



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (DVB), EN LAS ISLAS SAN CRISTOBAL Y SANTA CRUZ DEL ARCHIPIÉLAGO DE GALÁPAGOS

Trabajo de titulación presentado en conformidad a los requisitos establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

**Profesor Guía:
Freddy Proaño, Ph.D.**

**Autor:
Aurelio Hugo Cabezas Murillo**

**Año
2012**

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUIA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

.....

Freddy Proaño, Ph.D.

CC. 1002081162

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

.....

Aurelio Cabezas

CC. 1716912280

AGRADECIMIENTO

Primeramente, a mis profesores que me han sabido inculcar sus conocimientos éticos y técnicos, y me han acompañado durante estos años de carrera.

A mi tutor, Dr. Freddy Proaño, por aceptar trabajar conmigo en esta investigación, apoyarme y brindarme su asesoría técnica-científica durante la ejecución de la misma.

Dra. Marilyn Cruz (Coordinadora Provincial Agrocalidad – Galápagos), y todo el personal técnico y administrativo, quienes fueron pieza fundamental para la cristalización de la investigación.

Dr. Fabricio Vásquez y Dr. Diego del Castillo, Veterinarios de Agrocalidad y MAGAP respectivamente, que formaron parte del equipo de campo.

Lic. Margoth Barrionuevo quien me brindó su asesoría y ayuda desinteresada en el análisis de laboratorio.

Un especial agradecimiento a Nataly Morales Granda quien me dio las fuerzas y ganas necesarias para llegar al final en busca de este objetivo.

Finalmente, a los ganaderos de Santa Cruz y San Cristóbal, que colaboraron de forma ejemplar durante el muestreo.

DEDICATORIA

Para mis padres, quienes me han apoyado y entendido en toda situación y momento; me han guiado y llevado por un camino de bienestar y honestidad; y me han permitido lograr un objetivo más en mi vida. Ellos, que son la razón de mi existir y la motivación para levantarme cada día con los deseos de seguir enfrentando retos.

Para la población y amigos de Galápagos, que me acogieron cálidamente y me supieron demostrar su aprecio y agradecimiento por mi trabajo realizado.

Y en especial, para mi grupo de amigos de la carrera, con quienes hemos compartido tantos buenos y malos momentos; personas que me brindaron su amistad sin ningún interés ni condición; una amistad que nació, se consolidó y durará para toda la vida.

RESUMEN

La Diarrea Viral Bovina (DVB), es una enfermedad infectocontagiosa de distribución mundial y presente mayormente en hatos lecheros. Sin embargo, en Galápagos no se han efectuado estudios en esta enfermedad.

Este es un estudio de corte transversal que se realizó con el objetivo de determinar la presencia de la DVB en las islas Santa Cruz y San Cristóbal. En total se tomaron 384 muestras sanguíneas, 269 en Santa Cruz y 115 en San Cristóbal, de una población total de 6069 y 1376 bovinos, respectivamente. Las muestras fueron analizadas mediante el test de ELISA-Ac Indirecto (IDEXX).

Los resultados mostraron 35 muestras positivas, con una prevalencia total de 9,12%; la prevalencia por isla fue: 11,33% en Santa Cruz y 4,20% en San Cristóbal, siendo esta mayor en medianos y grandes productores, el rango de edad de los animales con mayor prevalencia esta entre los 2 y 8 años de edad, presentándose solo en hembras. Los factores de riesgo asociados a la presencia de Ac de DVB fueron: el deficiente control en el transporte de animales, falta de conocimiento, edad y tipo de explotación.

La presencia de anticuerpos no son necesariamente indicativos de la existencia de la enfermedad, es necesario comprobar la presencia de antígenos para poder establecer la existencia de la DVB en Galápagos.

Palabras clave DVB, bovino, Galápagos, prevalencia, ELISA-Ac.

ABSTRACT

The viral bovine diarrhea (BVDV) is an infectious disease with a worldwide distribution mostly in dairy-cattle herds. However, there is not any survey on BVDV in the Galapagos Islands.

This is a cross-sectional study which was carried out with the aim to determine the presence of BVDV in Santa Cruz and San Cristobal islands. In total, 384 samples were taken, 269 in Santa Cruz and 115 in San Cristobal, where bovine population is 6069 and 1376, respectively. All samples were analyzed by the use of ELISA-Ab test (IDEXX).

The results demonstrated 35 positives samples, with a total prevalence of 9,12%. The prevalence in Santa Cruz was 11,33%, and 4,20% in San Cristobal. The higher prevalence was founded in medium and large farms, positive reactor were comprised between 2-8 years and all of them were females. The risk factors associated to the positive result to Ab BVDV were: poor animal transportation control, lack of knowledge, age, and type of production.

The presence of antibodies is not precisely an indicative of the disease. It is necessary to prove the presence of virus to determine the BVDV presence in Galapagos Islands.

Key words BVDV, bovine, Galapagos, prevalence, ELISA-Ab.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Historia de la ganadería bovina en Galápagos	3
1.3 Justificación del problema	4
1.4 Hipótesis de la investigación	5
1.5 Objetivos de la investigación	5
1.5.1 Objetivo general.....	5
1.5.2 Objetivos específicos.....	5
CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA	6
DIARREA VIRAL BOVINA	6
2.1 Introducción.....	6
2.2 Etiología	6
2.2.1 Taxonomía y estructura	6
2.2.2 Propiedades fisicoquímicas.	7
2.2.3 Replicación viral.....	7
2.2.4 Variabilidad	8
2.2.5 Clasificación del virus	9
2.2.6 Respuesta inmune.....	9
2.2.7 Hospedador	10
2.3 Patogenia	11
2.3.1 Fuente de infección	12
2.3.2 Transmisión	12
2.3.2.1 Transmisión vertical	13
2.3.2.2 Transmisión horizontal	13
2.3.2.3 Transmisión entre hatos.....	15
2.3.2.4 Transmisión dentro del hato.....	15
2.3.3 Diarrea Viral Bovina Aguda	15
2.3.3.1 Infección subclínica.....	16

2.3.3.2	Complejo diarrea neonatal bovina.....	16
2.3.3.3	Infección aguda severa	16
2.3.3.4	Síndrome hemorrágico.....	17
2.3.3.5	Inmunodepresión y Enfermedades respiratorias.....	18
2.3.3.6	Trastornos reproductivos.....	18
2.3.3.7	Infección venérea.....	20
2.3.4	Infección persistente.....	21
2.3.5	Enfermedad de las mucosas	21
2.3.6	Diarrea Viral Crónica	22
2.4	Epidemiología.....	22
2.4.1	Situación mundial	22
2.4.2	Situación en Latinoamérica	24
2.4.3	Situación en el Ecuador.....	25
2.5	Diagnóstico	27
2.5.1	Diagnóstico clínico.....	27
2.5.2	Diagnóstico de laboratorio	27
2.5.2.1	Pruebas directas	29
2.5.2.1.1	Aislamiento viral	29
2.5.2.1.2	Detección de antígenos virales.....	30
2.5.2.1.3	Detección de ácido nucleico viral	31
2.5.2.2	Pruebas indirectas	31
2.5.2.2.1	Detección de anticuerpos (diagnóstico serológico).....	32
2.5.3	Diagnóstico diferencial.....	33
2.6	Tratamiento	34
2.7	Erradicación y Control	34
CAPÍTULO III: MATERIALES Y METODOS.....		38
3.1	Diseño del estudio.....	38
3.2	Área de estudio	38
3.3	Cálculo de la muestra.....	40
3.4	Selección de fincas	41
3.5	Selección de animales.....	43

