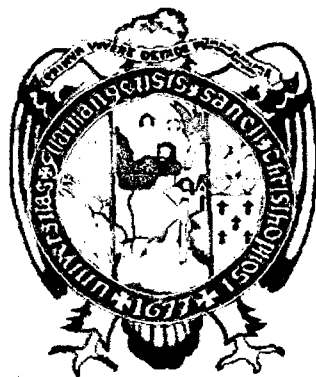


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA**



**"SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA EN COMUNIDADES DE LOS
DISTRITOS DE CHIARA, SOCOS, VINCHOS, CHUSCHI Y
LOS MOROCHUCOS DEL DEPARTAMENTO DE
AYACUCHO 2010".**

TESIS PARA OBTAR EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO

PRESENTADO POR:

ERIC ACOSTA AYVAR

AYACUCHO – PERÚ

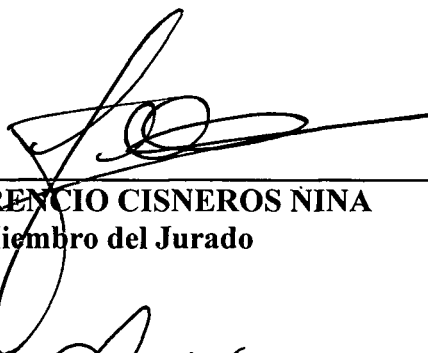
2012

**“SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA EN COMUNIDADES DE LOS DISTRITOS
DE CHIARA, SOCOS, VINCHOS, CHUSCHI Y LOS
MOROCHUCOS DEL DEPARTAMENTO DE AYACUCHO 2010”**

Recomendado : 05 de noviembre de 2012
Aprobado : 30 de noviembre de 2012



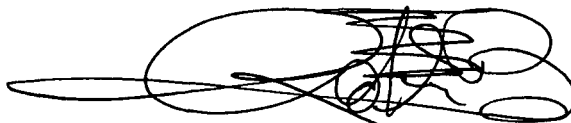
Mg. CARLOS ALBERTO PISCOYA SARMIENTO
Presidente del Jurado



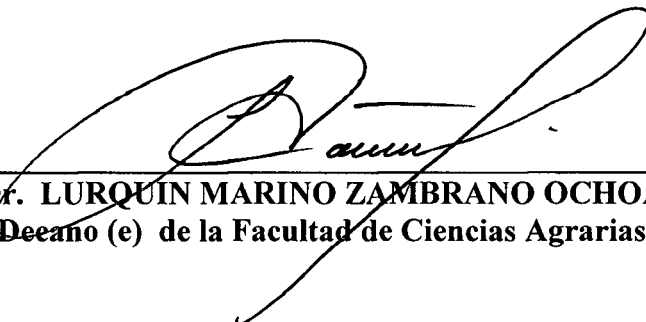
Mg. FLORENCIO CISNEROS NINA
Miembro del Jurado



M. V. ALDO ALEXI CIPRIAN CARREON
Miembro del Jurado



Ing. ROGELIO SOBERO BALLARDO
Miembro del Jurado



Dr. LURQUIN MARINO ZAMBRANO OCHOA
Decano (e) de la Facultad de Ciencias Agrarias

DEDICATORIA

Por sobre todo a mis amados padres "Elsa y Felimón" cuyo amor, apoyo y paciencia fue clave para la culminación de este estudio.

A mis hermanos Arturo, Alan, Edward, Eliana y Yeri por su cariño incondicional.

A la compañera de mis días, mi esposa Erasilda, por toda la sabiduría que me alimenta el alma.

A mis hijas Alba Valentina y Rafaela Doménica las razones de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por el orgullo de haberme albergado en sus aulas.

A la Facultad de Ciencias Agrarias por pertenecer a esa gran familia

A la Escuela de Medicina Veterinaria por haberme dado la oportunidad de cultivar mis habilidades y darme las herramientas necesaria al haber culminado la carrera de médico veterinario.

Al Ing. Aldo Martínez Alca de la organización privada de desarrollo SOLID por su apoyo y confianza hacia mi persona; y a todos los miembros de su equipo, compañeros de estudio, por su valioso apoyo en campo.

Al M.V.Z Ricardo Calderón director de sanidad animal del SENASA, por el apoyo incondicional, la confianza prestada para la ejecución y finalización de este estudio.

A mi asesor de tesis al M.V. MsC. Florencio Cisneros Nina por sus consejos siempre acertados.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	i
LISTA DE GRÁFICOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
INTRODUCCIÓN.....	v
OBJETIVOS.....	vi

CAPITULO I

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	1
1.1. EL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.....	1
1.1.1. TAXONOMÍA.....	1
1.1.1.1 ESTRUCTURA DEL VIRUS.....	2
1.1.1.2. GENOTIPO DEL VHB-1.....	3
A) REPLICACION VIRAL.....	4
B) LATENCIA.....	5
1.1.2. PATOGÉNESIS.....	8
1.1.2.1. MODO DE TRASMISIÓN.....	8
1.1.2.2. ENTRADA Y DISEMINACIÓN VIRAL.....	9
A) INFECCIÓN RESTRINGIDA A ÁREAS LOCALES.....	9
B) DIFUSIÓN SISTEMICA POR VIREMIA.....	10
C) DIFUCION NEURONAL.....	10

1.1.3. CUADRO CLÍNICO.....	10
1.1.3.1. ENFERMEDAD RESPIRATORIA ABORTO.....	10
1.1.3.2. ENFERMEDAD GENITAL.....	11
1.1.3.3. ENFERMEDAD NERVIOSA.....	12
1.1.4. INMUNOLOGÍA.....	12
1.1.5. DIAGNOSTICO.....	15
1.1.5.1. AISLAMIENTO VIRAL.....	15
1.1.5.2. DETECCIÓN DE ANTIGENO VIRAL.....	16
1.1.5.3. DETECCIÓN DE ACIDO NUCLEICO VIRAL.....	16
1.1.5.4. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS.....	16
A) NEUTRALIZACIÓN VIRAL.....	17
B) PRUEBA DE INMUNOABSORCIÓN LIGADA A ENZIMAS (ELISA)	17
1.1.6. PREVENCIÓN Y CONTROL.....	18
1.1.6.1. MEDIDAS SANITARIAS.....	18
1.1.6.2. VACUNACIÓN.....	18
A) VACUNAS CONVENCIONALES.....	19
A.1. VACUNAS A VIRUS VIVOS MODIFICADOS.....	19
B.2. VACUNAS DE VIRUS INACTIVADO.....	19
B) VACUNAS MARCADAS.....	19

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
2.1. LUGAR DE ESTUDIO.....	21

2.2. MATERIALES.....	22
2.2.1. ANIMALES.....	22
2.2.2. MATERIALES Y EQUIPOS.....	22
2.3. MÉTODOS.....	24
2.3.1. TAMAÑO MUESTRAL.....	24
2.3.2. OBTENCION DE MUESTRAS.....	25
2.3.3. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA VHB-1.....	26
2.3.3.1. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	26
2.3.3.2. PROTOCOLO DEL TEST.....	26
2.3.4. CALCULO DE RESULTADOS.....	28
2.3.5. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	29
2.3.6. ANÁLISIS DE DATOS.....	30
2.3.6.1. PREVALENCIA DE LA PRUEBA.....	30
2.3.6.2. INTERVALO DE CONFIANZA.....	30
2.3.6.3. PRUEBA DE CHI CUADRADO.....	31

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	32
3.1. SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA.....	32
3.2. SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA SEGÚN SEXO.....	36
3.3. SEROPREVALENCIA DE LA VHB-1 SEGUN EDAD.....	37

3.4. SEROPREVALENCIA DE LA VHB-1 SAGUN LAS COMUNIDADES

CAMPESINAS Y NUMERO DE CRIADORES.....	40
---------------------------------------	----

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
CONCLUSIONES.....	41
RECOMENDACIONES.....	43
BIBLIOGRFIA.....	44
ANEXOS.....	49

LISTA DE TABLAS

- CUADRO 1. Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en bovinos, mayores a 6 meses, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y Los Morochucos. Ayacucho, 2010: p: 32.
- CUADRO 2. Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y Los Morochucos; según sexo. Ayacucho, 2010: p: 36.
- CUADRO 3. Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y Los Morochucos; según edad. Ayacucho, 2010: p: 37.
- CUADRO 4. Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y Los Morochucos; según las comunidades y criadores. Ayacucho 2010: p: 39.

LISTA DE GRÁFICOS

FIGURA 1.- Replicación y establecimiento del estado de Latencia de los Herpesvirus.p:5.

FIGURA 2.- Expresión de las transcripciones asociadas a la latencia (LATs) en los Herpesvirus: p: 7.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el departamento de Ayacucho, al sur este de la provincia de Huamanga; y tuvo la finalidad de determinar la seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa bovina en bovinos de crianza extensiva de las cuencas ganaderas de los distritos de Chiara, Vinchos, Socos en la provincia de Huamanga, y de los distritos de Chuschi y Los Morochucos en la provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho. Con tal fin se obtuvieron muestras de sangre de **337** animales, sin historial de vacunación, mayor a 6 meses, provenientes de pequeños y medianos criadores. La detección de anticuerpos contra el BHV-1, se realizó mediante la prueba de ELISA indirecto. El **33.80±5.05%**(114/337) de los animales presentaron anticuerpos contra el BHV-1, distribuidos en todos los grupos de edad. El porcentaje de hembras seroreactores fue de **35.2±5.1%** (115/326) mientras que en los machos el **36.3±5.1%** (4/11) resultó seropositivo, no existiendo asociación entre la variable sexo y la seropositividad de los animales. Anticuerpos fueron detectados en animales de todos los distritos con prevalencias entre **14.81%** a **54.2%**. Asimismo esta alta prevalencia de animales se ve reflejado en un **63.2±10.98%** (74/117) de hatos en los que existe al menos un animal seropositivo. Los resultados

indican que el BHV-1 está presente y ampliamente difundido en la población bovina de la zona. Las altas prevalencias de anticuerpos evidencian intensa actividad viral debido a factores que promueven la difusión viral. Con estos resultados podemos determinar como primera investigación en la zona, que existe prevalencia de la Rinotraqueitis infecciosa bovina; a partir de ello correlacionar las afecciones de nuestro ganado para determinar el tratamiento o descarte final de animales sensibles o recurrentes a enfermedades; en especial para casos de aborto, que traen como consecuencia grandes pérdidas económicas.

