J Vet. Diagn. Invest. 18: 427 – 436.
- Huacasi, B. 2018.** Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) y Diarrea Viral Bovina (DVB) en Vacunos Brown Swiss de la Comunidad de Huisacollana del distrito de Yauri- Espinar - Cusco, Tesis para Optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista UNA –Puno, Perú.
- Huamán Juan C; Rivera Hermelinda; Araínga Mariluz; Manchego Alberto. 2007.** Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche de la irrigación de Majes, Arequipa. Rev. Investig. Vet. Perú. 18 (2): 141 - 149.
- Idexx Laboratories, 2016.** Kit para la detección de anticuerpos.
- Iqbal M; Flick - Smith H; Mccauley W. 2000.** Interactions of bovine viral diarrhea virus glycoprotein *E^{ms}* with cell surface glycosaminoglycans. J Gen Virol 81: 451 - 459.

- Johnson CM; Perez DR; French R; Merrick WC; Donis RO. 2001.** The NS5A protein of bovine viral diarrhoea virus interacts with the subunit of translation elongation factor - 1. J Gen Virol 82: 2935 - 2943.
- Laboratorio LIFE Technologies, 2016.** Kit para la detección de antígenos.
- Lackner, T.; Müller, A.; Pankraz, A.; Becher, P.; Thiel, H. J.; Gorbalenya, A. E.; Tautz, N. 2004.** Temporal modulation of an autoprotease is crucial for replication and pathogenicity of an RNA virus. J. Virol. 78: 10765-10775.
- Lanyon, S. R., Hill, F. I., Reichel, M. P., & Brownlie, J. 2013.** Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. Veterinary Journal (London, England: 1997), 199(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.024>
- Laura E, Cifuentes Y, Laura S, Hurtado Ibáñez A. 2019.** Factores asociados a la presentación de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos.
- Lértora W.J. 2003.** Diarrea Viral Bovina: Actualización. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE Argentina. 1: 42-51. Martin S., A. Mekk, P. Willeberg y J. Tarazona 1997. Epidemiología Veterinaria: Principios y métodos. Zaragoza (España). Acribia.
- Lértora WJ. 2003.** Diarrea Viral Bovina; actualización Rev Vet 14 (1): 42 - 50. https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/34-diarrea_viral_bovina.pdf
- Leyssen P; De Clerco E. 2000.** Perspectives for the treatment of infections with Flaviviridae. Clin Microbiol Rev. 13 (1): 67 - 82.
- LI Y; McNally J. 2001.** Characterization of RNA synthesis and translation of bovine viral diarrhoea virus (BVDV). Virus Genes 23 (2): 149 - 155.

- Lindenbach, B. D.; Rice, C. M. 2001.** Flaviviridae: the viruses and their replication, p. 991-1042. In D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. Martin A., Roizman B., and Straus S. E. (ed.), Fields virology, 4th ed., vol. 1. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- Mainar - Jaime RC; Berzal - Herranz B; Arias P. 2001.** Epidemiological patten and risk factors associated with bovine viral - diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. Prev Vet. Med 52: 63 - 73.
- Makoschey B, Becher P, Orlich M, Thiel HJ, Lutticken D. 2004.** Bovine viral diarrhea virus with deletions in the 5'-nontranslated region: reduction of replication in calves and induction of protective immunity. Vaccine; 22:3285-3294.
- Mamani Y, 2023.** prevalencia de la diarrea viral bovina (dvv) y de bovinos persistentemente infectados (pi) en el centro poblado yucay, distrito yucay, cusco Para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista- Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Manrique G., 2002.** Aborto Viral. Medicina A de la Producción. LABVETSUR Año 1 No 1, Julio 2002.
- Manual de Merck. 2006.** Biología de Sistema inmunitario. Sexta Edición.
- Martínez Carlier P, Riveira Santos I. 2008.** Antecedentes, generalidades y actualización en aspectos de patogénesis, diagnóstico y control de la diarrea viral Bovina (DVB) y rinotraqueitis infecciosa Bovina (IBR). [Tesis Titulo]. Bogotá: Facultad de Ciencias, Pontificia universidad Javeriana. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis122.pdf>
- Maurer K; Krey T; Moennig V; Rumenapf T. 2004.** CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhea virus. J Virol 78 (4): 1792 - 1799.

MINAGRI. (2017). Plan Nacional de Desarrollo Ganadero 2017-2027 (p. 60).

Mex Seguro Soc 2005. Factores que intervienen en la relación antígeno-anticuerpo y clasificación antigénica eritrocitaria. Rev Med Inst. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051c.pdf>

Moennig V; Eicken K; Flebbe U; Grummer B; Liess B. 2005. Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (vDVB). Prev. Vet. Med 72: 109 – 114.

Morales S; Benito A; Rivera H. 2002. Terneros persistentemente infectados con el virus de la Diarrea Viral Bovina en dos hatos lecheros de la Provincia de Arequipa. Red Acad. Perú Cienc. Vet 3(1): 8 - 13.