3.6	Materiales.....	44
3.6.1	Materiales de oficina.....	44
3.6.2	Materiales de campo	44
3.6.3	Materiales de laboratorio	45
3.6.4	Reactivos.....	45
3.7	Metodología	46
3.7.1	Muestreo.....	46
3.7.2	Análisis de Laboratorio	50
3.7.2.1	Fundamento del Test	50
3.7.2.2	Especificaciones del kit	51
3.7.2.3	Metodología del Test.....	52
3.7.2.4	Lectura de resultados.....	54
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		55
4.1	Resultado del análisis de laboratorio.....	55
4.2	Cálculo de prevalencia de DVB.....	59
4.2.1	Seroprevalencia de DVB por categoría de finca en Santa Cruz y San Cristóbal.....	60
4.2.2	Seroprevalencia de DVB por raza en Santa Cruz y San Cristóbal.....	62
4.2.3	Seroprevalencia de DVB por edad en Santa Cruz y San Cristóbal.....	63
4.2.4	Seroprevalencia de DVB por sexo en Santa Cruz y San Cristóbal.....	65
4.3	Resultado de la encuesta	68
4.3.1	Conocimiento de la Diarrea Viral Bovina	68
4.3.2	Alimentación	68
4.3.3	Tratamientos.....	70
4.3.4	Tipo y objetivo de explotación.....	70
4.3.5	Reproducción.....	71
4.4	Factores de riesgo.....	72
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		75

5.1	Conclusiones.....	75
5.2	Recomendaciones.....	76
	REFERENCIAS	77
	ANEXOS	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa del Archipiélago de Galápagos	1
Figura 2 - Virus de la Diarrea Viral Bovina	7
Figura 3 - Hospedadores de la DVB del Orden Artiodáctila	10
Figura 4 - Hospedadores de la DVB del Orden Artiodáctila	11
Figura 5 - Comportamiento de la DVB a nivel mundial durante el primer semestre de 2011	23
Figura 6 - Comportamiento de la DVB a nivel mundial durante el segundo semestre de 2011	23
Figura 7 - Fincas muestreadas en Santa Cruz	48
Figura 8 - Fincas muestreadas en San Cristóbal	49
Figura 9 - Resultados del diagnóstico de DVB a través del uso de un ELISA en 384 muestras bovinas de las islas Santa Cruz y San Cristóbal.....	56
Figura 10 - Fincas de bovinos seropositivas en Santa Cruz al análisis de laboratorio	57
Figura 11 - Fincas de bovinos seropositivas en San Cristóbal al análisis de laboratorio.....	58
Figura 12 - Seroprevalencia de DVB por sexo en Santa Cruz.....	67
Figura 13 - Seroprevalencia de DVB por sexo en San Cristóbal.....	67
Figura 14 - Distribución de tipo de pastos cultivados en Santa Cruz y San Cristóbal	69
Figura 15 - Prácticas reproductivas en Santa Cruz y San Cristóbal	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 - Población total de bovinos en Galápagos.....	39
Tabla 2 - Población bovina identificada (SITA) en Santa Cruz y San Cristóbal	40
Tabla 3 - Categorización de fincas en Santa Cruz y San Cristóbal.....	42
Tabla 4 - Fincas y bovinos muestreados por cada categoría en Santa Cruz y San Cristóbal	42
Tabla 5 - Materiales de oficina.....	44
Tabla 6 - Materiales de campo	44
Tabla 7 - Materiales de laboratorio	45
Tabla 8 - Reactivos.....	45
Tabla 9 - Prevalencia total de DVB en Santa Cruz y San Cristóbal.....	60
Tabla 10 - Seroprevalencia de DVB por categoría de finca en Santa Cruz.....	61
Tabla 11 - Seroprevalencia de DVB por categoría de finca en San Cristóbal	62
Tabla 12 - Seroprevalencia de DVB por raza en Santa Cruz.....	63
Tabla 13 - Seroprevalencia de DVB por raza en San Cristóbal.....	63
Tabla 14 - Seroprevalencia de DVB por edad en Santa Cruz.....	65
Tabla 15 - Seroprevalencia de DVB por edad en San Cristóbal.....	65

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 - Distribución del suelo para las diferentes actividades productivas en Santa Cruz y San Cristóbal.....	85
Anexo 2 - Estado sanitario de la DVB en Latinoamérica	86
Anexo 3 - Incidencia de la DVB en el Ecuador en 2011	87
Anexo 4 - Presencia de la IBR (Rinotraqueítis Infecciosa Bovina) en Galápagos.....	88
Anexo 5 - Registro de fincas de bovinos muestreados	89
Anexo 6 - Registro de bovinos muestreados	90
Anexo 7 - Fotos	91
Anexo 8 - Guía de movilización de muestras de suero sanguíneo bovino	92
Anexo 9 - Certificado veterinario emitido por Agrocalidad para transporte de muestras de suero sanguíneo bovino.....	93

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

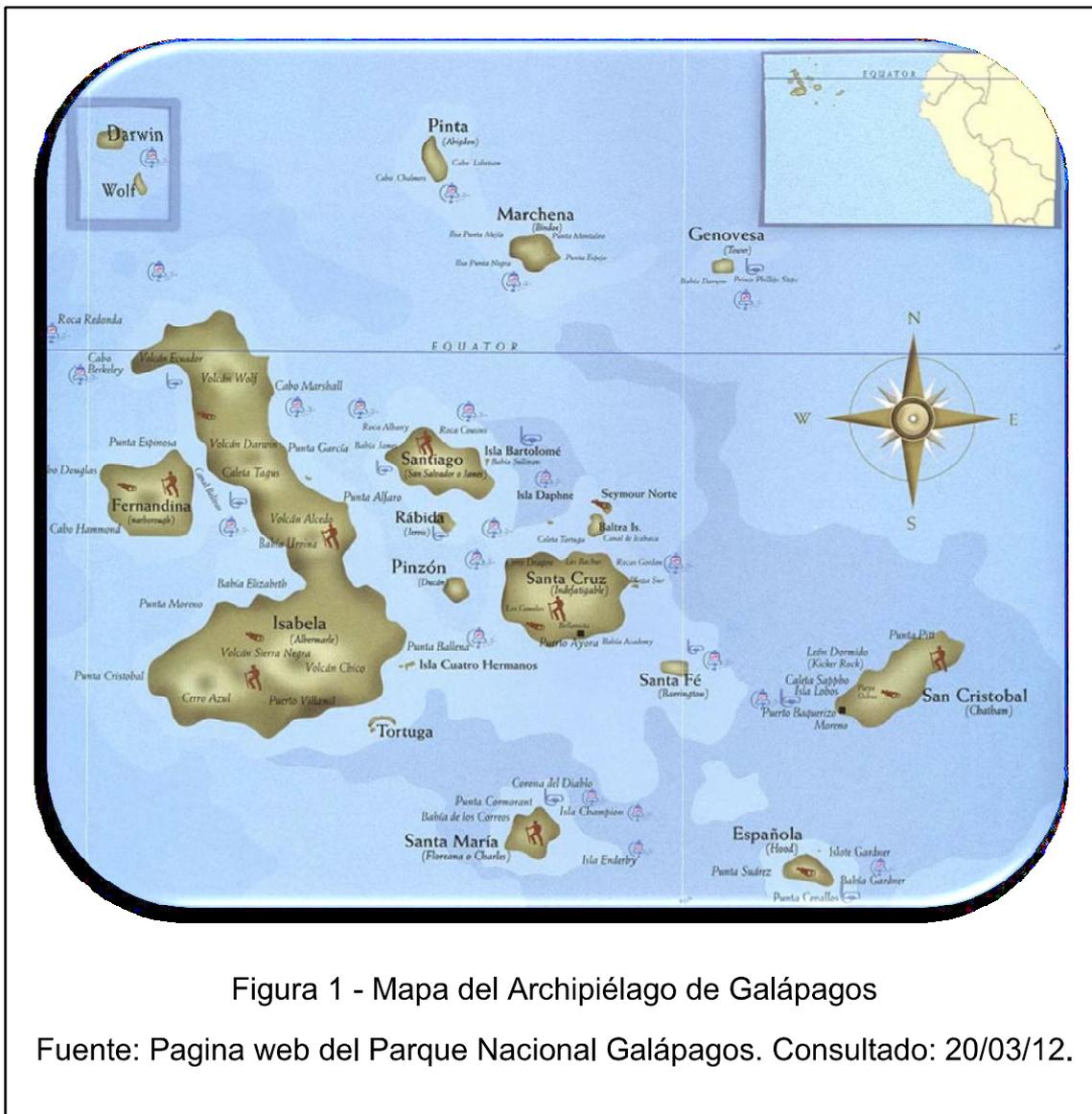


Figura 1 - Mapa del Archipiélago de Galápagos

Fuente: Pagina web del Parque Nacional Galápagos. Consultado: 20/03/12.