INTRODUCCION

La población bovina en el Perú es de 5 101, 891 cabezas y más del 80 % de este capital ganadero se encuentra en la sierra en manos de pequeños ganaderos y comunidades campesinas con predominio de ganado criollo y sus cruces criados en forma semi extensiva y extensiva con escasa tecnología con una producción de 700 a 2300 litros por campaña (INIA, 2008; portal Agrario, MINAG, 2008)

Sin lugar a dudas la rinotraqueitis y la vulvovaginitis son de las formas clínicas de la enfermedad más comunes que primero fueron identificadas .no obstante, al pasar el tiempo, se demostró que otras manifestaciones clínicas, como queratoconjuntivitis, abortos, problemas digestivos, encefalitis, e infecciones generalizadas, en los becerros eran provocados por el bovid herpesvirus.

A partir de los años 60 se ha demostrado la presencia de la enfermedad mediante el aislamiento del virus en muchos países, por lo que podemos considerarlo como una enfermedad prácticamente mundial.

La importancia epizootológica que ha adquirido el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (BHV-1) en nuestro país en las últimas décadas es muy grande. Encuestas serológicas y estudios diversos investigación han demostrado que esta enfermedad esta diseminada en

principales zonas ganaderas de nuestro país. La propiedad que tiene el BHV-1 como muchos virus herpes de instalarse en el huésped y ser excretado en forma intermitente después de la infección obstaculiza el control de la enfermedad en un área determinada

En tal situación fue necesario realizar el siguiente estudio que tuvo como objetivo:

OBJETIVOS

GENERAL:

- ❖ Determinar la seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en la cuenca ganadera de cinco distritos de la región Ayacucho:

ESPECÍFICOS:

- ❖ Determinación de la seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis Infecciosa bovina según sexo, edad, comunidades y criadores de las veintidós comunidades campesinas.
- ❖ Identificar en laboratorio la presencia de las enfermedades por el método de ELISA.

CAPITULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. EL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA

La rinotraqueitis infecciosa bovina, también conocida como raíz roja, lloriqueo de los terneros, vaginitis vesicular, exantema coital es una enfermedad altamente contagiosa por un Herpesvirus que se manifiesta clínicamente de diferentes maneras (Blood y Radostits et al., 2002).

1.1.1 TAXONOMÍA

El Virus Herpes Bovino tipo 1 (VHB-1) es miembro de la familia Herpesviridae, sub familia Alphaherpesvirinae, genero Varicellovirus. El VHB-1 es comúnmente referido como el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, por su habilidad de causar infecciones respiratorias y rinitis; además de que también puede causar conjuntivitis, infecciones

genitales y sistémicas que resultan en muertes fetales y abortos; además de ser uno de los agentes del Complejo respiratorio bovino y de predisponer a infecciones bacterianas secundarias (Raggio., 1999).

El VHB-1 comparte características de los Alfa herpesvirus como son poseer genes homólogos, rango variable de hospederos, ciclo reproductivo relativamente corto, control temporal de expresión de genes, propiedades citolíticas en cultivos celulares y la capacidad de establecer latencia (Raggio., 1999).

1.1.1.1. ESTRUCTURA DEL VIRUS - Morfología y genoma:

El VHB-1 tiene una nucleocápside icosaédrica compleja con un diámetro de 150 a 200 nm, su material genético está conformado por una doble cadena lineal de ácido desoxirribonucleico (ADN), posee aproximadamente de 135.000 a 140.000 pares de bases (pb). Alrededor del 10% del ADN viral transporta una «cola» de ADN celular, lo que indicaría que el ADN del VHB-1 puede recombinarse frecuentemente con el ADN de la célula (Pidone et al., 1999).

El genoma del VHB-1 codifica varias proteínas, estructurales y no estructurales, que son expresadas sobre la envoltura viral y sobre la membrana de las células infectadas y entre las proteínas estructurales al menos 11 son glicoproteínas: gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM, y gN presentes en la envoltura viral formando proyecciones y juegan un rol importante en las interacciones virus-célula, como adherencia, penetración, difusión célula-célula y salida. Las glicoproteínas además

interactúan con el sistema inmune, como unión a componentes del complemento inmunoglobulinas (Okazaki et al., 2005).

Estas interacciones iniciales son primariamente mediadas por las principales glicoproteínas virales: gB, gC y gD. La gB es responsable de la adsorción viral y fusión celular; de interferir con proteínas celulares responsables de efectos citopáticos (ECP) e inducir anticuerpos neutralizantes (Li Y., 1996, Pidone et al., 1999). La gC es considerada como la principal proteína implicada en la unión e ingreso del virus a través de receptores similares a la heparina sobre la superficie de las células blanco (Babiuk et al., 1996; Pidone et al., 1999) y la gD es la glicoproteína involucrada en la neutralización, es la responsable de la penetración del virus en la célula blanco y también se le atribuye participación en la adsorción viral y la fusión celular (LiY., 1996; Babiuk et al., 1996) menciona que induciría a la apoptosis de células infectadas.

1.1.1.2. GENOTIPO DEL VHB-1

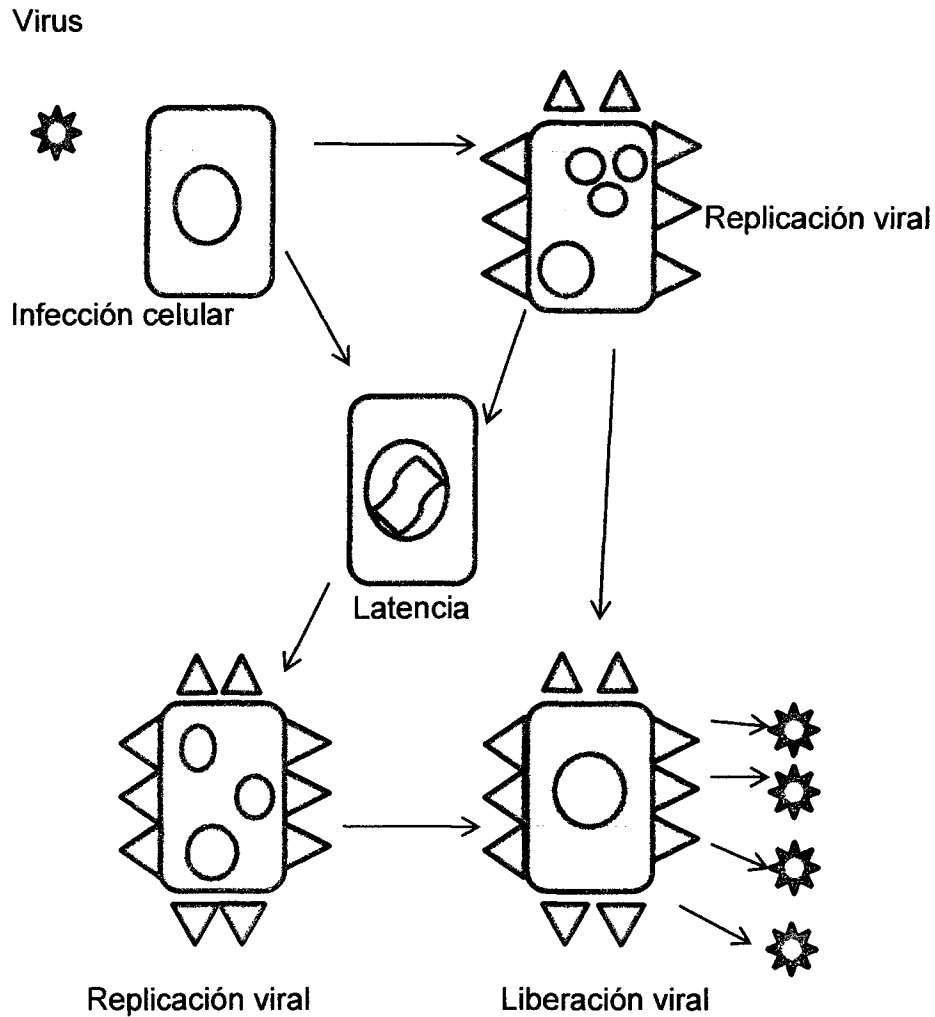
La genética molecular ha permitido la identificación de las variantes del ADN del VHB-1 determinándose genotipos distintos que se correlacionan con cada uno de los sistemas que afectan; así tenemos: un genotipo respiratorio, un genotipo genital, y un genotipo encefálico, designados como VHB-1.1, VHB-1.2, y VHB-1.3, respectivamente. El VHB-1.3 se ha denominado recientemente VHB-5 (Rebhun., 1995). Las diferencias antigénicas entre las cepas víricas pueden justificar los

diferentes patrones de comportamiento epidemiológico y patológico de estos herpesvirus (Blood y Radostis et al., 2002)

A) REPLICACIÓN VIRAL

Como en todos los virus herpes la replicación del VHB-1 es muy compleja (Figura N° 2). El VHB-1 se replica en células epiteliales del tracto respiratorio y reproductivo y posteriormente infecta monocitos, macrófagos circulantes y linfocitos. El VHB-1 se adhiere a la membrana celular a través de las glicoproteínas C y/o B, la interacción de las glicoproteínas y los receptores celulares activan la fusión de la envoltura viral con la membrana celular para la penetración de la nucleocápside en el citoplasma, la cual llega a la membrana nuclear liberando su molécula lineal de ADN viral dentro del núcleo a través de los poros de la membrana nuclear, donde se realiza la transcripción de ARN mensajeros para la síntesis proteica, replicación del ADN viral para la nueva progenie del virus, y el ensamblaje final de nuevas partículas víricas. (Li Y., 1996; Pidone et al., 1996).

Figura N°1: Replicación y establecimiento del estado de Latencia de los Herpesvirus: (1) La replicación lleva a la expresión de los antígenos virales sobre la superficie de la célula infectada mientras se forma una nueva generación de virus. (2) Durante la latencia, no hay expresión de antígenos hacia el sistema inmune. (3) La reactivación de la replicación genera nuevamente partículas virales que serán excretadas y transmitidas a hospederos susceptibles.