Morales, C. 2001. Detección de terneros con infección congénita con el virus de la Diarrea Viral Bovina en hatos lecheros de la Provincia Arequipa. Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario- UNMSM.

Morales, S., A. Benito, H. Rivera. 2001. Terneros Persistentemente Infectados con el Virus de la Diarrea Viral Bovina en Dos Hatos Lecheros de la Provincia de Arequipa. Rev. Acad. Perú. Cienc. Vet. 3: 8-13.

Moran P; DI Santo M; Gogorza L. 2006. Transmisión del virus de la diarrea viral bovina. Factores de riesgo en el ingreso y diseminación en los rodeos. Rev. Vet. 17(1): 50 - 56.

Muñoz – Zanzi, C; W. Johnson; M. Thumond; S. Hietala. 2000. Pool – Sample Testing as a Herd – Screening tool for Detection of Bovine Viral Diarrhea Virus Persistently Infected Cattle. J Vet Diagn Invest 12: 195-203.

Muñoz & Morente, 2009. obtención y procesado y almacenamiento de muestras de suero: red nacional de biobancos.

- Obando C., D. Ocanto, M. Hidalgo, J. Rodriguez, Y R. Durán, 2006.** Efecto de la Infección con los Virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina y Diarrea Viral Sobre la Reproducción en Bovinos no Vacunados. Vet. CENIAP-INIA.
- Obando CA; Rodríguez JM. 2005.** Diarrea Viral Bovina. Manual de ganadería de Doble Propósito. Pág. 317 - 322.
- OIE – Organización Mundial De Sanidad Animal, 2004.** Capítulo 2.10.6. Diarrea Vírica Bovina. Manual de la OIE sobre animales terrestres, pág.: 1127 – 1140.
- OIE. 2018.** Diarrea Viral Bovina. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los animales terrestres.
- Olivera Luis S. 2002.** Asesor técnico de GLORIA S.A “Diarrea Viral Bovina.
- Pacheco D. 2022.** Prevalencia de diarrea viral bovina (DVB) en bovinos de leche mediante análisis de ELISA competitivo – trabajo de titulación previo a la obtención del título de médico veterinario zootecnista – carrera de medicina veterinaria y zootecnia - Universidad Politecnica Salesiana – sede Cuenca.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/23776/1/UPS-CT010191.pdf>
- Paredes B. 2022.** Determinación de bovinos infectados con el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) En la parroquia San Pedro de Suma del Cantón el Carmen de la Provincia de Manabí - Ecuador. (Tesis de grado). Universidad Central Del Ecuador, Quito, Ecuador.
<https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/b7378782-0abd-425d-963c-80a2ceb831a0/content>
- Pedrerá M; Risalde M; Romero J; DA Silva A; Alexandre A. 2007.** Diarrea vírica bovina: etiología formas clínicas, distribución del virus y patogenia. Real Academia de Andalucía Oriental, Anales, vol. 20 Pág. 1 - 8.

- Pedrerá., R. R. 2008.** Diarrea Vírica Bovina: Etiología, Formas clínicas, Distribución del Virus y Patologías. Real Academia Veterinarias de Andalucía Oriental., 20(1), 135-158.
- Protocolo** (IDEXX Laboratories. 2021).
- Raymond G. 2002.** DVB Bovine Virus Diarrhea Virus, Veterinarian's Corner;2(9).
- Reinhardt V., Gemi A., Gonzales R., Stelia E., Babaic T., Nestor A., 2000.** Muestreo predial pequeño para predecir una infección activa por virus· diarrea viral bovina (VDVB) en planteles lecheros de la IX Región de Chile.
- Reinhardt V., Gemi A., Gonzales R., Stelia E., Babaic T., Nestor A., 2002.** Muestreo predial pequeño para predecir una infección activa por Virus Diarrea Viral Bovina (VDVB) en planteles lecheros de la IX Región de Chile.
- Ridpath J; Neill J; Peterhans E. 2007.** Impacto de la variación en la virulencia aguda de la cepa BVDV 1 en el diseño de mejores modelos de desafío de eficacia de vacunas. Vacuna; 25: 8058-66
- Ridpath J; Neill J; Vilcek S; Dubovi E; Carman S. 2006.** Múltiples brotes de BVDV agudo grave en América del Norte que ocurrieron entre 1993 y 1995 vinculados a la misma cepa de BVDV2. Microbiología veterinaria; 114: 196-204.
- Ridpath JF, 2000.** Virus DVB gentypes and biotypes. Practical implications for diagnosis and control. Biologicals 31: 127 - 131.
- Ridpath JF. 2003.** BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. Biologicals 31: 127 - 131.
- Ridpath JF; Neill JD; Vilcek S; Dubovi EJ. 2005.** Multiple outbreaks of severe acute BVDV in North America occurring between 1993 and 1995 linked to the same BVDV2 strain. Vet. Microbiol 114: 196 - 204.