Las islas Galápagos son famosas por sus numerosas especies endémicas y por los estudios de Charles Darwin que le llevaron a establecer su Teoría de la Evolución de las Especies por la Selección Natural. Son llamadas

turísticamente “Islas Encantadas” ya que la flora y fauna es prácticamente única y no se la puede encontrar en ninguna otra parte del mundo.

Administrativamente, las islas constituyen una provincia del Ecuador, cuya capital es Puerto Baquerizo Moreno (oficialmente, denominada Región Insular del Ecuador). Está dividida en 3 cantones: Santa Cruz, San Cristóbal e Isabela. El 12 de febrero de 1832, bajo la presidencia de Juan José Flores, fueron anexadas a Ecuador. Desde el 18 de febrero de 1973 constituyen una provincia de la República del Ecuador.

La explotación de recursos naturales después del turismo, han sido los primeros pasos para el desarrollo del Archipiélago de Galápagos. A finales del siglo XIX, empezaron las exportaciones que consistieron más en ganado vacuno, caña de azúcar, azúcar y café. Actualmente, la agricultura y la producción ganadera se orientan fundamentalmente para abastecer el consumo interno, tanto para la población local como para el sector turístico (Sistema de Investigación sobre la Problemática Agraria en Ecuador, 2007).

En la actualidad se ha desarrollado con mucha rapidez las distintas producciones zootécnicas (bovinos de carne y leche, cerdos y aves) en las islas Santa Cruz y San Cristóbal, debido al rápido crecimiento poblacional, económico y turístico, con el que siempre ha contado el archipiélago.

Ambas Islas son de gran importancia tanto turística como económica. Las actividades productivas más representativas son:

- Ganadería.
- Maderera.
- Café.
- Horticultura.
- Agricultura en general.

Ver Anexo 1 - Distribución del suelo en las islas Santa Cruz y San Cristóbal para las diferentes actividades productivas.

Actualmente se considera al Archipiélago de Galápagos, zona ausente de enfermedades infecciosas (Angulo, 2010), está prohibido el uso de biológicos en las distintas producciones; sin embargo, no hay estudios de investigación sobre la prevalencia de enfermedades infecciosas.

La ganadería en Galápagos presenta serias deficiencias en las técnicas de manejo, programas de alimentación y forraje, así como problemas en el abastecimiento de agua para los animales; pese a ello, son varios los esfuerzos que se están realizando para potenciar este sector de vital importancia, para construir un programa integral tendiente al autoabastecimiento alimentario en las islas. La ganadería de Galápagos presenta una gran rusticidad, son especies introducidas pero domesticadas y adaptadas al entorno (Moncayo, 2010, p.1).

Las ganaderías manejadas de forma responsable no representan ningún riesgo para los ecosistemas nativos que rodean las fincas agropecuarias de las zonas rurales de San Cristóbal, Santa Cruz, Isabela y Floreana (Rueda, 2009).

1.2 Historia de la ganadería bovina en Galápagos

En 1832, el General José Villamil, con el cargo de Gobernador de las islas se trasladó al archipiélago, e introdujo diferentes especies animales como: bovinos, caprinos, cerdos, caballos, asnos y perros; animales que en su mayor parte viven en completa libertad (Moncayo, 2010, p.6).

Los bovinos se encontraban distribuidos en las islas: Isabela, San Cristóbal, Santa María y Santa Cruz, en los lugares más áridos alimentándose de cactus y pastos, y a falta de agua dulce tomando agua salada, lo que ha contribuido a su rusticidad (Ubidia, 1974, p.199 – 207).

En la década del 70, Toda esta población de animales tenía un valor estimado en miles de dólares, cantidad que se encontraba congelada, por cuanto no se ponía en marcha una campaña que permita su aprovechamiento racional; solamente cuando existía escasez de carne en el continente, la producción

galapagueña era considerada como un alimento de primera necesidad (Gordillo, 2000, p. 174 – 181).

1.3 Justificación del problema

Esta investigación brinda parámetros y una línea de base sobre el estado sanitario de la Diarrea Viral Bovina y de la producción de ganado bovino en las islas Santa Cruz y San Cristóbal, así como también una seguridad justificada y documentada sobre la ausencia o presencia de dicha enfermedad.

El trabajo consiste en realizar un estudio epidemiológico minucioso y muy bien organizado en cada uno de los puntos productivos de las islas ya mencionadas; intentando abarcar el mayor número posible de hatos bovinos, que proporcionen información de valor técnico y científico.

El estudio presenta un potencial beneficio en el área de salud pública y epidemiología, permitiendo establecer un plan de tratamiento y prevención acorde con la situación biológica de las islas, en caso de que la investigación arroje resultados positivos sobre la presencia del virus; además de contribuir con el desarrollo agropecuario del país, dando un paso más al frente en el control y erradicación de enfermedades infecciosas.

De igual manera proporciona un beneficio importante para los productores de las islas Santa Cruz y San Cristóbal, contribuyendo de cierta manera en la implementación de nuevas y mejores técnicas de manejo, y maximizando indirectamente la producción.

1.4 Hipótesis de la investigación

- “Ausencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB) en las islas Santa Cruz y San Cristóbal del Archipiélago de Galápagos”.

1.5 Objetivos de la investigación

1.5.1 Objetivo general

- Determinar la presencia, de la Diarrea Viral Bovina en las Islas Santa Cruz y San Cristóbal del Archipiélago de Galápagos.

1.5.2 Objetivos específicos

- Identificar la prevalencia de DVB a través de la aplicación del test de ELISA Indirecto.
- Categorizar los resultados obtenidos de acuerdo al tipo de fincas e identificar el estado sanitario actual de la explotación bovina en las Islas Santa Cruz y San Cristóbal.
- Correlacionar los resultados obtenidos e identificar su impacto en la producción ganadera de las islas.
- Proponer estrategias de control de la enfermedad de acuerdo a los hallazgos obtenidos.

CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA

DIARREA VIRAL BOVINA

2.1 Introducción

La diarrea viral bovina es una enfermedad infecciosa que se caracteriza por tener una alta morbilidad y baja mortalidad, es de distribución mundial y endémica en la mayoría de poblaciones bovinas (Lértora, 2003, p.42). Pertenece al grupo de virus que actúan en el complejo respiratorio bovino, siendo por lo tanto, responsable de grandes pérdidas económicas. Afecta principalmente a bovinos, su incidencia es mayor en animales jóvenes, vacas al final de gestación y animales entre 8 meses y 2 años de edad. Fue descrita por primera vez en Estados Unidos en 1946 y desde esa fecha se ha señalado en países como Inglaterra, Australia, Kenia y Alemania, entre otros (Bracamonte, 2006). En Sudamérica ha sido descrita principalmente en Venezuela, Colombia, Perú y Argentina (Rweyemamu, 1990, p. 215 – 221).

2.2 Etiología

2.2.1 Taxonomía y estructura

El virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) pertenece al género Pestivirus de la familia Flaviridae (Donis, 1995, Interacción del vDVB con el hospedador). Son virus envueltos, esféricos y miden de 40 a 60 nm de diámetro. Se componen de una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, rodeada de una membrana fosfolipídica con 3 glicoproteínas anclados a ella (Nettleton, 1995, Pestivirus de los rumiantes).