Engels M. et al., 1996

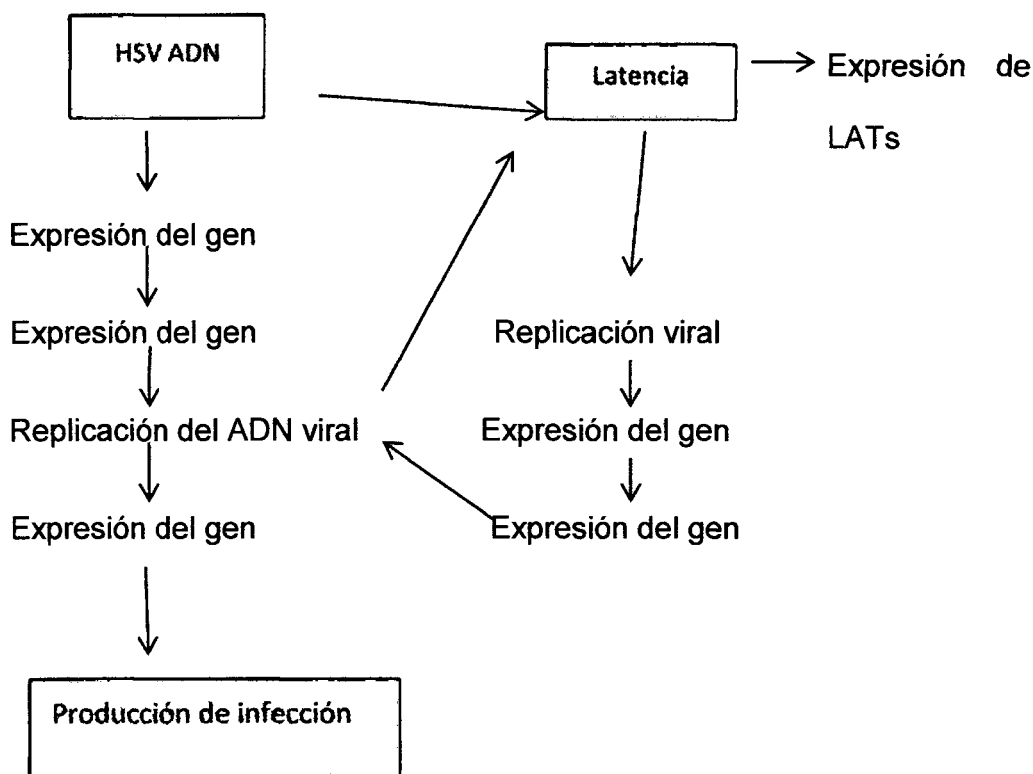
B) LATENCIA

La latencia es una característica de la familia Herpesviridae, es la propiedad que permite a los Herpesvirus sobrevivir en estado "inactivo" en ciertos lugares del cuerpo del animal infectado (Efstathiou et al., 2005); al ingresar el VHB-1 al organismo se multiplica en el sitio de infección y se desplaza a través de prolongaciones nerviosas hacia los ganglios

trigémico y/o sacro, en donde permanece en un estado latente (Pidone et al., 1999, Blood et al., 2002; Wentink et al., 1993), además de tonsilas, y mucosa nasal (Engels et al., 1996) es decir que el sitio de la infección primaria determina la latencia en el ganglio sensorio local y que durante la reactivación se eliminan del tejido inicialmente infectado (Van Oirschot., 1995).

Para el caso de los Herpesvirus (Figura N° 2) se acepta que (a) el estado de latencia es una consecuencia de una falla al iniciar la expresión temprana del gen (IE) del virus; (b) durante el estado de latencia, el genoma del virus existe como una molécula no replicativa en forma extracromosomal; (c) la transcripción durante el estado de latencia se restringe a una sola región del genoma que codifica las transcripciones asociadas a la latencia (LATs); (d) la reactivación es una consecuencia de una respuesta a las señales celulares que dan como resultado en la activación de la expresión y del inicio del ciclo productivo del gen viral (Efsthathiou et al., 2005)

Figura N° 2: Expresión de las transcripciones asociadas a la latencia (LATs) en los Herpesvirus. La falla al iniciar la expresión temprana del gen (IE) del virus resulta en el establecimiento de Latencia y de la expresión de LATs, que bajo estímulos exógenos nuevamente desencadenan la expresión del virus.



Efstathiou et al., 2005

La reactivación del virus puede ocurrir o ser inducida por estímulos naturales o artificiales, como puede ser: parto, transporte (Thiry et al., 1987), tratamientos inmunosupresores con corticoides (Blood et al., 2002), súper infección con otros virus (Parainfluenza bovina tipo 3) o microorganismos (*Dictyocaulus viviparus*), (Wentink., 1993) irradiación ultravioleta, tratamiento con ciclofosfamida, etc. (Pidone et al., 1999).

El virus reactivado es transportado intra-axonalmente de regreso al sitio de la infección inicial donde está disponible para la transmisión a otros animales susceptibles. Generalmente, no se presentan signos clínicos durante la reexcreción del virus (Pidone et al., 1999).

1.1.2. PATOGÉNESIS

1.1.2.1 MODO DE TRANSMISIÓN

El VHB-1 se transmite por contacto directo de un animal infectado a otro susceptible, a través de tos, secreciones nasales, oculares, genitales, semen (monta natural e inseminación artificial), además de los líquidos y tejidos fetales (Radostis, 2002) o en forma indirecta por personas o equipos e incluso durante la transferencia de embriones (Wentink et al., 1993; Pidone et al., 1999).

El VHB-1 ha sido detectado en el aire exhalado por animales infectados experimentalmente y ha sido demostrado que sobrevive suficiente en la atmósfera para que la transmisión aerógena ocurra; aunque la transmisión a largas distancias es aún materia de debate (Wentink et al., 1993). Estudios realizados por Mars M. et al., 2000 muestran que una distancia de 4.4 m disminuye el riesgo de transmisión de un animal diseminador del virus a uno susceptible.

Una vez en el organismo, el virus se replica en el sitio de inoculación para luego diseminarse por medio de la sangre, el sistema nervioso o a través de puentes intercelulares y así alcanzar los órganos blancos (Pidone et al., 1999).

La propagación por aerosol es la forma de transmisión del proceso respiratorio, mientras que la transmisión venérea es la forma de transmisión en los procesos genitales. (Blood y Radostis et al., 2002)

1.1.2.2 ENTRADA Y DISEMINACIÓN VIRAL

Las vías de ingreso del VHB-1 son la cavidad nasal, la oro faringe, ojos y tracto genital. La primera replicación viral ocurre en las células epiteliales infectadas para posteriormente afectar el ganglio sensorio local, y al menos tres formas de difusión deben ser consideradas: (Blood y Radostis et al., 2002)

A) INFECCIÓN RESTRINGIDA A ÁREAS LOCALES

Pueden ocurrir infecciones del trato respiratorio superior (RIB) o del tracto genital como la vulvovaginitis pustular infecciosa (VPI) y la balanopostitis pustular infecciosa (BPI). Los síntomas de la enfermedad pueden ser principalmente atribuidos a los daños celulares locales y por consiguiente a una excreción de altos títulos virales. Debido a que la respuesta inmune es eficiente, estas infecciones son usualmente autolimitantes y la recuperación del animal es dentro de 1 a 2 semanas. Las lesiones locales pueden facilitar las infecciones bacterianas secundarias, que pueden causar un severo daño (Engels et al., 1996; Pidone et al., 1999).

B) DIFUSIÓN SISTÉMICA POR VIREMIA

Las características virales del VHB-1 de infectar monocitos, macrófagos circulantes y linfocitos, para su replicación y de usarlos como vehículos; además de afectar a otras células blanco (neuronas, células epiteliales) del hospedero son las responsables de permitir el ingreso a varios tejidos y órganos causando una amplia variedad de enfermedades, como por ejemplo enteritis y abortos. (Engels et al., 1996; Pidone et al., 1999).

C) DIFUSIÓN NEURONAL

Durante la replicación inicial en las células epiteliales, el virus puede ingresar por los axones de las células neuronales locales, y a través de estos alcanzar los cuerpos neuronales del ganglio local (trigémino o sacro) donde el virus se establece en estado de latencia (Engels et al., 1996; Pidone et al., 1999).

1.1.3 CUADRO CLÍNICO

El VHB-1, dependiendo del lugar de infección inicial, puede originar 3 diferentes cuadros clínicos:

1.1.3.1. ENFERMEDAD RESPIRATORIA - ABORTO

La RIB es una enfermedad contagiosa y aguda de los bovinos caracterizada por fiebre (40.5 °C a 42 °C), depresión general, disminución en la producción láctea, pérdida de apetito y peso. Se observa dificultad en la respiración y una descarga nasal profusa, clara y acuosa, que

mientras progresa la infección, se convierte en una descarga amarillenta y pegajosa. Algunos animales con RIB desarrollan también una conjuntivitis uni o bilateral. (Richey E., 1994).

El virus destruye el epitelio del tracto superior lo que, sumado a la inmunosupresión que provoca en el organismo, favorece el asentamiento de infecciones bacterianas secundarias. (Blood y Radostis et al., 2002). Entre otros factores, el VHB-1 inhibe la migración de polimorfonucleares, neutrófilos, la citotoxicidad mediada por células y la respuesta mitótica de los linfocitos sanguíneos periféricos, como así también algunas actividades funcionales del macrófago alveolar. (Pidone et al. 1999). Cuando existen vacas preñadas, la enfermedad puede inducir a muerte fetal y abortos. Aunque puede existir mortalidad de los fetos en cualquier fase de la gestación, la mayoría de los abortos aparecen en el segundo o en el tercer trimestre de preñez. La infección fetal directa o el estrés y la fiebre elevada pueden inducir al aborto (Rebhun., 1995)

1.1.3.2. ENFERMEDAD GENITAL

Un segundo síndrome causado por VHB- 1 es la vulvovaginitis pustular infecciosa (VPI) en las hembras que se caracteriza, por una vulva hiperémica y edematosa en donde se observan pequeñas pústulas diseminadas sobre la superficie de la mucosa, acompañadas a veces con una descarga vaginal mucopurulenta, debido a que la invasión bacteriana secundaria es una secuela frecuente. La fase aguda de la enfermedad dura 2-4 días y las lesiones desaparecen 10-14 días después. La

sintomatología clínica de la balanopostitis pustular infecciosa (BPI) en los toros incluye también el área genital en la forma de inflamación del glande del pene y la mucosa del prepucio. (Blood y Radostis et al., 2002; Pidone et al., 1999).