- Rivera H. 2008.** Evolución del conocimiento sobre la enfermedad de la diarrea viral bovina y su agente etiológico. Rev. Inv Vet Perú 19(1): 93 -112.
- Rivera H., A. Benito, O. Ramos, A. Manchego. 2004.** Prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de la Estación Experimental de Trópico del centro de Investigaciones IVITA. Rev investing. Vet, Perú. vol.15, no.2, p.120-126.
- Rivera H; Valdivia L; Benito A. 2001.** Diarrea viral bovina en bovinos lecheros de crianza semi-intensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho. Rev. Inv. Vet. Supl 1: 380 - 381.
- Rivera. 2003.** Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y animales portadores del virus en un hato lechero del valle del Mantaro. Rev. Acad. Peru., Rev Inv Vet Peru 19 (1): 93-112.
- Roldan V. 2023.** Detección del virus de la diarrea viral bovina mediante transcriptasa y secuenciación a partir de muestras de sueros de bovinos provenientes de la cuenca lechera de la laguna. Tesis para optar el título de médico veterinario zootecnista – facultad de medicina veterinaria y zootecnia - universidad nacional autónoma de México.
- Rondón I. 2006.** Diarrea Viral Bovina: Patogénesis e inmunología. Rev. MVZ Córdoba. 11 (1): 694 - 704. <https://www.redalyc.org/pdf/693/69311103.pdf>
- Rufenacht J; Schaller P; Audige L; Peterhans E. 2001.** The effect of infection with bovine viral diarrhea virus on the fertility of swiss dairy cattle. Theriogenology. 56: 199 - 210.
- Saliki JT; Dubovi EJ. 2004.** Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. Vet. Clin. Food. Anim 20: 151 -169.
- Sandvik T. 2004.** Progress of control and prevention programs for bovine viral diarrhea virus in Europe. Vet Clin Food Anim 20: 151 - 169.

- Sandvik T. 2005.** Selection and use laboratory diagnostic assays in BVD control programmers. *Prev Vet Medicine*; 72: 3-16.
- Senamhi, 2015.** Es un organismo técnico especializado del estado peruano que brinda información sobre el pronóstico del tiempo, así como asesoría y estudios científicos en las áreas de hidrología, meteorología y asuntos ambientales.
- Sentsui H; Nishimori T; Kirisiwa R; Morooka A. 2001.** Mucosal disease induced in cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus by antigenically different cytopathic virus. *Arch. Virol* 146: 993 - 1006.
- Smith B. 1996.** Bovine virus diarrhea: mucosal disease: large animal internal medicine. Mosby Publications. Pp: 806 - 814.
- Soto A, 2010.** Trabajo de investigación realizado y Producción Carolina de la Universidad Nacional del Altiplano.
- Steward K. Introducción al ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas- Prueba ELISA. 2021.** Disponible en: <https://www.news-courier.com/analysis/articles/an-introduction-to-the-enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa-test-350024#D1>
- Suni, L. (2014).** Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina en la Cuenca Lechera del Distrito de Moquehua. Tesis Med. Vet. - UNA, Puno.
- Tajima M; Dubovi ED. 2005.** Genetic and clinical analyses of bovine viral diarrhea virus isolates from dairy operations in the United States of América. *J. Vet. Diagn Invest.* 17: 10 - 15.
- Valdez G, Pacheco P, Vergara A, Pinto L, Fernández B, Guzmán F, Rivera G. 2018.** Detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral en bovinos de la provincia de Anta, Cusco, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 2018; 29(4): 1500-1507.
- Valera A. 2007.** Microbiología Veterinaria (1ra edición) Buenos Aires, Argentina. pág. 447 - 450.

- Vargas, D., Jaime, J., & Vera. 2009.** Perspectivas para el control de el Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias., 22(4), 677-688.
- Vega R, G. B. (2008).** Anticuerpos. Medigraphic Artemisa En Linea, 136–138. Vega Robledo, G. B. (2009). Antígenos e inmunógenos. Revista Facultad Medicina UNAM, 52(1), 41–42.
- Vera V., Ramirez C., Villamil L., Moreno M., Jaime J. 2006.** Biología molecular, epidemiología y control de la Rinotraqueitis Bovina Infecciosa y de la Diarrea Viral Bovina. Edición Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Genética. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Villafuerte F, 2017.** Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina y animales persistentemente infectados en vacas hembras de la comunidad de Vista Alegre del distrito de Santo Tomás provincia de Chumbivilcas - tesis para optar el grado de ingeniero agropecuario - FCA - Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Young N, Thomas C, Thompson I, Collins M, Brownlie J. 2005.** Immune responses to non structural protein 3 (NS3) of BVDV in NS3 DNA vaccinated and naturally infected cattle. Prev Vet Med; 72: 115-120.
- Zacarías E., 2002** Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa en bovinos criollo de Parinacochas, Ayacucho. Rev. mv. Vet. (Perú) 13n. 2, Lima jul., dic.
- Zimmer GM; Wentink GH; Bruschke C; Westembrink FJ; Brinkhof J; De Goey I. 2002.** Failure of foetal protection after vaccination against an experimental infection with bovine virus diarrhoea virus. Vet. Microbiol 89: 255 - 265.