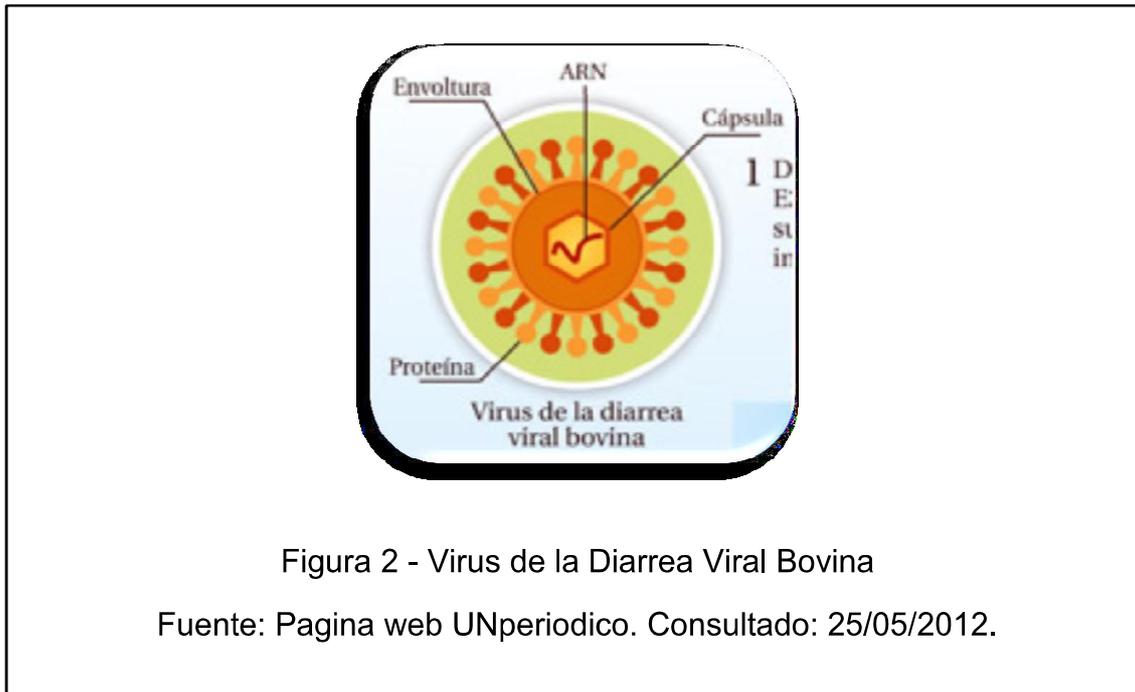


Figura 2 - Virus de la Diarrea Viral Bovina

Fuente: Pagina web UNperiodico. Consultado: 25/05/2012.

2.2.2 Propiedades fisicoquímicas.

Debido a la presencia de lipoproteínas en su envoltura, el virus se inactiva rápidamente con solventes orgánicos y detergentes. También es sensible a la acción de radiaciones ultravioletas y pH extremos de 3 y 11. La infectividad se destruye fácilmente sometiendo al virus a temperaturas de 60°C durante un mínimo de 10 minutos. Presenta una densidad de 1,1 y 1,23 g/cm³ en sacarosa y un coeficiente de sedimentación de entre 140 y 200 S (Valera, 2007, p. 447).

2.2.3 Replicación viral.

El género Pestivirus presenta un especial tropismo por células mitóticamente activas como linfocitos, fagocitos mononucleares y células epiteliales. La replicación comienza en la célula hospedadora. El receptor específico de la célula es una glicoproteína de superficie, mediante la cual el virus ingresa por endocitosis. Luego se produce el desnudamiento de la nucleocápside y la liberación del genoma citosol. El ARN viral es traducido en el ribosoma a una poliproteína, que es clivada por enzimas de origen viral en polipéptidos que constituyen las proteínas estructurales y no estructurales. El ensamblaje tiene lugar tanto en el aparato de Golgi como en el retículo endoplasmático donde

los viriones adquieren su envoltura lipídica. Cada célula infectada libera entre 100 a 1000 viriones que alcanzan el medio extracelular mediante exocitosis; al cabo de 3 horas post-infección pueden detectarse polipéptidos víricos en las células infectadas alcanzando un máximo entre las 12 - 14 horas pi (Valera, 2007, p. 447).

2.2.4 Variabilidad

La variabilidad genética y antigénica es su principal característica (Caropi, 1990). Los virus ARN tienen como principal característica la plasticidad debido a la falta de exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia. El vDVB usa esta estrategia para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador (Donis, 1995, Interacción del vDVB con el hospedador). El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación o por evolución divergente. Otra posible causa para la variabilidad es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados periodos de replicación en animales persistentemente infectados (Lértora, 2003, p. 42).

Aunque según otros estudios demostraron que nuevas variantes antigénicas se originan durante el pasaje del virus en bovinos susceptibles que desarrollan una infección aguda (Bolin, 1992), lo que sugiere que, mientras los animales Persistentemente Infectados son más importantes como reservorios, los animales con infección aguda pueden ser más importantes para la generación de nuevas variantes antigénicas. Las consecuencias de esta diversidad se reflejan en el espectro de manifestaciones clínicas y lesiones, dificultando además, su diagnóstico y limitando el espectro de protección brindada por el empleo de vacunas monovalentes.

2.2.5 Clasificación del virus

Según sus efectos en cultivos celulares, los Pestivirus se clasifican en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte celular, los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. El biotipo NCP es el más abundante (90% de las infecciones se deben a NCP) y el que origina la infección persistente. El biotipo CP se aísla en animales con enfermedad mucosa y se origina por mutación del biotipo NCP. Hay considerables variaciones en la virulencia de las cepas por lo que no se han identificado marcadores de virulencia que permitan un sistema de clasificación en base a su patogenicidad (Lértora, 2003, p. 42). De igual manera no se han podido correlacionar los signos clínicos con las distintas cepas.

La serotipificación ha sido difícil de establecer debido a que no hay suficientes diferencias antigénicas; sin embargo, en el presente se ha establecido que dentro de la especie de virus vDVB-1 hay por lo menos 5 subespecies distintas serológicamente, 1a-1e. (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

La genotipificación es el método aceptado para clasificar a los Pestivirus. Bajo este sistema el vDVB se agrupa en 2 genotipos: vDVB-1 y vDVB-2, el genotipo 1 puede ser dividido en al menos 11 genogrupos y es muy probable que sean más en futuros análisis (Vilcek, 2001, p. 99 – 115).

2.2.6 Respuesta inmune

El vDVB provoca una infección autolimitada y transitoria en terneros normales que suele dar lugar a una fase de inmunodepresión. La respuesta inmune es dirigida contra todas las proteínas estructurales o no estructurales del virus. El vDVB induce ambos tipos de respuesta, tanto de células B como de células T. El virus parece ser capaz de multiplicarse en todas las subpoblaciones de linfocitos y células del aparato inmune. La respuesta inmune mediada por las inmunoglobulinas resulta un importante mediador frente a la infección viral (Valera, 2007, p. 448).

2.2.7 Hospedador

Los Pestivirus infectan naturalmente solo a ungulados del Orden Artiodáctila. El vDVB infecta a bovinos, especie para la cual representa uno de los patógenos más importantes, y es encontrado también en: porcinos, caprinos, ovinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres, estos últimos pudieran actuar como reservorio del virus. Estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los Pestivirus cruzan la barrera de especie (Nettleton, 1995, Pestivirus de los rumiantes).