1.1.3.3. ENFERMEDAD NERVIOSA

En el caso de las meningoencefalitis, el virus llega al cerebro a través de las ramas maxilar y mandibular del nervio trigémino o bien puede hacerlo a través de los bulbos olfatorios y/o de las meninges a partir del hueso etmoides, provocando una encefalitis no purulenta. Los signos neurológicos se caracterizan por incoordinación, temblor muscular, ceguera y eventualmente muerte. (Pidone et al., 1999; Blood y Radostis et al., 2002).

1.1.4. INMUNOLOGÍA

La inmunidad frente a los Herpesvirus es compleja y consiste en múltiples interrelaciones entre la inmunidad humoral y la celular. También, puede ser dividida en respuestas inmunes específicas, como la mediada por células T y B, y respuestas no específicas donde se involucran los polimorfonucleares (PMN), macrófagos, células asesinas naturales, interferones, complemento y otros factores que limitan la infección a las células por el VHB-1 (Babiuk et al., 1996; Pidone et al., 1999)

Una vez que el VHB-1 ha ingresado al organismo y ha infectado a las células, la expresión de sus antígenos de superficie se dará entre las 3 a 4 horas post infección (p.i.), el ensamblaje viral de 6 a 7 horas p.i., y la

salida de la progenie viral media a una hora posterior al ensamblaje; desencadenando inicialmente la respuesta inmune de tipo no específica; es decir, que las células infectadas inducen la aparición de citotoxinas por parte de los macrófagos y de los interferones a alcanzando niveles altos de 36 a 72 horas p.i. en sangre y secreciones nasales, permaneciendo así hasta que la replicación viral cese. (Babiuk et al., 1996).

Los interferones y otros cambios celulares, como resultado de la infección viral, inducen la movilización de leucocitos y el reclutamiento de varias células efectoras como macrófagos, PMN y células asesinas naturales al sitio de la infección. Todas estas células inducen a una ola temprana de citoxinas para el inicio de la respuesta inflamatoria. Entre las 24 a 48 horas p.i. la infiltración masiva de PMN dentro de los pulmones, ocurre como resultado de la generación de citoxinas pro inflamatoria por los macrófagos alveolares y células epiteliales, que inducen la expresión de moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1) sobre el epitelio vascular que promueven la adherencia de leucocitos. Con el incremento de la permeabilidad vascular las células migran al lugar de la infección y liberan especies reactivas de oxígeno, metabolitos del ácido araquidónico y enzimas, que en colaboración con otras defensas específicas e inespecíficas equilibran la eliminación del virus (Babiuk et al., 1996).

El interferón α influye en la movilización de linfocitos con selectiva disminución de células CD8⁺ de la sangre, y la afluencia de estas células hacia los pulmones puede estar involucrada en la producción tardía de citocinas que desencadenan macrófagos para la eliminación de células

infectadas por el VHB-1 y en la citotoxicidad de células infectadas por parte de células CD8+ (Babiuk et al., 1996).

El VHB-1 lleva a la infección de células CD4+ pero no de CD8+; llevando directa o indirectamente, a un incremento en la apoptosis de células CD4+. Además, el estrés producido por la infección produciría altos niveles de corticosteroides, que conjuntamente con la apoptosis de linfocitos producirían la inmunosupresión (Winkler et al., 1999)

Para eliminar las células infectadas, los macrófagos y las células asesinas naturales producen citocinas que influyen en el desarrollo de la respuesta inmune específica activando la respuesta de las células T e indirectamente la de las células B. (Babiuk et al., 1996) postulan que el microambiente local durante el contacto inicial del antígeno del VHB-1 con citocinas producidas por células no específicas inflamatorias responde al balance o primera respuesta de Th 1 o Th 2. Además, se observa que el CMH tipo II expresa antígenos del VHB-1, sobre los macrófagos pulmonares, incrementándose durante la infección viral. Sin embargo, una vez activado, el Th 1 responde produciendo un repertorio de citocinas tardías (IL-2, IL-12, interferón γ) las cuales conducen una respuesta inmune mediada por células; y el Th 2 produce un repertorio diferente de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6 y IL-10) encargadas de la respuesta inmune a través de anticuerpos. Esta respuesta inmune mediada por células, caracterizada por la proliferación de linfocitos, la directa citotoxicidad y la producción de citocinas, es detectada alrededor del día 5 p.i. alcanzando los valores altos a partir del día 7 a 10 p.i.

Se considera que la inmunidad mediada por células es mucho más importante en la recuperación de la infección primaria, y que los anticuerpos juegan un mejor rol previniendo la infección y durante la reactivación viral, ya que los anticuerpos no previenen la propagación del virus de célula a célula debido que el virus evade la respuesta inmune transportándose a través de puentes intercelulares o intra axonalmente, siendo su detección sólo cuando el proceso de recuperación ya está en curso (Babiuk et al., 1996; Pidone et al., 1999).

1.1.5 DIAGNOSTICO

El diagnóstico del RIB se realiza en base a los signos clínicos, lesiones patológicas y epidemiológicas, pero el diagnóstico definitivo sólo se realiza a través de las pruebas de laboratorio (Rivera., 1993)

1.1.5.1 AISLAMIENTO VIRAL

El aislamiento viral es muy sensible y específico pero demora varios días o semanas. Esta prueba se realiza en cultivos celulares, que pueden ser de células de riñón, pulmón, cornete nasal bovino o de células de testículo de fetos bovinos; que pueden ser inoculados con muestras de exudados nasales, oculares, genitales o suspensiones de membranas mucosas del tracto respiratorio, tonsilas, pulmón, nódulos linfáticos bronquiales. Identificándose luego al agente por medio de otras pruebas inmunológicas: pruebas inmunohistoquímicas o inmunoperoxidasa empleando anticuerpos monoclonales o policlonales (OIE, 2004; Rivera., 1993).

1.1.5.2 DETECCIÓN DE ANTÍGENO VIRAL

La ventaja de esta prueba es la de ser rápida y de estar disponible en la mayoría de laboratorios. Consiste en la detección del antígeno viral a partir de muestras frescas de fluidos nasales, oculares o genitales a través de anticuerpos monoclonales o policlonales, mediante técnicas como la inmunofluorescencia o la inmunoperoxidasa, este último útil también en muestras fijadas en formol (OIE, 2004; Rivera., 1993).

1.1.5.3. DETECCIÓN DE ÁCIDO NUCLEICO VIRAL

Se basa en la detección del ADN viral en las muestras clínicas. Incluye las pruebas de Hibridación del ADN y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que comparado con el aislamiento del virus, el PCR tiene las ventajas de ser altamente específico, sensible y rápido, con resultados de muestras de campo en 12 horas y es factible a partir de muestras de exudado nasal, semen y otros órganos internos (Duarte., 2002); además de detectar el ADN en el ganglio sensorial latentemente infectado. Actualmente, el estudio del ADN viral mediante pruebas de endonucleasa de restricción permite diferenciar entre cepas de campo y cepas vacunales (OIE., 2004; Radostis., 2002).

1.1.5.4 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Son pruebas serológicas que se basan en la detección de anticuerpos o en la titulación de estos, y las más usadas son la neutralización viral y la prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA).

A) NEUTRALIZACIÓN VIRAL

Es la prueba más comúnmente utilizada para la detección de anticuerpos específicos a VHB-1, se fundamenta en la capacidad que tienen los anticuerpos en neutralizar la citopatogenicidad del virus sobre el cultivo celular susceptible (OIE., 2004), es altamente específica pero menos sensible en comparación a ELISA (Tyzard., 1996). La presencia de anticuerpos neutralizantes se demuestra si el cultivo de células no muestra efecto citopático, mientras que las células del cultivo control desarrollan efectos citopáticos. Tal vez su principal desventaja es la de demorar de 3 a más días, requerir de personal calificado, de un adecuado sistema de cultivo celular, y por lo tanto ser costosa (Huaman., 2000; Blood y Radostis et al., 2002).

B) PRUEBA DE INMUNOABSORCIÓN LIGADA A ENZIMAS (ELISA)

Es una técnica que ha reemplazado rápidamente a las demás pruebas serológicas, debido a que prescinde del uso de cultivo celular y que ha demostrado ser sensible, específica, rápida y económica (Pidone et al., 1999). Se ha informado del estudio de muchas variantes de esta técnica, siendo la más usada la prueba de ELISA indirecta que determina la presencia de anticuerpos contra el virus en el suero, leche u otro fluido mediante el uso de una anti-inmunoglobulina G dirigida contra la Ig G bovina marcada con una enzima como la peroxidasa que se une al complejo antígeno-anticuerpo (Svanovir., 2004).

1.1.6 PREVENCIÓN Y CONTROL

Entre las principales consideraciones que se deben de tener para el control del RIB que los animales infectados transportan al virus de por vida, ya que el VHB-1 permanece integrado por un período indefinido en células preferenciales. Es necesario definir la decisión de controlar la enfermedad clínica o eliminar la infección (Pidone et al., 1999).

1.1.6.1 MEDIDAS SANITARIAS

Se basa en las medidas sanitarias elementales por parte del ganadero, como las de no introducir en la explotación animales seropositivos, no sacar y volver a meter animales sin previa comprobación de que son seronegativos, no prestar animales, no compartir pasturas, aplicar estado de cuarentena de 2 a 3 semanas a los animales recién ingresados, etc. En cuanto a las medidas de manejo es muy importante separar los animales en producción de los animales de reposición con el fin de evitar el contagio (Sánchez J., 1999; OIE., 2004).

1.1.6.2. VACUNACIÓN

Las vacunas previenen el desarrollo de muestras clínicas severas y reducen la transmisión a otro animal susceptible al VHB-1 después de la infección, pero generalmente, no previenen la infección (OIE). Se debe considerar que los anticuerpos resultantes de las vacunas convencionales, a diferencia de las vacunas marcadas, no permiten la utilización de análisis serológicos que diferencien cepas vacunales de cepas de campo en los programas de control y erradicación (Pidone et al.,

1999; Blood y Radostis et al., 2002). Entre las diferentes vacunas usadas contra el VHB-1, podemos mencionar:

A) VACUNAS CONVENCIONALES

Se basan en la eficacia de la inmunización activa después de la exposición natural, y se emplean vacunas a virus vivos modificados y vacunas a virus inactivados (Blood y Radostis et al., 2002).

A.1. VACUNAS A VIRUS VIVOS MODIFICADOS

Se usan tanto vía parenteral como nasal, induciendo una respuesta inmunitaria rápida, local y de relativa larga duración. En casos de vacas gestantes la vía parenteral no debe ser usada porque induce al aborto (Blood y Radostis et al., 2002).