X. ANEXOS

Anexo 1. Cálculo, para tamaño de muestra, de la comunidad de Sausaya

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

Z: 1.75, nivel de confianza que se da a la muestra.

p: Variabilidad 0.5.

q: Variabilidad 0.5.

E: Precisión o error experimental 0.8% al 92%.

n: Tamaño de muestra.

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

$$n = \frac{1,235 (1.75)^2 (0.5) (0.5)}{(1,235 - 1) (0.08)^2 + (1.75)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = \frac{1,235 (3.0625) (0.25)}{(1,234) (0.0064) + (3.0625) (0.25)}$$

$$n = \frac{1,235 (0.7656)}{7.8976 + 0.7656}$$

$$n = \frac{945.5468}{8.6632}$$

$$n = 109.1452$$

$$n = 109$$

Anexo 2. Fotografías del procesamiento de muestras para la detección de anticuerpos por el método de ELISA para detectar anticuerpos del VDVB

Figura 15. Reactivos a temperatura ambiente de 18°C para la prueba de ELISA.

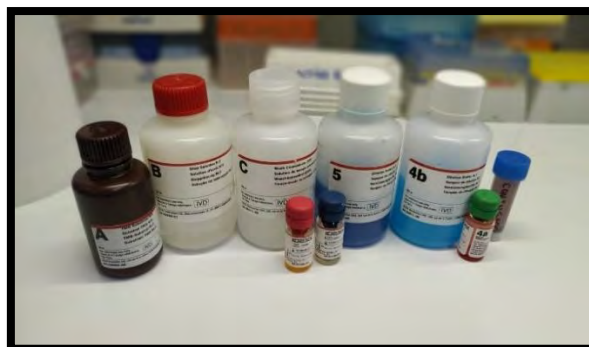


Figura 16. Muestras en descongelación a la temperatura ambiente de 18 °C.

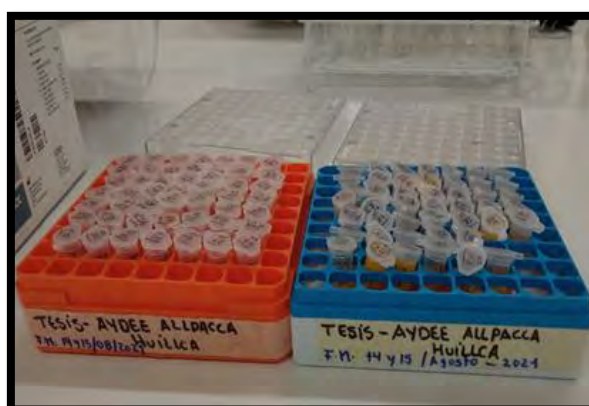


Figura 17. Adición de la solución tampón de dilución n° 9 a cada pocillo.

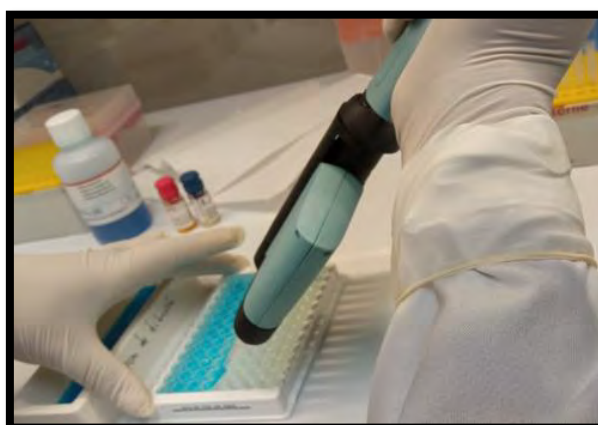


Figura 18. Incorporación de 50 μL de control negativo, positivo y muestras a todos los pocillos.



Figura 19. Incubación de las muestras cubiertas con cinta Parafilm a 26°C por 1 hora.



Figura 20. Primer lavado de los pocillos de la placa con 300 μ L de solución de lavado por 5 veces.



Figura 21. Adición de 100 μ L del conjugado en cada pocillo.



Figura 22. Incubación de la microplaca cubierta, por 30 minutos a 26°C.



Figura 23. Segundo lavado de la microplaca con 300 μ L de solución de lavado por 5 veces.

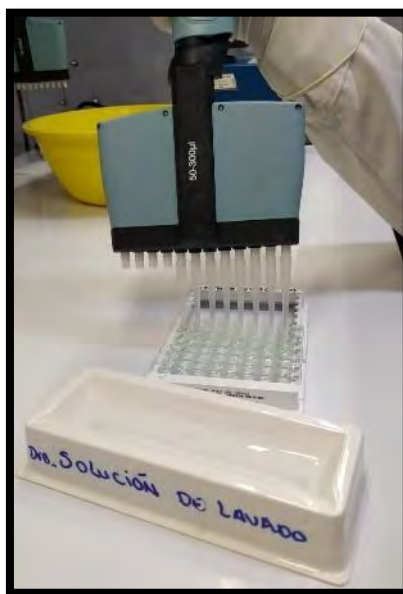


Figura 24. Transferencia de 100 μ L de sustrato TMB n° 9 a cada pocillo.