2.3 Patogenia

La patogenia de cualquier enfermedad pone de manifiesto el balance entre la capacidad del hospedador de resistir la invasión microbiana y la capacidad del microbio de establecerse en el organismo, reproducirse y de este modo provocar un daño (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

Los Pestivirus penetran por ingestión, inhalación, piel o semen y se replican en amígdalas (infección oral o nasal) o en los ganglios linfáticos regionales (vagina, piel). Tras una primera fase de replicación, el virus pasa a la sangre produciendo viremia (12 a 20 horas post infección hasta varias semanas). Tras esta fase, el virus se localiza en los órganos blanco (bazo, ganglios, riñón,

pulmón, médula ósea) donde se producen nuevas replicaciones víricas y las lesiones características (Valera, 2007, p. 447).

Las infecciones con el vDVB originan un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones dependiendo de varios factores del huésped, cepa viral y condición ambiental. Con relación al huésped, dependerá de la edad, estado inmunitario, respuesta inmune inducida, condición de preñez, edad del feto y si el animal es inmunocompetente o inmunotolerante al vDVB. Con relación al virus, se debe tener en cuenta que hay diferencias antigénicas y de virulencia entre sus cepas. Y con relación al ambiente, el estrés, y presencia de patógenos oportunistas (Obando, 2005, p. 317 – 321).

2.3.1 Fuente de infección

La principal fuente de infección y reservorio del virus, son los bovinos persistentemente infectados (PI) (Houe, 1995, Epidemiología de DVB). Cuando el feto es infectado antes de los cuatro meses de gestación (120 – 125 días) con un biotipo NCP, su sistema inmune no es capaz de reconocer al virus como invasor y se convierte en inmunotolerante al virus infectante toda su vida. Los becerros desarrollan tolerancia específica al virus y no desarrollan anticuerpos. El virus persiste en todos los tejidos, especialmente en las células del sistema inmune y en otros como el sistema nervioso central. Los becerros liberan el virus en todas las secreciones y excreciones corporales. Esto es lo que se conoce como animal PI.

2.3.2 Transmisión

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

2.3.2.1 Transmisión vertical

La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles que se infectan durante la preñez. En muchos de los casos la transmisión vertical es precedida por una horizontal a la madre, y durante esta infección aguda de la madre, el virus atraviesa la placenta e infecta al feto. Si el feto es infectado por el biotipo NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación) desarrollara una infección persistente. Los neonatos que no hayan recibido leche materna, y resulten con importantes concentraciones de inmunoglobulinas son indicativos de estímulo antigénico intrauterino. La tasa de mortalidad en el primer año de vida alcanza el 50%, pero muchos llegan a la madurez sexual y se reproducen. Las hembras PI siempre darán terneros PI. Esta transmisión también ocurre luego de la transferencia embrionaria si la receptora es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza un correcto lavado del embrión (Houe, 1995, Epidemiología de DVB). Se estima que del 1-3% de los bovinos de un establecimiento ganadero con DVB presentan la condición de PI. (Odeón, 2006, p. 24 – 30).

2.3.2.2 Transmisión horizontal

El contacto directo con animales PI, es la forma más importante de transmisión en condiciones naturales; y la más eficiente es el contacto nariz-nariz. Así mismo, el contacto directo con animales que cursan una infección aguda también transmite el virus (Houe, 1995, Epidemiología de DVB).

Según experimentos se ha demostrado la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovino PI a bovinos centinelas, aunque la vía aerógena no es la principal ruta de transmisión, puede tener un grave impacto cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con alta densidad animal. (Lértora, 2003, p. 43 – 44).

El semen crudo o crio preservado (el virus resiste la temperatura de congelación) de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión. Aunque se puede evitar este contagio, implementando un periodo

de cuarentena que supere la fase aguda, y recurrir al aislamiento viral en los centros de inseminación. El virus puede eliminarse por un corto periodo más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por semen. Esto se presenta cuando la infección ocurre durante la pubertad, que es el momento en el cual se forma la barrera inmunológica hemato-testicular, lo que permite que el virus se replique dentro del testículo y evada la respuesta inmune (Fray, 2000, Efectos de la DVB en bovinos de reproducción).

La transmisión por transferencia embrionaria es otra posibilidad. Los cultivos celulares y el suero fetal bovino pueden estar contaminados, así como también la mayoría de células del tracto reproductivo son permisibles al virus. Los embriones producidos in vivo, recolectados de vacas, natural o artificialmente infectadas, no actuarían como vectores para la transmisión de la enfermedad si se cumplen con los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria; aunque estos no garantizan que los embriones estén libres del virus ya que pueden desarrollarse de oocitos infectados. Pese a que no se ha demostrado si estos oocitos infectados son capaces de desarrollarse hasta la ovulación, no debe descartarse el potencial de las células germinales para transmitir el vDVB. Los embriones producidos in vitro son una fuente potencial de ingreso del vDVB. La zona pelúcida de estos embriones presenta alteraciones estructurales y bioquímicas que permiten al virus penetrar hasta el 50% de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus. Aunque no se ha determinado si la cantidad de virus en estos embriones podría constituir una dosis infectiva para receptoras susceptibles vía intrauterina (Stringfellow, 2000, Epidemiología en producción in vivo e in vitro de embriones).

Experimentalmente se han demostrado varias vías de transmisión indirecta como el uso de agujas, palpación rectal e insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. (Houe, 1995, Epidemiología de DVB).

Sin embargo, su importancia no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva fácilmente. Es rápidamente inactivado por el calor, desecación, rayos UV, detergentes, solventes orgánicos y pH entre 5,7 a 9,3. Otro modo importante de transmisión es el uso de vacunas a virus vivo modificado o vacunas contaminadas (Houe, 1995, Epidemiología de DVB).

2.3.2.3 Transmisión entre hatos

La principal forma de introducir el virus a un hato, es la introducción de animales PI o hembras con fetos PI. Así mismo, el uso de vacunas vivas, semen contaminado, convivencia con ovinos, transferencia embrionaria y contacto con bovinos con infección aguda (Houe, 1995, Epidemiología de DVB).

2.3.2.4 Transmisión dentro del hato

Depende de la forma que ingreso el virus, por ejemplo: si el virus ingreso por un animal PI, la transmisión será rápida y afectará a la mayoría de animales del rebaño. Por el contrario, si el virus ingresó por un animal con infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje de animales antes de que pare la transmisión. Aquí también debemos considerar el sistema de producción y la virulencia de la cepa. La diseminación del virus es más eficiente en sistemas de producción intensiva donde hay mayor contacto entre animales y con cepas virulentas (Tremblay, 1996, Transmisión del vDVB).

2.3.3 Diarrea Viral Bovina Aguda

Es una infección postnatal aguda, de severidad variable, en bovinos seronegativos e inmunocompetentes (Baker, 1987, Revisión de DVB).

2.3.3.1 Infección subclínica

En Estados Unidos y Canadá, el 70 a 99% de los bovinos susceptibles desarrollan esta forma subclínica (Rivera, 1993, p. 1) y en Inglaterra el 95% de los hatos lecheros (Brownlie, 2000, 176 – 187). Denominada también “infección Primaria” (Obando, 2005). Este término se refiere a la primera infección natural en un bovino inmunocompetente; inmunocompetente se refiere a que su sistema inmunológico tiene capacidad de responder generando anticuerpos y activando la inmunidad celular. La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado; con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad (Constable, 1993, p. 383 – 385). Se desarrollan anticuerpos neutralizantes a los 14 a 28 días postinfección y que probablemente persisten por muchos años; consecuentemente existirá la protección contra reinfecciones por cepas homologas (Fredriksen, 1999, p. 111 – 114). Muchas veces este tipo de infección predispone al animal a otras infecciones como: IBR, Pasteurella, Rotavirus, Coronavirus, Salmonella (Brownlie, 2000, p. 176 – 187), debido al carácter inmunosupresor de virus. Usualmente estas infecciones pasan desapercibidas en un 70 a 90%.