A.2. VACUNAS A VIRUS INACTIVADOS

Estas no inducen abortos, inmunosupresión o latencia aunque no previene la fase de latencia de las cepas de campo, y recién se alcanza niveles adecuados de protección, de 7 a 10 días, a partir de la segunda dosis que se administra a los 10 a 14 días de la primera (Blood y Radostis et al., 2002).

B) VACUNAS MARCADAS

Se basan en la mutación por detección de una o más proteínas víricas; las más usadas son por la mutación de la gE y de la sub unidad de la gD; lo que permite al sistema inmune la síntesis de determinados

anticuerpos vacunales y que a través de pruebas diagnósticas permite detectar animales vacunados de animales infectados por virus de campo. Ambos tipos de vacunas han demostrado la reducción de la severidad de signos clínicos y de la reexcreción del virus. Una de sus desventajas es el problema concerniente al establecimiento de latencia por la vacuna o el virus de campo que no ha sido resuelto, pero se vienen empleando en programas de erradicación de la enfermedad (Blood y Radostis et al., 2002).

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE ESTUDIO

El muestreo se realizó en las comunidades de intervención de la organización particular de desarrollo SOLID, comprendiendo las provincias de Huamanga y Cangallo. Dentro de la provincia de Huamanga se muestrearon en los distritos de: Chiara, con las comunidades de Allpachaca, Llachoccmayo, Condorccocho, Manallasacc, Valenzuela, Sachabamba y Quishuarcancha; en el distrito de Socos, se muestrearon las comunidades de Tambocucho, Toccyasca y Manzanayocc; en el distrito de Vinchos se muestreo la comunidad de Putacca. En la provincia de Cangallo, se muestrearon en los distritos de Los Morochuchos, muestreando las comunidades de Pariahuanca, Papachacra, Chanquil, Munaypata, Cusibamba, Cuchucancha, Churrapallana, Chalco y

Ñuñunhuaycco; mientras que en el distrito de Chuschi, se muestrearon las comunidades de Catalinayocc y Puncupata.

Las muestras de estudio fueron obtenidas mediante la colaboración de los técnicos de la organización particular de desarrollo SOLID, las que fueron procesadas en el moderno laboratorio de ESALUD en coordinación con la Escuela de formación profesional de Medicina Veterinaria, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho año 2010.

2.2 MATERIALES

2.2.1 ANIMALES

Se consideraron 337 animales, mayores de seis meses; pertenecientes a 122 pequeños productores de las 22 comunidades mencionadas de las provincias de Huamanga y Cangallo, departamento de Ayacucho.

2.2.2 MATERIALES Y EQUIPOS

A) MATERIALES Y EQUIPOS PARA LA COLECCIÓN DE MUESTRAS

EN CAMPO:

- ✓ Tubos al vacío (sistema vacutainer)
- ✓ Agujas vacutainer
- ✓ Alcohol y algodón
- ✓ Centrifuga

- ✓ Congeladora
- ✓ Viales

B) MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO:

- ✓ Pipetas de precisión multicanal adecuadas para dispensar de 10 μ l a 100 μ l
- ✓ Puntas de pipeta desechables
- ✓ Cilindro graduado de 500 ml para la solución de lavado
- ✓ Lector de microplacas
- ✓ Agua destilada o desionizada
- ✓ Dispositivo para aplicación y aspiración de Solución de Lavado
- ✓ Trampa de retención de aspirado y desinfectante
- ✓ Cámara húmeda o sellador de placas
- ✓ Vórtex

C) REACTIVOS

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, de procedencia comercial HerdChek IBRgB, del laboratorio IDEXX Switzerland AG. Es un ensayo inmunoenzimático para detectar la presencia de anticuerpos frente a IBR/IPV en suero o leche bovinos.

D) VOLUMEN

- ✓ Placa/tiras , tapizadas con antígenos de la rinotraqueitis infecciosa bovina 5 placas
- ✓ Control positivo 2 mi
- ✓ Control negativo 2 mi
- ✓ Conjugado Peroxidasa de rábano (HRPO) 60 mi
- ✓ Diluyente de la muestra 60 mi
- ✓ Solución de lavado (10x) 480 mi
- ✓ Solución de sustrato TMB 60 mi
- ✓ Solución de frenado 60 mi

2.3 MÉTODOS

2.3.1 TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño de muestra se obtuvo mediante la fórmula para poblaciones infinitas, tomándose como referencia una prevalencia de 67.6 % (Erik Zacarías R; Alfredo Benito Z. y Hermelinda Rivera; Parinacochas, Ayacucho), con un nivel de confianza de 95% y un error de 5%, mediante la siguiente fórmula (Daniel, 1994):

Dónde:

n = tamaño mínimo de muestra

Z = nivel de confianza al 95 % = 1.96

p = proporción de animales infectados (67.6%)

q = (1-p), proporción de animales no infectados (32.4%)

e = precisión = 5%

$$N = \frac{(1.96)^2 (67.6\%)(32.4\%)}{(5\%)^2} = 337$$

2.3.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron colectadas por punción directa de la vena coccígea, utilizando el sistema vacutainer, a animales mayores a seis meses. Previo y durante la colección se registró el lugar, hato y nombre del propietario; así como la identificación del animal, sexo, y categoría.

Las muestras colectadas en el día, se dejaban reposar hasta la noche, para así conseguir que la sangre se coagule y sedimente, para obtener suero. Para mejorar las muestras, estas fueron centrifugadas por las noches; para luego trasvasar el suero a viales e inmediatamente llevadas a congelación. La recolección se hacía en días hábiles de la semana, los que se almacenaban a -10°C hasta el fin de semana para finalmente transportarlas a la ciudad de Huamanga y almacenarlas en congelación a -10°C, hasta su procesamiento.

2.3.3 PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA VHB-1.

La detección de los anticuerpos contra BHV-1 se realizó mediante la prueba de ELISA indirecta, utilizando placas descartables de 96 pocillos, según el procedimiento de la técnica descrita por el fabricante de los reactivos HerdChek, BHV-1 del laboratorio IDEXX Switzerland AG. A continuación se describe brevemente el procedimiento:

2.3.3.1, PREPARACIÓN DE REACTIVOS:

Solución de lavado: La solución de lavado concentrada (10x) debe alcanzar la temperatura ambiente y debe agitarse para asegurar la disolución de posibles precipitados. Esta dilución deberá diluirse 1/10 con agua destilada/desionizada antes de emplearla (Ejemplo: 30 ml de concentrado + 270 ml de agua por placa a analizar). Preparándose en condiciones estériles, la solución de lavado puede almacenarse durante una semana entre 2y8°C.

2.3.3.2. PROTOCOLO DEL TEST

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran la temperatura ambiente antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos en un Vórtex suavemente

1. Tome las placas tapizadas con antígenos y marque la posición de las muestras en una hoja de trabajo.
2. Añada 50 µl de solución de lavado reconstituida en cada pocillo.

3. Añada 50 µl de control negativo en los pocillos apropiados.
4. Añada 50 µl de control positivo en los pocillos apropiados.
5. Añada 50 µl de las muestras en los pocillos restantes.
6. Mezcle el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa o use un agitador de placas de microtitulación.
7. Incube durante 2 horas 37 °C o toda la noche (12-18 horas) entre 2 °C y 8 °C (en un refrigerador). En cualquier opción de incubación, las placas deben sellarse firmemente para evitar evaporaciones, o incúbese en una cámara húmeda
8. Aspire los contenidos líquidos de los pocillos en un reservorio de desechos apropiado.
9. Lave cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 5 veces, aspire los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Tras la aspiración final, elimine el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola firmemente sobre material absorbente. Evite que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente.
10. Dispense 100 µl de conjugado HPRO del anticuerpo monoclonal específico gB en cada pocillo en cada pocillo.
11. Incube durante 1 hora a temperatura ambiente (18-25°C)
12. Repita los pasos 8 y 9.
13. Dispense 100 µl de la solución de substrato TMB en cada pocillo.
14. Incube 10 minutos a temperatura ambiente (18-25°C) en oscuridad, empiece a cronometrar después de llenar el primer pocillo.

15. Dispense 100 µl de la solución de frenado en cada pocillo para frenar la reacción. Añada la solución de frenado en el mismo orden en que la solución de sustrato fue añadida en el paso 13.
16. Calibre el espectrofotómetro en aire.
17. Mida y anote la Absorbancia de las muestras y controles a 450nm usando una longitud de onda dual de 450nm y 650nm.
18. Calcule los resultados.

2.3.4 CÁLCULO DE RESULTADOS

Para que el ensayo sea válido, la media del control negativo (NCx) debe ser mayor o igual a 0.500 de densidad óptica (DO). Además, la media del control positivo (PCx) debe tener un porcentaje de bloqueo superior al 80%. En los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica y el ensayo debe repetirse siguiendo una revisión meticulosa del protocolo. La presencia o ausencia de anticuerpos de IBR-gB la determina el porcentaje de bloqueo de cada muestra. El control positivo se ha normalizado y representa un nivel significativo de anticuerpos de IBR-gB.

Cálculos:

Cálculo de la media del control negativo (NCx)

$$NCx = \frac{NC1A450 + NC2A450}{2}$$

2

Cálculo de la media del control positivo (PCx)

$$PCx = \frac{PC1A450 + PC2A450}{2}$$

2

Cálculo del porcentaje de bloqueo de las muestras del test y del porcentaje de bloqueo del control positivo:

Bloqueo - porcentaje:

$$\frac{NCxA450 - (OD muestra) A450}{NCXA450} = X100$$

NCXA450

2.3.5 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo inferior al 45% se clasifican como negativas para anticuerpos de IBR.
- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo superior o igual al 45%, pero inferior al 55%, se consideran sospechosas y deben analizarse de nuevo.
- Las muestras de suero con un porcentaje de bloqueo del 55% y valores superiores se consideran positivas en anticuerpos de IBR.