Figura 25. Transferencia de 100 μ L de solución de frenado n° 3 por cada pocillo para estabilizar la reacción.

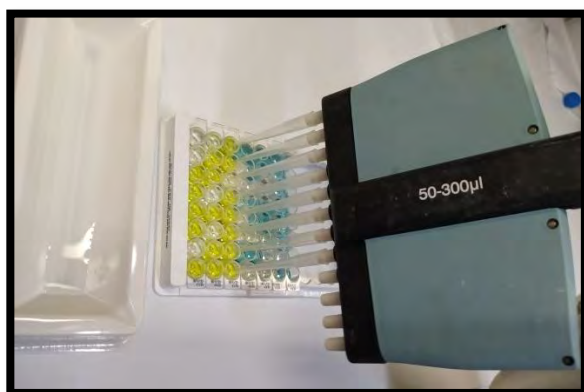


Figura 26. Lectura de la placa con el lector de densidad óptica a 450 nm de longitud de onda.



Anexo 3. Fotografías del procesamiento de muestras para la detección de antígenos por el método ELISA para antígenos de la Diarrea Viral Bovina (vDVB).

Figura 27. Adición de 50 μ L del tampón de dilución n° 6 a todos los pocillos.



Figura 28. Incorporación de las muestras a la placa ELISA.



Figura 29. Sellado de la placa e incubación la placa durante 60 minutos a 22 °C.



Figura 30. Primer lavado de los pocillos de la placa con 300 μ L por 6 veces.

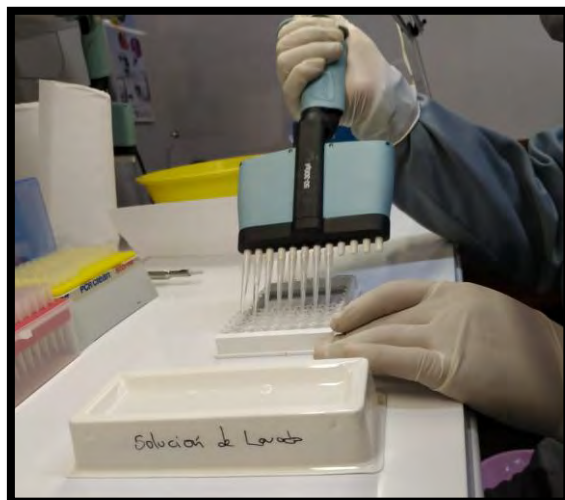


Figura 31. Transferencia de 100 μ L de conjugado diluido a todos los pocillos.

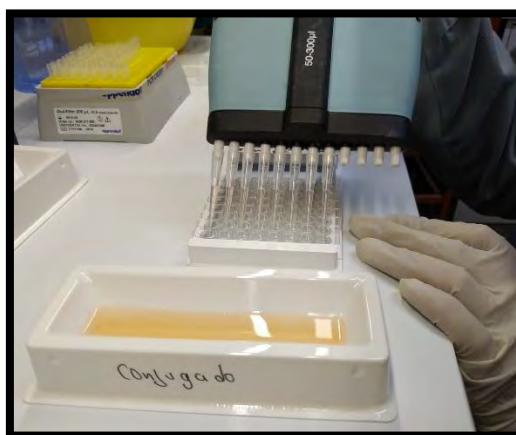


Figura 32. Incubación de placa por 15 minutos a 26°C.



Figura 33. Segundo lavado de los pocillos de la placa con 300 μ L por 6 veces.



Figura 34. Incorporación de 100 μ L de sustrato TMB e incubación a 26°C durante 15 minutos.

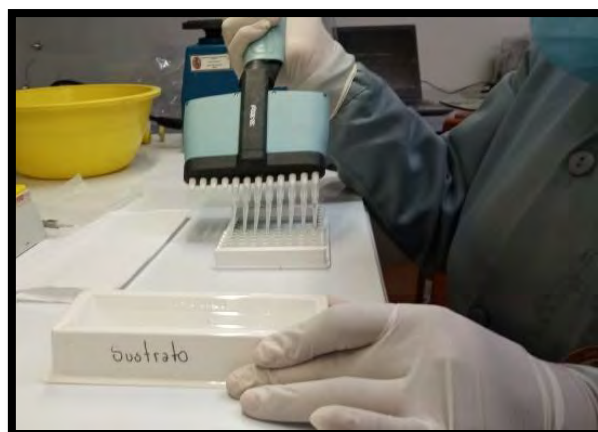


Figura 35. Transferencia de 100 μ L de la solución de frenado n° 12 a cada pocillo.