2.3.3.2 Complejo diarrea neonatal bovina

Los anticuerpos que recibe el ternero de la madre a través del calostro y leche se agotan entre los 105 y 230 días de edad. Cuando fracasa la transferencia pasiva de anticuerpos, el virus participa en el complejo diarrea neonatal de los terneros. Infecciones concurrentes con entero patógenos resultan en manifestaciones clínicas más severas, a veces fatal, debido al efecto inmunodepresor del vDVB o simplemente a una sumatoria de efectos. (De Verdier Klingenberg, 2000, Infecciones virales combinadas).

2.3.3.3 Infección aguda severa

Es producida como consecuencia de la infección aguda con el vDVB grupo 1 (Brownlie, 2000, 176 – 187). Inicialmente se prestaba poco interés a las

infecciones agudas, dada su baja mortalidad. Sin embargo, cada vez son más frecuentes los informes de infección aguda severa de elevada morbilidad y mortalidad, asociada con virus de alta patogenicidad, caracterizada por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita (Drake, 1996, p. 208). En otros casos, la exposición a cepas de alta virulencia ocasiona una enfermedad con signos clínicos y lesiones anatomopatológicas similares a la enfermedad mucosal (Hibberd, 1993, p. 227 – 228).

2.3.3.4 Síndrome hemorrágico

Producido por el vDVB genotipo 2. Se caracteriza por presentar mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas, melena, epistaxis, hemorragia en sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia, y muerte (Pernthaner, 1997, p. 104 – 107).

Estos signos se atribuyen a la alteración de la función plaquetaria. Se ha demostrado una disminución de las plaquetas a la agregación y aunque se desconoce el mecanismo de estas alteraciones, es probable que el virus actué por uno o más de estos mecanismos (Walz, 1999, Efecto de la DVB tipo II inducida experimentalmente):

- Se ha detectado antígeno viral en los megacariocitos, lo que podría resultar en una menor producción de plaquetas y en un incremento en el porcentaje de plaquetas envejecidas.
- El virus se aísla de trombocitos y una interacción virus-plaqueta directa puede afectar la respuesta plaquetaria a la agregación.
- Aumento en la producción de sustancias inhibitoras de la agregación plaquetaria; bovinos infectados con el vDVB presentan altas concentraciones de prostaglandina E y óxido nítrico.

Hay una fuerte correlación entre la fase trombocitopénica y la viremia; además, la recuperación del recuento plaquetario está estrechamente relacionada con la

aparición de anticuerpos neutralizantes. Esto sugiere que este síndrome es el resultado de una alteración y consumo de los trombocitos periféricos, más que una alteración en su producción. (Hamers, 2000, p. 250 – 258).

2.3.3.5 Inmunodepresión y Enfermedades respiratorias

El vDVB es parte importante del Complejo Respiratorio Bovino, por ser un agente inmunosupresor debido a la afinidad por el tejido del sistema inmune. El virus produce atrofia del tejido linfoide, profunda leucopenia, alteración en la función de las células polimorfonucleares, supresión de la producción de interferón y otras disfunciones que favorecen a la invasión y sinergismo de otros microorganismos neumotrópicos: Pasteurella, Herpes Bovino 1 (IBR), Mycoplasma, etc. dando lugar a un proceso respiratorio agudo (Baker, 1987, Revisión de DVB).

El vDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios. Además se ha demostrado que ciertos virus de la DVB actúan como agentes primarios de neumonías (Baule, 2000, p. 9 – 38).

En un estudio en terneros de 2 días a 6 meses de edad con problemas respiratorios en diferentes hatos del Valle de Lima, se encontró al vDVB como uno de los agentes asociados al Complejo Respiratorio con 54% de prevalencia, sugiriendo que el virus por ser inmunosupresor pudo haber iniciado o potencializado el efecto patogénico de otro virus como el HBV-1 (Rivera, 1993, p. 1 – 11).

2.3.3.6 Trastornos reproductivos

Es el que produce mayor impacto económico; la infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad. Es posible detectar el antígeno viral entre los 6 a 60 días post infección (Grooms, 1998, p. 125 – 129).

La infección fetal depende de dos variables principales: la edad del feto en el momento de la infección y el biotipo del virus infectante (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

La infección durante el primer trimestre de la vida fetal (0 a 110 días) puede provocar aborto, lesiones congénitas o nacimiento de terneros PI. Durante el segundo trimestre (110 a 190 días) puede haber lesiones congénitas y pérdidas fetales, mientras que en el tercer trimestre el feto es inmunocompetente y capaz de producir una respuesta inmune activa (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

El vDVB provoca retardo en el crecimiento intrauterino de varios tejidos fetales, particularmente el SNC, esqueleto y timo. También se ha observado la hipomielinización del SNC asociada a la hipoplasia de timo. Otro hallazgo frecuente es la localización del virus en el endotelio vascular y como consecuencia de la vasculitis puede haber inflamación, edema, hipoxia y degeneración celular (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

Lértora (2003) divide en 4 periodos el impacto del vDVB durante la preñez, en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante los siguientes intervalos:

- 1) Etapa Embrionaria (0 a 45 días), las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento del apareamiento ocasiona muerte embrionaria y repeticiones de servicio hasta que desarrollen respuesta inmune (Virakula, 1988, Fertilidad reproductiva). El virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de los embriones hasta el día 8 a 9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles. El resultado puede ser citolítico o no y ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico y como consecuencia malformaciones.
- 2) Del día 45 de gestación cuando termina la etapa embrionaria hasta el día 125 de gestación cuando el feto adquiere competencia inmunológica al virus; la infección con biotipos NCP antes de que el feto adquiera competencia inmunológica, resulta en el nacimiento de animales PI e

inmunotolerantes. En este periodo también se produce muerte fetal con momificación o abortos, y un pequeño porcentaje de teratogénesis (Duvobi, 1994, Impacto de la DVB en ganado de reproducción).

- 3) Del día 125 al 175 de gestación, cuando ya comienza la inmunocompetencia fetal y organogénesis. Hay presencia de malformaciones como: hipoplasia cerebelar, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, alopecias, retraso del crecimiento, deformaciones esqueléticas, entre otros (Constable, 1993, 383 – 385). Algunas explicaciones de estas malformaciones serían el daño celular directo por el virus o la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal.
- 4) Del día 175 de gestación en adelante, cuando el feto se encuentra en un periodo de crecimiento general y es inmunológicamente competente. El resultado es el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles, y abortos ocasionales (Moening, 1995, Patogenia de infecciones intrauterinas con DVB).

2.3.3.7 Infección venérea

El semen de toro infectado durante la etapa fetal o de toros con infección aguda, contiene el vDVB. Muchos toros PI son estériles o producen semen de mala calidad, mientras que en otros la calidad es aceptable, pero en ambos casos el semen contiene altos títulos de vDVB (Obando, 2005, 317 – 321). En este caso, los espermatozoides tienen una motilidad disminuida y puede también presentar anomalías morfológicas (Grahn, 1984, 429 – 432). Sin embargo, el virus afecta a la fertilización y no a la concepción, caracterizándose por repeticiones de celo e incremento en el número de servicios por concepción. Este problema puede ser pasajero y eliminarse cuando la vaca adquiera inmunidad contra el virus (Baker, 1987, Revisión de DVB). La comercialización de germoplasma y la transferencia de embriones fueron en sus inicios, medios de transmisión de DVB pero en la actualidad estos riesgos

son mínimos si el germoplasma proviene de industrias con buen control sanitario.