2.3.6 ANÁLISIS DE LOS DATOS

2.3.6.1 PREVALENCIA A LA PRUEBA

La seroprevalencia fue determinada haciendo uso de la fórmula descrita por Thursfield (1990), según la siguiente fórmula:

$$\text{PREVALENCIA} = \frac{\text{Número de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

2.3.6.2. INTERVALO DE CONFIANZA

La prevalencia obtenida son expresadas con su respectivo intervalo de confianza (IC) de 95%, según la siguiente fórmula (Daniel, 1994):

$$IC = Z\sqrt{(p \cdot q/n)} = 5.05\%$$

En donde:

Z = nivel de confianza al 95% = 1.96

p = prevalencia aparente y corregida

q = (1-p), proporción de animales no infectados (66.2. %)

n = número de muestras

2.3.6.3. PRUEBA DE CHI CUADRADO

Esta prueba estadística no paramétrica se realizó para determinar si existía asociación entre las variables del estudio como los grupos edad y sexo frente la seropositividad contra el IBR, utilizando un nivel de significación de 0.05.

Para poder realizar este análisis se dividió a los animales en cuatro grupos: animales de 1 a menores a 3 años (1 a 3 años), mayores e iguales a 3 años a menores a 6 años (3 a 6 años), mayores e iguales a 6 años a menores a 9 años (6 a 9 años) y animales mayores e iguales a 9 años (≥ 9 años).

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Después de realizar la prueba de ELISA a las 337 muestras de sangre, colectadas entre los meses de mayo, junio y julio; se dieron los siguientes resultados:

3.1. SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA

CUADRO 1: Seroprevalencia del BHV-1 en bovinos, mayores a 6 meses, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y los Morochucos del departamento de Ayacucho, 2010.

Número de comunidades	Número de criadores (hatos)	Número de muestras	Animales con anticuerpos contra el BHV-1	
			N	% - IC
22	114	337	119	35.31 ±5.1%

* IC: Intervalo de confianza al 95%

En el cuadro 1 se muestra que el 35.31 ± 5.1% (119/337) de las muestras presentaron anticuerpos contra el BHV-1. , significando que estos animales fueron expuestos al virus en algún momento de sus vidas; informaciones proporcionadas por los ganaderos indican que no utilizan la vacunación contra el BHV-1 por lo que los anticuerpos detectados fueron inducidos por el virus de campo; pero se asume que fue con los animales mejorados traídos principalmente de las cuencas ganaderas de Huancayo, Puno, Arequipa y Lima. Este alto índice de prevalencia podría deberse a la constante reintroducción del virus por la compra de animales en ferias comunales y por la falta de un control interno en el tránsito de animales.

Estudios realizados a nivel nacional y en condiciones geográficas similares a las realizadas en el presente estudio (Zacarias E, 2002) revelan datos similares. Es así que en la provincia de Parinacochas. Los porcentajes de animales seroreactores al VHB-1 fueron El 67.6% (317/469) .Esta alta prevalencia del VHB-1 en animales criollos con un

tipo de crianza mayormente extensiva contrasta con el 22.6% reportado en bovinos lecheros de crianza intensiva y 36.5% en bovinos de centros de engorde de Lima (Rosadio et al., 1993), así mismo, un reciente estudio de prevalencia del VHB-1 realizado en bovinos lecheros de crianza intensiva y sin historia de vacunación del valle de Lima reporta que el 35% de los animales muestreados tuvieron anticuerpos contra el virus (Sánchez G, 2003). Esta diferencia con lo reportado en bovinos de la costa podría deberse a que el virus es más frecuentemente reactivado en animales de crianza extensiva por el severo estrés a que están sometidos o que el virus haya sido recientemente introducido al área a través de animales infectados.

Desafortunadamente no se dispone de informaciones del estado sanitario de los animales, pero la presencia del virus en los animales de todos los muestreados podría estar afectando el tracto respiratorio y estar siendo confundido con neumonías parasitarias, sobre todo en animales jóvenes ya que en el animal adulto la infección por el VHB-1 suele ser subclínica sirviendo de fuente del virus para los animales jóvenes (Rivera, 1994). Los efectos de mayor relevancia de los virus herpes es a nivel del tracto respiratorio ocasionado rinotraqueitis propiamente dicho o como complejo respiratorio conjuntamente con otros virus, como la Parainfluenza 3, que es un virus común en el ganado bovino y otras especies, diarrea viral bovina; bacterias como la *Pasteurella haemolytica*, y larvas de parásitos.

Los bovinos, en la zona en estudio, están predispuestos a factores de estrés como a la carencia de pastos, falta de agua, parasitosis y desnutrición, principalmente; lo que podría propiciar la reactivación viral de su estado de latencia con presentación subclínica del VHB-1 (Van Oirschot, 1995), y con eliminación viral y transmisión a los animales susceptibles; y muy probable a otros animales rumiantes domésticos de crianza mixta.

Sánchez G. (2003) reportó una seroprevalencia de $36 \pm 0.47\%$ (143/395) e bovinos lecheros de crianza intensiva del valle de Lima; y Zanabria, (2000) reportó la presencia del VHB-1 en un 75% (15/20) de bovinos con signos neumónicos de centros de engorde en Lima; lo cual sugiere que la propagación e infección del VHB-1, depende mucho del tipo de crianza del ganado, donde los animales presentan una mayor tasa de contacto, posiblemente a un animal infectado o de la presencia de un animal con reactivación del virus, que bajo los efectos inmunosupresores del estrés, ocasionado por el transporte, parto, deficiencia de manejo, tratamiento con corticoides, presencia de otros agentes infecciosos, etc. favorecen mucho a la inmunosupresión de animales susceptibles (Thiry, 1987)

3.2 SEROPREVALENCIA DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA, SEGÚN SEXO

CUADRO 2: Seroprevalencia del BHV-1, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y los Morochucos; según sexo. Ayacucho, 2010.

Sexo	Animales muestreados	Animales positivos	Prevalencia del BHV-1 ± IC*
Machos	11	4	36.3 ± 28.4% ^a
Hembras	326	115	35.2 ± 5.1% ^a
Total	337	119	35.3 ± 5.1% ^a

*IC: Intervalo de confianza al 95%

: No existe diferencia estadística ($p > 0.05$)

En el cuadro 2 se muestra a los animales seroreactores que fueron encontrados tanto en machos como hembras; es así que de 11 bovinos machos muestreados, 4 resultaron positivos, lo que representa el 36.3 ± 28.4% (4/11); mientras que en caso de las hembras, el 35.2 ± 5.1% resultaron positivas de un total de 326. Se puede observar que las prevalencias obtenidas de ambos sexos es similar; asimismo no se encontró asociación entre la variable sexo y la seropositividad de los animales mediante la prueba de Chi-cuadrado.

La inseminación en la zona va creciendo con el correr del tiempo, pero aún se mantiene, sea por costumbres tradicionales o por necesidad, la monta natural; y la realización de ferias ganaderas locales, donde no

hay un adecuado control sanitario de animales, propiciara el contagio de IBR entre bovinos en la zona.

3.3 SEROPREVALENCIA DE LA VHB-1, SEGÚN EDAD

CUADRO 3: Seroprevalencia del BHV-1, proveniente de 22 comunidades de los distritos de Chiara, Socos, Vinchos, Chuschi y los Morochucos; según edad. Ayacucho, 2010.

Edad	Positivo	Negativo	Total	Prevalencia del BHV-1 \pm IC*
1 a 3 años	40	85	125	32 \pm 8.1% ^a
3 a 6 años	61	112	173	34.68 \pm 7.09% ^a
6 a 9 años	13	19	32	40.62 \pm 17.01% ^a
> a 9 años	5	2	7	71.42 \pm 33.46% ^a
Total	119	218	337	35.31 \pm 5.10% ^a

*IC: Intervalo de confianza al 95%

a: No existe diferencia estadística ($p > 0.05$)

En el cuadro 3 se muestra una mayor prevalencia en bovinos mayores a 6 años, indicando una relación directa entre la edad y la seropositividad. La mayor prevalencia del BHV-1 observado en animales de más edad, puede deberse a dos factores: una debido a que el virus induce altos niveles de anticuerpos que persisten por largos períodos, para luego declinar lentamente (Lértora, 2003) y otra debido a que estos animales estuvieron

expuestos al virus de BHV-1 más número de veces en comparación a los animales más jóvenes. Asimismo no se encontró asociación entre la variable edad y la seropositividad de los animales mediante la prueba de Chi-cuadrado.

CUADRO 4. Seroprevalencia del bhv-1, proveniente de 22 comunidades; según las comunidades y criadores.

Ayacucho 2010.

Provincia	Distrito	Comunidad	Número de criadores muestreados	Numero de muestras	% de animales seropositivos por	Criadores con al menos un animal seropositivos en su hato	Prevalencia de la	
	Chiara	Allpachaca	9	16	45.4 ± 24.39% ^a	4(44.4 ± 32.46%)	30.95 ± 9.8%	
		Llachoccmayo	6	23	34.78 ± 19.46% ^a	4 (66.6± 37.68%)		
		Condorccocho	3	12	16.6 ± 21.03% ^a	2 (66.6 ± 53.29%)		
		Manallasacc	5	12	33.3± 26.64% ^a	3(60 ± 27.71%)		
		Valenzuela	1	3	100± 0% ^a	1 (100 ± 0.0%)		
		Sachabamba	2	8	37.5± 33.5% ^a	1(50 ± 56.56%)		
		Quishuarcancha	1	10	11.1± 19.45% ^a	1 (100 ± 0.0%)		
	Socos	Tambocucho	4	5	60± 42.94% ^a	3 (75 ± 16.97%)	33.3 ± 13.7%	
		Toccyascca	5	9	33.3 ± 30.78% ^a	3(60 ± 27.71%)		
		Manzanayocc	13	31	29.03 ± 15.9% ^a	9 (69.23 ± 25.08%)		
	Vinchos	Putacca	7	27	14.81 ± 7.5 % ^a	4 (57.14 ± 36.65%)	14.81 ± 7.5 % ^a	
			Pariahuanca	2	8	75± 30% ^a	2 (100 ± 0.0%)	38.85 ± 7.6%
			Papachacra	7	14	28.5± 23.6% ^a	3 (42.8 ± 36.6%)	
			Chanquil	20	43	32.5 ± 13.9% ^a	10 (50.0 ± 21.91%)	
Munaypata			6	14	50.0 ± 26.1% ^a	6(100.0 ± 0.0%)		
Cusibamba			5	15	26.6 ± 22.3% ^a	3 (75 ± 16.97%)		
Cuchucancha			6	30	50.0 ± 17.8% ^a	6 (83.3 ± 29.7%)		
Chumupallana			2	8	37.5 ± 33.5% ^a	1 (50 ± 69.3%)		
Chalco			2	16	37.5 ± 23.72% ^a	2 (100 ± 0.0%)		
Nuñunhuaycco			4	9	0.0± 0.0% ^a	0(0.0± 0.0%)		
		Catalinayocc	2	8	87.5± 22.6% ^a	2 (100 ± 0.0%)	54.2 ± 19.93%	
	Puncupata	5	16	37.5 ± 23.72% ^a	4 (80 ± 35.06%)			
Total	5	22	117			74 (63.2 ± 10.98%)		

3.4 SEROPREVALENCIA DE LA, BHV-1 SEGÚN LAS COMUNIDADES CAMPESINAS Y NÚMERO DE CRIADORES

En el cuadro 4 se observa los resultados obtenidos, donde se demuestra la existencia de una alta prevalencia de por lo menos un animal seropositivo dentro de un mismo hato. Es así que de los 117 criadores cuyos animales fueron muestreados, el 63.2 (117/74) tuvieron al menos un animal seropositivo en su hato.