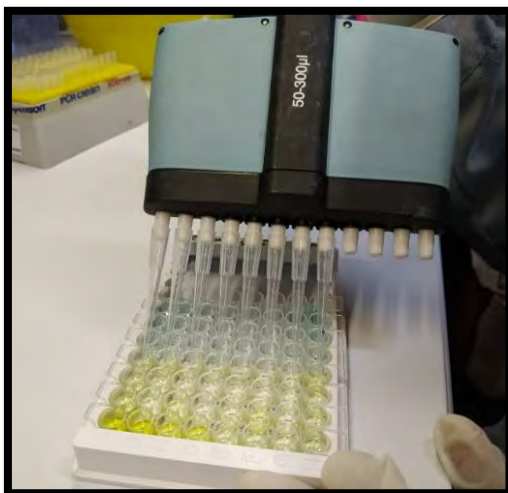


Figura 36. Lectura de las densidades ópticas a 450 nm de longitud de onda en el lector de microplacas ELISA.



Anexo 4. Resultados del diagnóstico de anticuerpos y antígenos del VDVB en vacunos hembras de la comunidad de Sausaya

N° Muestra	Nombre del Animal o Arete	Edad Años y/o meses	Categoría	Nombre del Propietario	Anexo	Diagnóstico para anticuerpos de la DVB	Diagnóstico para antígenos de la DVB
1	S/N	2	Vaquillona	Ramon Mamani Carmeles	Alto sausaya	Negativo	Negativo
2	14016	6	Vaca	Ramon Mamani Carmeles	Alto sausaya	Negativo	Negativo
3	Linda	6	Vaca	Ramon Mamani Carmeles	Alto sausaya	Negativo	Negativo
4	141319	N/E		Raul Ccahuana	Alto sausaya	Positivo	
5	14305	N/E		Raul Ccahuana	Alto sausaya	Positivo	
6	14317	N/E		Raul Ccahuana	Alto sausaya	Positivo	
7	14139	N/E		Placido Roque Mamani	Alto sausaya	Negativo	Negativo
8	19131	N/E		Susana Mamani	Alto sausaya	Positivo	
9	Sandra	N/E		Susana Mamani	Alto sausaya	Positivo	
10	Suly	N/E		Susana Mamani	Alto sausaya	Negativo	Negativo
11	4086	N/E		Rosa Roque Berna	Alto sausaya	Positivo	
12	14070	N/E		Rosa Roque Berna	Alto sausaya	Negativo	Negativo
13	Rosa	N/E		Juliana Mamani Huillca	Alto sausaya	Negativo	Negativo
14	14040	N/E		Alejandro	Alto sausaya	POSITIVO	
15	14069	N/E		Luis Mamani Chino	Alto sausaya	Negativo	Negativo
16	Negra	N/E		Alejandro	Alto sausaya	Negativo	Negativo
17	Pancha	N/E		Virginia Mamani Pacuala	Alto sausaya	Negativo	Negativo
18	Viki	N/E		Virginia Mamani Pacuala	Alto sausaya	Negativo	Negativo
19	Emilia	N/E		Virginia Mamani Pacuala	Alto sausaya	Negativo	Negativo
20	Marta	N/E		Virginia Mamani Pacuala	Alto sausaya	Positivo	
21	Martina	N/E		Joel Choquehuanca Mamani	Alto sausaya	Negativo	Negativo
22	Sandra	N/E		Joel Choquehuanca Mamani	Soromisa	Positivo	

N° Muestra	Nombre del Animal o Arete	Edad Años y/o meses	categoría	Nombre del Propietario	Anexo	Diagnóstico para anticuerpos de la DVB	Diagnóstico para antígenos de la DVB
23	Betty	N/E		Joel Choquehuanca Mamani	Soromisa	Positivo	
24	14 084	N/E		Isidora Choquehuanca	Soromisa	Negativo	Negativo
25	14089	N/E		Isidora Choquehuanca	Soromisa	Positivo	
26	Lorenza	N/E		Isidora Choquehuanca	Soromisa	Positivo	
27	13900	N/E		Angel Chino Mamani	Soromisa	Negativo	Negativo
28	Rosa	N/E		Angel Chino Mamani	Soromisa	Negativo	Negativo
29	14347	N/E		Angel Chino Mamani	Soromisa	Negativo	Negativo
30	14348	N/E		Angel Chino Mamani	Soromisa	Negativo	Negativo
31	Simba	N/E		Timoteo Chara Mamani	Soromisa	Negativo	Negativo
32	Negra	N/E		Timoteo Chara Mamani	Soromisa	Negativo	Negativo
33	Yola	N/E		Timoteo Chara Mamani	Soromisa	Positivo	
34	Canchina	5		Eusebia Ccahuana Paucara	Soromisa	Positivo	
35	Yoni	8 meses	Tenera	Eusebia Ccahuana Paucara	Soromisa	Negativo	Negativo
36	Gringa	N/E		Eusebia Ccahuana Paucara	Soromisa	Positivo	
37	Yolita	1.5		Eusebia Ccahuana Paucara	Soromisa	Positivo	
38	Crespita	1.5		Eusebia Ccahuana Paucara	Soromisa	Negativo	Negativo
39	Mamita	N/E		Eusebia Ccahuana Paucara	Sausaya central	Positivo	
40	2844	7 meses	Tenera	Claudia Quispe Sarate	Sausaya central	Negativo	Negativo
41	2850	4	Vaca	Claudia Quispe Sarate	Sausaya central	Positivo	
42	2845	N/E		Claudia Quispe Sarate	Sausaya central	Positivo	
43	2851	2	Vaquillona	Claudia Quispe Sarate	Sausaya central	Positivo	
44	14346	8Meses	Tenera	Claudia Quispe Sarate	Sausaya central	Negativo	Negativo
45	14110	7	Vaca	Viki Mamani Choquehuanca	Sausaya central	Positivo	