Un estudio de una infección aguda en toros jóvenes demostró una consecuencia tardía de la infección. El animal se infectó entre los 6 a 9 meses de edad, momento en el cual el virus cruza la barrera sanguínea hacia los testículos; a pesar de que el toro produjo anticuerpos contra el virus, los anticuerpos no fueron capaces de atravesar la barrera hacia los testículos de modo que el virus fue capaz de establecer una infección persistente en los túbulos seminíferos. En este caso el virus se eliminaba continuamente por el semen durante periodos prolongados, entre los 7 y 22 meses de edad (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

2.3.4 Infección persistente

La mayoría de terneros con esta infección nacen de vacas normales que fueron infectadas con el biotipo NCP durante los 4 primeros meses de gestación, pero también las vacas con infección persistente dan crías de igual condición. Un ternero con esta forma de infección se caracteriza por el aspecto prematuro, por ser vulnerables a problemas entéricos y respiratorios, y el 50% usualmente mueren durante el primer año de vida (Rivera, 1993, p. 1 – 11). Aunque algunos pueden tener apariencia normal y llegar a madurez sexual; estos animales son los reservorios y diseminadores del virus, y son los que llegan a desarrollar la enfermedad clínica de las mucosas, de carácter fatal, (Ames, 1986). En Estados Unidos la ocurrencia de estos terneros es del 1 a 2% (Ames, 1990, Epidemiología y patogenia de la DVB).

2.3.5 Enfermedad de las mucosas

Es la forma fatal de la DVB que se observa exclusivamente en animales inmunotolerantes y PI que sufre sobreinfección con biotipos CP homólogos; usualmente entre 6 meses y 2 años de edad. Al inicio se caracteriza por severa leucopenia, decaimiento, inapetencia, fiebre y diarrea acuosa, con presencia de

moco y sangre; mucosa dental sangrante y erosiones en la mucosa oral y nasal, lengua y algunas veces paladar. Hay casos donde se han reportado laminitis y resistencia al movimiento debido a las lesiones erosivas y necrosis de la piel en el espacio interdigital; esta forma de enfermedad puede cursar aguda o crónicamente, pero siempre es fatal (Obando, 2005, p. 317 – 321).

2.3.6 Diarrea Viral Crónica

Esta forma es una secuela de la Enfermedad de las Mucosas o de la forma Aguda de DVB y se caracteriza porque el animal presenta una diarrea intermitente, ulceraciones en la cavidad buconasal, en los espacios interdigitales, debilitamiento y muerte, después de semanas o meses de sufrir la enfermedad (Baker, 1987, Revisión de DVB).

2.4 Epidemiología

2.4.1 Situación mundial

La DVB tiene una distribución mundial, es endémica en la mayoría de poblaciones bovinas, aunque el grado de difusión varía entre regiones y países. Fue descrita por primera vez en 1946 y desde esa fecha se ha abierto paso mundialmente (Houe, 1995, Epidemiología de DVB). Es una enfermedad de gran importancia económica por lo que en los últimos años su estudio y experimentación ha aumentado notablemente. Encuestas en diferentes países, alcanzan niveles de 0,5 a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovinos seropositivos (Organización Internacional de Sanidad Animal, 2011).

En las figuras 5 y 6, se puede apreciar el comportamiento de la enfermedad durante el primer y segundo semestre de 2011 respectivamente.

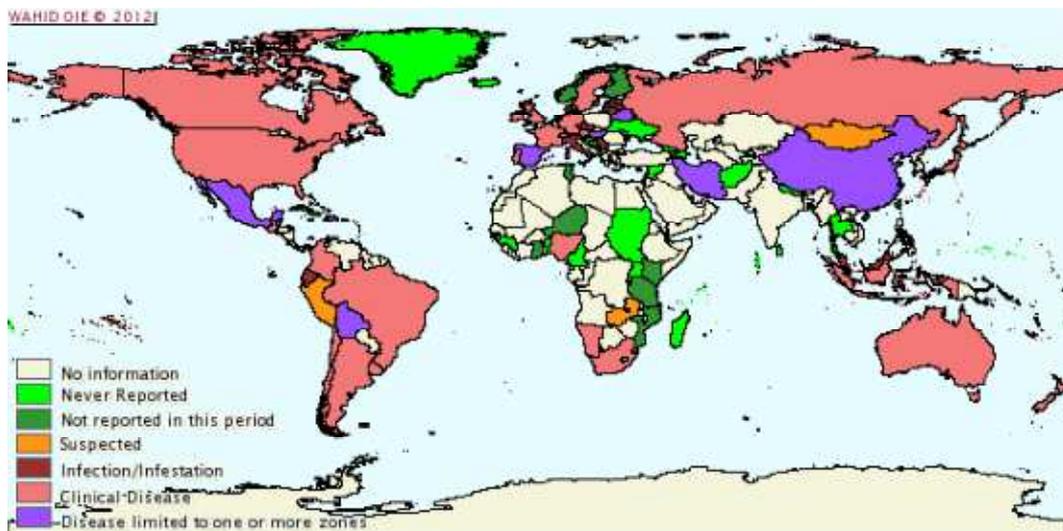


Figura 5 - Comportamiento de la DVB a nivel mundial durante el primer semestre de 2011.

Fuente: Pagina web Organización Mundial de la Salud Animal (OIE).
Consultado: 20/12/2011.

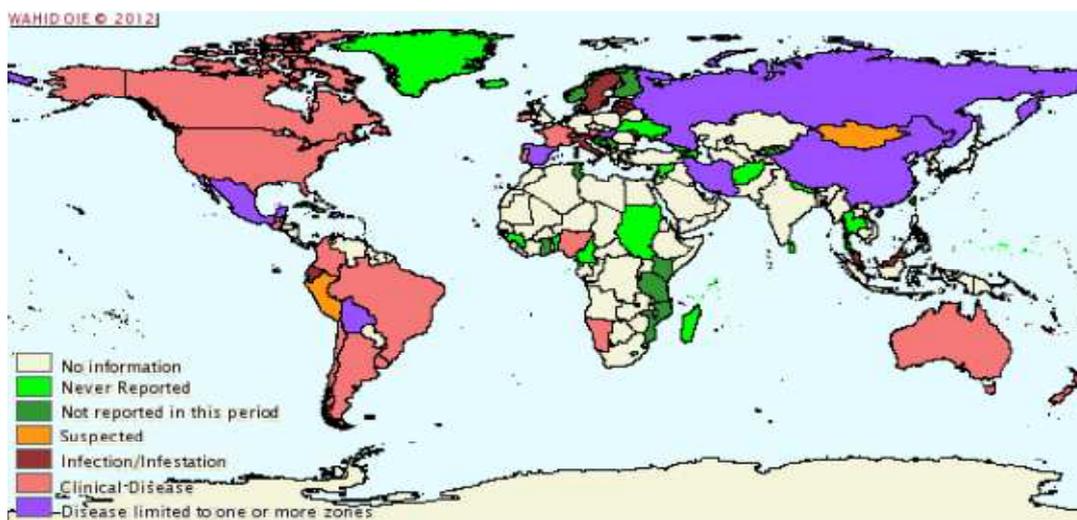


Figura 6 - Comportamiento de la DVB a nivel mundial durante el segundo semestre de 2011.

Fuente: Pagina web Organización Mundial de la Salud Animal (OIE).
Consultado: 20/12/2011.

2.4.2 Situación en Latinoamérica

En la década del 90 se realizó el primer estudio sobre “Incidencia, epidemiología y control de la diarrea viral bovina en América del Sur”. En aquellos años, la DVB era considerada como exótica en la región (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, 1987). Dicho estudio determinó que Argentina y Brasil fueron los países que primero reportaron casos en el continente, mientras que encuestas serológicas confirmaron la infección en Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Perú y Uruguay con una tasa de incidencia oscilando entre 37 y 77%; este estudio no fue realizado en Ecuador y Bolivia. (Rweyemamu, 1990, p. 215 – 221).

Ver Anexo 2 - Estado sanitario de la enfermedad en Latinoamérica en 2011

En Honduras, la prevalencia de la enfermedad sería aproximadamente del 17% según un estudio realizado en 10 explotaciones ganaderas (Sobalvarro, 2003, p. 1).