La alta difusión del virus en los animales de una zona ganadera sugiere prácticas comunes de manejo, cercanías durante el pastoreo, uso común de agua, reintroducción de nuevas cepas de virus por la compra de animales en ferias ganaderas con fines de cría y principalmente el desconocimiento de la enfermedad y sus medidas de bioseguridad.

Por último, los problemas reproductivos y respiratorios frecuentes en la ganadería de la sierra son de origen multifocal, donde la IBR, es una de las enfermedades pero también es considerada uno de los agentes productores de abortos en bovinos.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. Se detectaron anticuerpos contra el IBR en bovinos de crianza extensiva en los 5 distritos de la región Ayacucho, con una prevalencia de $35.31 \pm 5.1\%$ (119/337).
2. La incidencia es similar tanto en sexo, edad y por comunidad. Asimismo no existió asociación estadística entre las variables sexo, edad y seropositividad contra el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en la población de bovinos estudiados.
3. Se detectó los anticuerpos contra la rinotraqueitis infecciosa bovina por el método de ELISA en laboratorio puesto que es una técnica que no implica mayor dificultad.

4. La seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis viral en bovinos de crianza extensiva, es algo similar a lo detectado en otras zonas andinas del sur del país.
5. Los animales son seropositivos asintomáticos en las cuencas ganaderas muestreadas.
6. En cuanto al IBR y a su diagnóstico se puede concluir que no es sencillo debido a la existencia de otras enfermedades que cursan con signos clínicos semejantes, sin embargo la enfermedad puede ser sospechada cuando se presenta afecciones del tracto respiratorio superior, con mediana o alta morbilidad y baja mortalidad, además de problemas de fertilidad, reabsorción embrionaria y abortos.

RECOMENDACIONES

1. Concientización y sensibilización de los criadores y comerciantes de la gravedad de la enfermedad, con la finalidad de no colocar a los bovinos recurrentes a abortos o animales persistentemente infectados en el mercado.
2. Intervención del estado para emitir regulaciones oficiales para el control y erradicación de la enfermedad; así como facilidades a los criadores para no impactar su actividad.
3. Incentivar la cultura de llevar registros en hatos ganaderos, con la finalidad de identificar los animales persistentemente infectados.
4. Identificar y eliminar a los animales persistentemente infectados, a través de los signos clínicos y corroborados con análisis de laboratorio.
5. Comprar o utilizar semen que preste las garantías y certificación correspondiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Babiuk L, S. van Drunen Littel-van den Hurk; S. Tikoo. 1996** Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Vet Microbiol.* 53: 31-42
2. **Blood, D.; Radostits, O.; C. Bay; D. Blood; K. Hinchcliff K. 2002.** *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino.* 9a ed. Editorial Mac Graw Hill Interamericana. Vol. II. Págs.: 1390-1403
3. **Efstathiou S; C. Preston. 2005.** towards an understanding of the molecular basis of herpes simplex virus latency. *Virus Research* 111: 108-119
4. **Engels M; M. Ackermann. 1996.** Pathogenesis of ruminant herpes virus infections. *Vet Microbiol.* 53: 3-15.
5. **Hanon E; G. Keil; S. van Drunen Littel-van den Hurí; P. Griebel; A.Vanderplasschen; A. Frans; F.A.M. Rijsewijk; L. Babiuk; P. Pastoret.1999.** Bovine Herpesvirus 1-Induced Apoptotic Cell Death: Role of Glycoprotein D. *Virology* 257, 191-197.

6. **Huamán K. 2001.** Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 47 p.
7. **Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 1995.** III Censo Nacional Agropecuario. Ayacucho Perú. Resultados Definitivos: Departamento de Ayacucho.
8. **Li Y. 1996.** Structural and funcional study of bovine herpesvirus 1 glycoprotein B in the interaction with Madin Darby bovine kidney cells. Thesis to Doctor of Philosophy. Dep. Veterinary Microbiology. Univ. Of Saskatchewan. Canadá. 267 p.
9. **Mars M. De Jong; C. Van Maanen; J. Hage; J. Van Oirschot.2000.** Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Veterinary Microbiology* 76: 1-13.
10. **OIE. 2004.** Infectious bovine rhinotracheitis infectious pustular vulvovaginitis. En: *Manual of standards diagnostic tests and vaccines.*
11. **Okasaki K; S. Fujii; A. Takada; H. Kida. 2005.** The amino-terminal residue of glycoprotein B is critical for neutralization of bovine herpesvirus 1. *Virus Research. Art. Press, p. 7*

12. **Pidone, H.; C. Galosi; M. Etcheverrigaray. 1999. Herpes bovinos 1 y 5. Analecta Argentina 19: 40-50.**

13. **Programa de Desarrollo Ganadero (PRODEGAN). 2003. Diagnóstico Situacional de la actividad pecuaria de la Provincia de San Pablo. Municipalidad de San Pablo. Cajamarca. Bol N° 2: 5 -11**

14. **Radostits, O.; C. Bay; D. Blood; K. Hinchcliff K. 2002. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino. 9a ed. Editorial Mac Graw Hill Interamericana. Vol. II. Págs.: 1390-1403.**

15. **Raggio C. 1999. The Construction and characterization of bovineherpesvirus -1 expressing cytokines. Thesis to Doctor of Philosophy. Dep. Veterinary Microbiology. Univ. Of Saskatchewan. Canadá. p225**

16. **Rebhun, W. 1995. Enfermedades del ganado vacuno lechero. 3o ed. p606. Ed Acribia. España.**

17. **Richey E. 1994. Infectious Bovine Rhinotracheitis IBR (Red Nose). Univ. of Florida. Inst. of food and agricultural sciences. VM 55**

18. **Rivera H. 1993.** El Virus de la Diarrea viral bovina (BVD) Rev. Pee Inv. IVITA Perú. 6(1): 1-6-
19. **Rivera, H.; A. Manchego; N. Sandoval; C. Morales; E. Flores. 1994.** Complejo respiratorio bovino en terneros del valle de Lima. Rev. Inv. Pee IVITA (Perú) 7:35-38
20. **Rosadio, R.; H. Rivera; A. Manchego. 1993.** Prevalence of neutralizing antibodies to bovine herpesvirus-1 in Peruvian livestock. Vet. Rec. 132,611-612.
21. **Sánchez J. 1999.** Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y diarrea vírica bovina (BVD). Pautas de control y lucha. Reflexión y recomendaciones. Laboratorio Regional de Sanidad Animal. Badajoz-España Vol. 4 N° 2.
22. **Sánchez, G. 2002.** Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina en ganado lechero del Valle de Lima. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 31 p.
23. **Sandoval N., 1992.** Seroprevalencia comparativa del Virus BHV-1 (IBR) en vacas con historia de abortos de la cuenca lechera de Lima.

Tesisbachillerato. Fac Med Vet Univ. Nac. Mayor de San Marcos,
Lima-Perú.

24. **Scientific Committe on Animal Health and Animal Welfare (SCAHAW). 2000.** Report on Bovine Herpesvirus (BHV1) marker vaccines and the accompanying diagnostic test. European Commission.
25. **Stahl, K.; H. Rivera; I. Vagsholm; J. Moreno-Lopez. 2002.** Bulk milk testing for antibody seroprevalence to BVDV and BHV-1 in a rural regionof Perú. Preventive Veterinary Medicine. 56: 193-202ñ
26. **SVANOVIR™. 2004** Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR-Ab). Manual ELISA Test for the detection of IBR antibodies in serum and milk.
27. **Thiry, E; J. Saliki; M. Bublot; P. Pastoret. 1987.** Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport. Comp ImmunMicrobiol Infecí Dis. 10:59-63.
28. **Tyzard, I.R. 1999.** Inmunología Veterinaria. Quinta Edición. Editorial McGrall-Hill Interamericana. México 86
29. **Thursfield, M. 1990.** Epidemiología Veterinaria. Editorial Acribia. España. p.42.

30. **Van Oirschot, J. 1995.** Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. *Veterinary Quarterly*. 17: 29-33
31. **Wentink, G.; J. Van Oirschot; J. Verhoeff. 1993.** Risk of infection with bovine herpes virus 1 (BHV-1): a review. *Veterinary Quarterly*. 15: 30-33.
32. **Winkler, M.; L. Schang; A. Doster; C. Jones. 1999.** Bovine Herpesvirus 1 can CD4+ T Lymphocytes and induce programmed cell death during acute infection of cattle. *Journal of Virology*. Vol 73, N° 10.
33. **Zacarías, E. 2002.** Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueítis infecciosa bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 37 p.
34. **Zanabria, V.; H. Rivera; R. Rosadio. 2000.** Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima: p: 35,36.

ANEXOS

ANEXO 2: FICHA DE MUESTREO PARA LA VHB-1

N° de muestreo:.....

Comunidad:.....

Anexo:.....

Barrio:.....

Caserío:.....

Estancia:.....

Nombre del ganadero:.....

N° total del ganado:.....

Propietario privado

Empresa

Asociación

Comunal

N° de muestra	Nombre	Raza	Categoría	N° de parto	Fecha de último parto	Fecha de último servicio	Días vacíos	Estado Reproductivo	Propietario



Foto 1: Recolección de muestra.



Foto 2: Extracción de sangre de la los vasos coxígeos.