N° Muestra	Nombre del Animal o Arete	Edad Años y/o meses	Categoría	Nombre del Propietario	Anexo	Diagnóstico para anticuerpos de la DVB	Diagnóstico para antígenos de la DVB
46	14125	8	Vaca	Viki Mamani Choquehuanca	Sausaya central	Positivo	
47	14111	3	Vaca	Viki Mamani Choquehuanca	Sausaya central	Negativo	Negativo
48	14107	3	Vaca	Vicintina Choquehuanca Ayma	Sausaya central	Negativo	Negativo
49	2812	4	Vaca	Wilber Condo chino	Sausaya central	Positivo	
50	2815	4	Vaca	Wilber Condo chino	Sausaya central	Positivo	
51	2771	3	Vaca	Felicitas Carmeles Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
52	Nora	6 meses	Tenera	Felicitas Carmeles Mamani	Sausaya central	Positivo	
53	2770	1.5	Vaquillona	Felicitas Carmeles Mamani	Sausaya central	Positivo	
54	2862	3	Vaca	Americo Roque Chino	Sausaya central	Negativo	Negativo
55	2837	N/E		Americo Roque Chino	Sausaya central	Negativo	Negativo
56	Mary	6 meses	Tenera	Americo Roque Chino	Sausaya central	Negativo	Negativo
57	13721	9 meses	Tenera	Rufracio Ccolque Huaycho	Sausaya central	Negativo	Negativo
58	Alvina	3	Vaca	Rufracio Ccolque Huaycho	Sausaya central	Negativo	Negativo
59	Yola	2	Vaquillona	Antonia Luciana Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
60	2840	2	Vaquillona	Antonia Luciana Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
61	14066	5	Vaca	Jaime Renso Roque Huillca	Sausaya central	Negativo	Negativo
62	14058	10 meses	Tenera	Jaime Renso Roque Huillca	Sausaya central	Negativo	Negativo
63	14076	3	Vaca	Elisabet Phuturi Zuri	Sausaya central	Negativo	Negativo
64	14067	5	Vaca	Elisabet Phuturi Zuri	Sausaya central	Negativo	Negativo
65	Luciana	3	Vaca	Elisabet Phuturi Zuri	Sausaya central	Negativo	Negativo
66	Jorja	4	Vaca	Elisabet Phuturi Zuri	Sausaya central	Negativo	Negativo
67	Alejandra	1	Tenera	Elisabet Phuturi Zuri	Sausaya central	Negativo	Negativo

N° Muestra	Nombre del Animal o Arete	Edad Años y/o meses	categoría	Nombre del Propietario	Anexo	Diagnóstico para anticuerpos de la DVB	Diagnóstico para antígenos de la DVB
68	Katy	3	Vaca	Elisabet Phuturi Zuri	Sausaya central	Negativo	Negativo
69	Yuli	N/E		Graciela Quispe Huilca	Sausaya central	Negativo	Negativo
70	Ternera	8 meses	Ternera	Graciela Quispe Huilca	Sausaya central	Negativo	Negativo
71	Nely	4	Vaca	Graciela Quispe Huilca	Sausaya central	Positivo	
72	Heydi	N/E		Graciela Quispe Huilca	Sausaya central	Positivo	
73	Zelene	4	Vaca	Graciela Quispe Huilca	Sausaya central	Positivo	
74	Ternera	N/E		Graciela Quispe Huilca	Sausaya central	Negativo	Negativo
75	14134	3	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
76	14173	3	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Positivo	
77	14172	4	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
78	Yoni	N/E		Alexander Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
79	10146	3	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Positivo	
80	14177	3	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Positivo	
81	13995	3.5	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
82	14178	4	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Negativo	Negativo
83	14171	2	Vaquillona	Alexander Mamani	Sausaya central	Positivo	
84	14176	3	Vaca	Alexander Mamani	Sausaya central	Positivo	
85	13931	5	Vaca	Oscar Quispe Roque	Tacomayo	Positivo	
86	13927	7 meses	Ternera	Oscar Quispe Roque	Tacomayo	Negativo	Negativo
87	Negrita	8 meses	Ternera	Oscar Quispe Roque	Tacomayo	Negativo	Negativo
88	13934	N/E		Oscar Quispe Roque	Tacomayo	Negativo	Negativo
89	13932	5	Vaca	Oscar Quispe Roque	Tacomayo	Negativo	Negativo
90	Flexa	N/E		Oscar Quispe Roque	Tacomayo	Negativo	Negativo