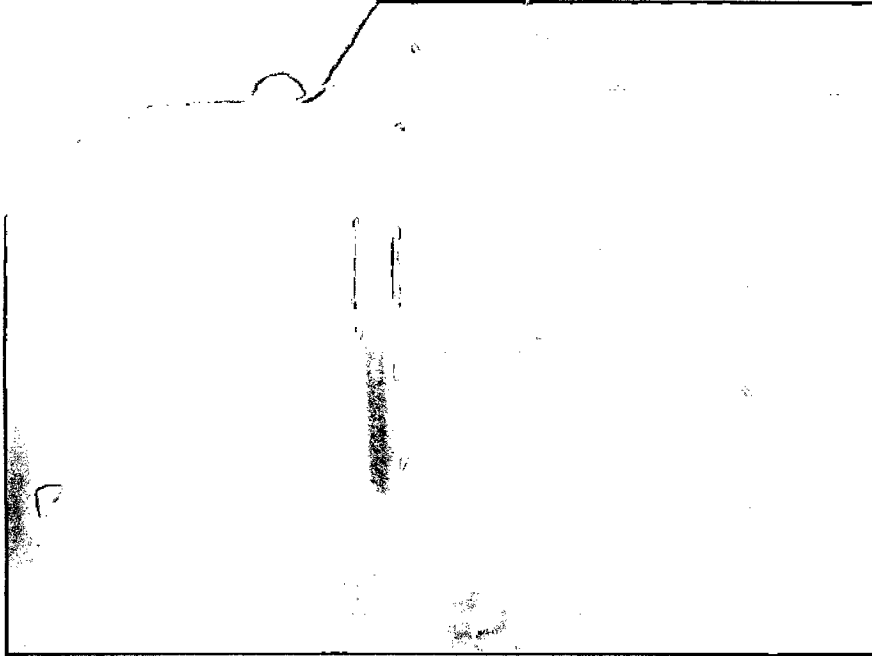


Foto 3: Muestra obtenida aproximadamente 10 ml



Foto 4: Comienzo del análisis en laboratorio.



Foto 5: Seguimiento de los pasos de acuerdo al protocolo del test



Foto 6: Muestra después de añadida la solución de lavado.



Foto 7: Reacción después de añadido et conjugado HPRO del anticuerpo monoclonal específico gB.

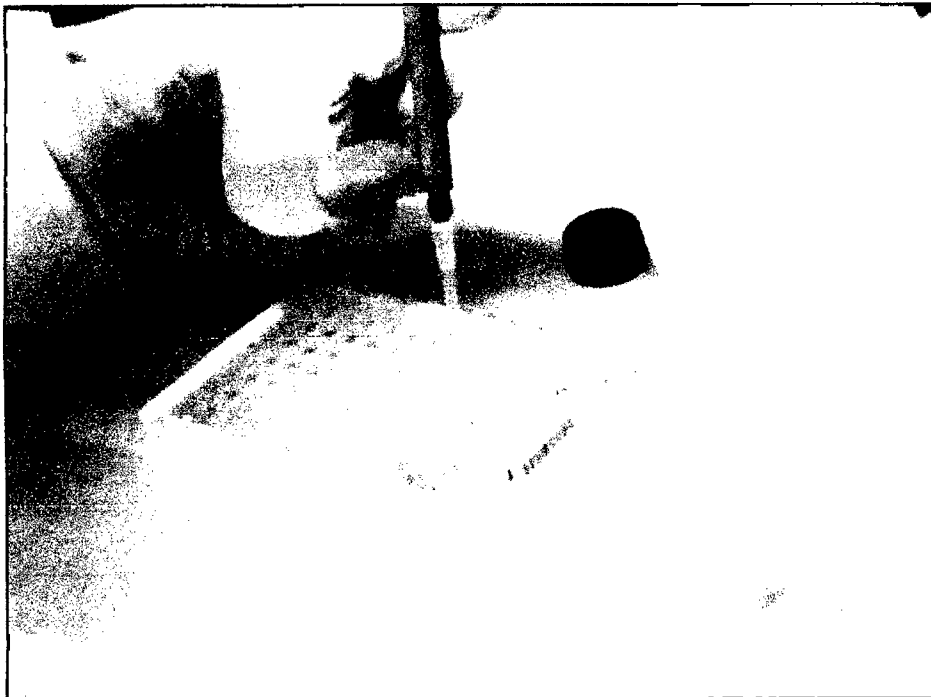


Foto 8: Reacción con el conjugado.

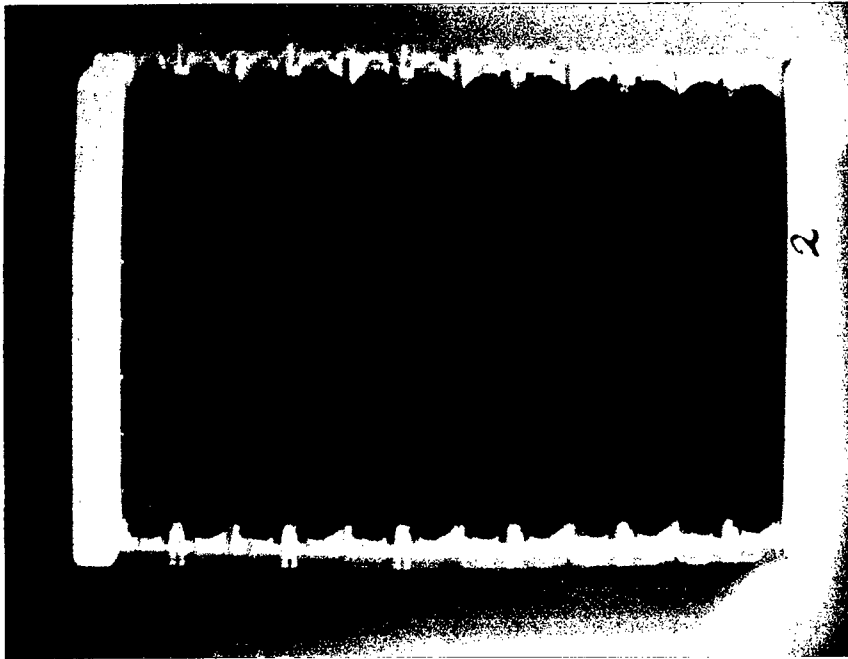


Foto 9: Placa completa con la reacción del conjugado

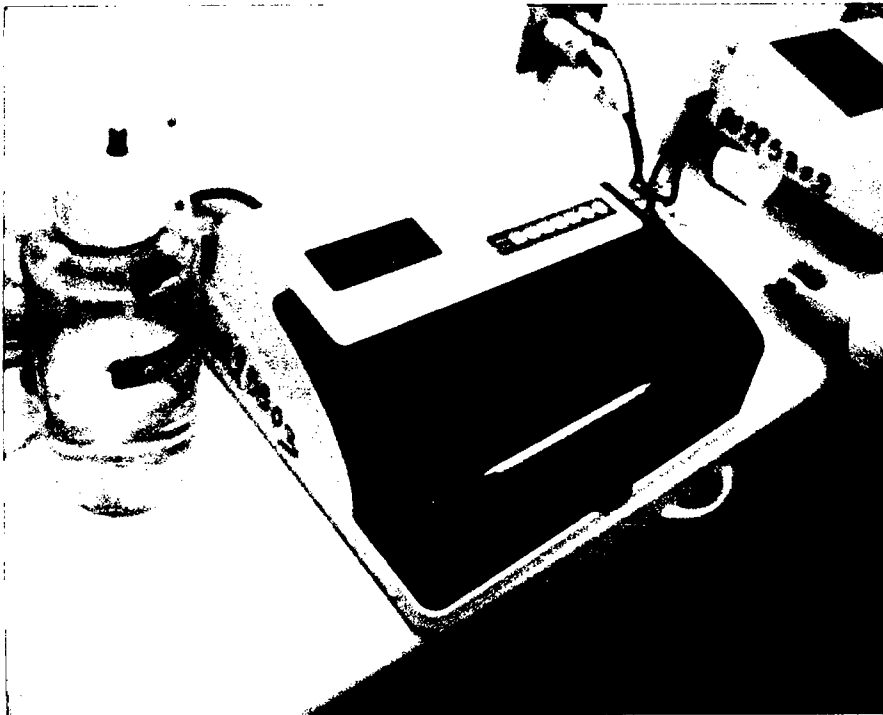


Foto 10: Lavamos las placas con 5 repeticiones.

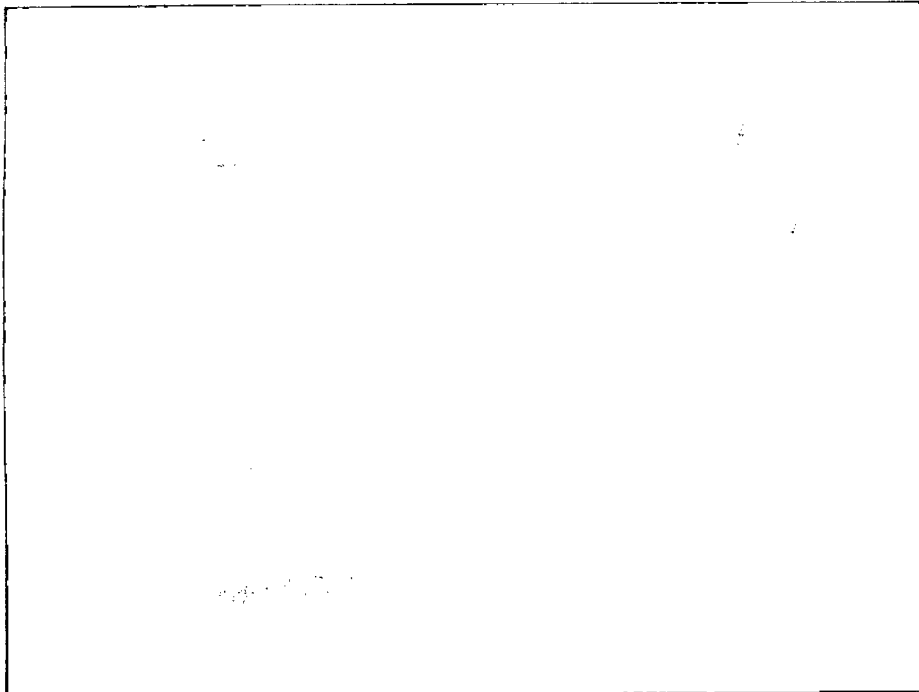


Foto 11: Adición de la solución de frenado



Foto 12: Luego de la solución de frenado se procede a la lectura.