N° Muestra	Nombre del Animal o Arete	Edad Años y/o meses	categoría	Nombre del Propietario	Anexo	Diagnóstico para anticuerpos de la DVB	Diagnóstico para antígenos de la DVB
91	2386	N/E		Wilfredo Chino Huillca	Tacomayo	Positivo	
92	2367	N/E		Wilfredo Chino Huillca	Tacomayo	Positivo	
102	18838	10 meses	Tenera	Vanessa Quispe Mamani	Tacomayo	Positivo	
103	18837	1.6 meses	Vaquillona	Vanessa Quispe Mamani	Tacomayo	Negativo	Negativo
104	18848	1.6 meses	Vaquillona	Tomasa Mamani Salas	Tacomayo	Negativo	Negativo
105	18849	1.6 meses	Vaquillona	Tomasa Mamani Salas	Tacomayo	Negativo	Negativo
108	18856	2.5	Vaquillona	Tomasa Mamani Salas	Tacomayo	Negativo	Negativo
109	18854	1.5	Vaquillona	Tomasa Mamani Salas	Tacomayo	Negativo	Negativo
111	18855	1.2	Vaquillona	Tomasa Mamani Salas	Tacomayo	Negativo	Negativo
113	18857	1.5	Vaquillona	Tomasa Mamani Salas	Tacomayo	Negativo	Negativo
120	18686	2	Vaquillona	Timoteo Chura Mamani	Tacomayo	Positivo	
121	18683	2	Vaquillona	Timoteo Chura Mamani	Tacomayo	Negativo	Negativo
122	14097	2	Vaquillona	Eufenia Roque Chino	Tacomayo	Negativo	Negativo
126	14094	2	Vaquillona	Eufenia Roque Chino	Tacomayo	Positivo	
132	Cría pancha	8 meses	Tenera	Valentina Choquehuanca	Tacomayo	Negativo	Negativo
135	Gringa	2	Vaquillona	Roger Mamani Quintanilla	Tacomayo	Positivo	
136	Damaris	2	Vaquillona	Roger Mamani Quintanilla	Tacomayo	Positivo	
138	Teresa	9 meses	Tenera	Catalina Carmeles Huillca	Tacomayo	Negativo	Negativo
143	12905	2	Vaquillona	Valvina Jordan Choquehuanca	Tacomayo	Negativo	Negativo

Anexo 5. Cantidad de reactivos utilizados para preparar la solución de lavado.

- Para el ensayo ELISA competitivo, para detectar anticuerpos del virus de la DVB

Reactivo	Cantidad
Agua destilada (ml)	: 32.700ml
Solución 20X (ml)	: 17.21 ml

- Para el ensayo ELISA indirecta, para detectar antígenos del virus de la DVB.

Reactivo	Cantidad
Agua destilada (ml)	: 20.1
Solución 200X (ml)	: 0.101

Anexo 6. Cálculos para determinar la prevalencia de vacunos con anticuerpos del virus de la DVB en la comunidad de Sausaya

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

$$S = \frac{42}{109} \times 100$$

$$S = 38.53\%$$

Cálculo de intervalo de confianza:

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

$$IC \pm 1.75 \sqrt{\frac{38.53 \times 61.47}{109}}$$

$$IC \pm 1.75 \sqrt{\frac{0.3853 \times 0.6147}{109}}$$

$$IC \pm 1.75 \sqrt{0.00217}$$

$$IC \pm 1.75 \times 0.0466$$

$$38.53 \pm 0.082\%$$

Anexo 7. Cálculos para determinar la prevalencia de vacunos persistentemente infectados (PI) a DVB de la comunidad de Sausaya

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

$$S = \frac{0}{67} \times 100$$

$$S = 0\%$$

Cálculo de intervalo de confianza:

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

$$IC \pm 1.75 \sqrt{\frac{0 \times 0.93}{67}}$$

$$IC \pm 1.75 \sqrt{\frac{0}{67}}$$

$$IC \pm 1.75 \sqrt{0}$$

$$IC \pm 1.75 \times 0$$

$$0 \pm 0\%$$

Anexo 8. Ficha de muestreo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROPECUARIA

REGISTRO DE MUESTREO

Comunidad:..... Distrito:.....

Provincia:..... Departamento:.....

Propietario:..... Fecha de Muestreo:.....

Tipo de muestra:..... Sector:.....

N° ORDEN	N° DE MUESTRA	NOMBRE Y/O SEÑAL DEL ANIMAL	EDAD	CATEGORÍA	OBSERVACIÓN
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					

Anexo 9. Plantilla ELISA, utilizado para los ensayos

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

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

TIPO DE MUESTRA:.....

PROCEDENCIA DEL KIT.....

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

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

Propietario.....