En Argentina, se analizó la “Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, Herpesvirus Bovino y Virus Sincicial Respiratorio Bovino”, este estudio evaluó 2936 sueros en la provincia de Buenos Aires, 2184 sueros al sur de la provincia de Corrientes y 1290 sueros en los Llanos de la Rioja. Se evaluaron 3 categorías de bovinos: a) de 6-12 meses de edad, b) de 1-2 años de edad y c) mayores de 2 años. Se encontraron altos porcentajes de prevalencia de DVB, que variaron entre 40-90% en las distintas zonas y categorías. Los resultados obtenidos, sugirieron la asociación entre los sistemas de producción y la prevalencia de las 3 infecciones (Odeón, 2001, p. 216 – 221).

En Chile, el siguiente estudio, “Puesta en evidencia del virus de la diarrea viral bovina en bovinos clínicamente infectados”, realizado en 33 animales, detectó la presencia del virus en 23 del total de animales. En dichos animales se aislaron cepas NCP y en 6 de ellos se encontró también el virus de IBR. El estudio concluye que la presencia de DVB es de alta frecuencia en muestras clínicas de ganado bovino con patologías asociadas (Celedón, 1997, p. 187 – 195).

El Municipio de Montería (Colombia), fue otro lugar seleccionado para un estudio de “Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina”, los resultados mostraron que un 29% de los bovinos dieron seropositivos. La presencia de la infección por DVB según el análisis de resultados, podría mostrar que la infección se da por transmisión venérea. Resultados que según Betancurt y sus colaboradores, deberían alertar las autoridades sanitarias para que implementen estrategias de control y prevención de la enfermedad (Betancur, 2007, p. 11 – 16).

En Perú, a diferencia de los demás países de Sudamérica, los estudios sobre DVB son más comunes. En el Valle de Lima por ejemplo, la prevalencia de la enfermedad es del 5,5%; aunque todavía se encuentran hatos libres del virus o con prevalencia muy baja (Aguilar, 2006, p. 148 – 153). En Arequipa existe una amplia distribución del vDVB y de igual manera existe la presencia de animales PI (Huaman, 2007, p. 141 – 149). En la provincia de Melgar, se obtuvieron conclusiones más interesantes, la prevalencia varía de 15-94%, y se determinó a las ferias ganaderas y la falta de control en el tránsito interno de animales como los principales factores que promueven la difusión del virus (Quispe, 2008, p. 176 – 182).

2.4.3 Situación en el Ecuador

En el Ecuador son escasos los datos específicos y estudios publicados de la enfermedad. Aunque según datos de la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE), desde el 2005 hasta la presente fecha hay reportes de múltiples casos de infecciones sin manifestaciones clínicas en la mayoría de las provincias del país. Pichincha es la provincia que más casos de infección sin manifestaciones clínicas en los últimos 7 años reportó.

Ver Anexo 3 – Incidencia de la DVB en el Ecuador en 2011.

Jara (2007, p. 29 – 38) en su estudio realizado en Loja sobre Seroprevalencia de DVB e IBR, demostró la presencia de la enfermedad en dicha provincia, en el trabajo citado se muestrearon 734 animales a lo largo de los distintos

sectores de la provincia. De las 734 muestras, analizadas mediante la prueba de ELISA Indirecto, 118 animales dieron positivos al test; lo que nos da un porcentaje del 16,06% de animales positivos en la provincia. El estudio determinó que la mayoría de ganaderos no cumplen con un buen programa de vacunación en dicha zona y es por esta razón que el virus se encuentra circulando por todos los hatos ganaderos; de igual forma nos complementa que la edad no es un factor determinante para la presencia del virus, en contraste con el sistema de explotación que si es un factor de riesgo para la enfermedad y demuestra que existen animales que comparten el virus de IBR y DVB.

Otro estudio realizado por Saa et al., (2008 – 2009, p. 645 – 649) en Azuay, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo en animales no vacunados de hatos lecheros y de doble propósito nos demuestra que obtuvieron una prevalencia de 36,2% en individuos y de 74% en hatos. La prevalencia dentro de cada hato varió entre el 11% y 100%. Este estudio recolectó 2367 sueros sanguíneos distribuidos en 346 hatos de las provincias antes indicadas y para obtener este número de muestra asumieron una prevalencia de 70% basada en estudios no publicados en el área.

En el resto del Ecuador continental no hay datos relevantes sobre la enfermedad por lo que no se puede hacer una real estimación del estado sanitario actual de la misma.

En el Archipiélago de Galápagos no hay información ni estudios acerca del virus de la Diarrea Viral Bovina. No se han reportado casos sobre posible presencia de la enfermedad en ninguna de sus islas, pero la expectativa aumenta con el pasar del tiempo por el continuo desarrollo pecuario que existe en las islas, además del el contrabando de animales.

En los últimos años se han dado brotes de algunas enfermedades como IBR (Del Castillo, 2011), desde enero del 2005 hasta la presente fecha se presentaron 117 casos confirmados de IBR en las islas (OIE, 2011). Anteriormente se había mencionado que el virus de IBR puede convivir conjuntamente con el de DVB (Jara, 2007); además de ser ambos parte del

complejo respiratorio bovino e incluso de que está demostrado que en el Ecuador el virus se encuentra presente sin manifestaciones clínicas (OIE, 2001) pues se puede prever de que es muy posible que el vDVB esté presente en Archipiélago de Galápagos.

Ver Anexo 4 - Presencia de IBR (Rinotraqueítis Infecciosa Bovina) en Galápagos.

En la actualidad el MAGAP a través de Agrocalidad, está implementando un programa de identificación y trazabilidad de los animales en todas las islas, además de un estudio sobre otras enfermedades infecciosas en ganado bovino (Cruz, 2011), dicha campaña y estudio van a colaborar de gran manera con el presente ya que se podrá establecer una investigación de mayor peso legal y técnico.

2.5 Diagnóstico

2.5.1 Diagnóstico clínico

El diagnóstico presuntivo de la DVB en un hato bovino puede ser sospechado en base a la observación de sistemas clínicos; pero debido al amplio tipo y severidad de lesiones inespecíficas, en ocasiones solo evidenciadas mediante microscopia, el diagnóstico se basa únicamente en aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico (Bielefeldt, 1983, p. 5 – 10).

2.5.2 Diagnóstico de laboratorio

Hay varios métodos y protocolos para el diagnóstico de laboratorio de la DVB, lo que no está claro y es muy importante para el clínico, es comprender las excepciones que confunden el diagnóstico de los animales PI, estas excepciones son (Brownlie, 2000, p. 176 – 187):

- Infección aguda: La muestra de sangre tomada en el pico de viremia del periodo agudo puede ser a veces ELISA +.
 - Procedimiento: Si se toman 2 muestras pareadas cada 3 a 4 semanas, ambas muestras deben ser positivas.
- Calostro: Puede enmascarar la detección de viremia persistente en sangre durante 3 a 4 meses.
 - Procedimiento: Se deben tomar muestras de sangre, ya sea pre calostro o luego de los 4 meses de edad.
- Terneros PI "in útero": Los fetos infectados pueden permanecer PI durante toda la preñez y al nacer reintroducen el virus en el hato.
 - Procedimiento: La mejor medida de seguridad para cualquier hato es vacunar todas las hembras. Las madres con terneros PI tienen a menudo altos niveles de anticuerpos y así los anticuerpos en suero pueden dar una buena indicación del nacimiento de un ternero PI.
- Animales PI seropositivos: Algunos animales PI pueden tener anticuerpos para el virus de DVB. Habitualmente estos anticuerpos son para cepas heterólogas del virus de DVB (siempre mantienen viremia) o para variantes homólogas del virus de DVB (con pérdida transitoria de viremia).
 - Procedimiento: Repetir el sangrado de animales problema.
- Toros: Se ha demostrado que los toros PI seronegativos, eliminan el virus por semen y algunos toros seropositivos también pueden hacerlo.
 - Procedimiento: Analizar el semen.
- Cepas del virus de DVB genéticamente diferentes: Los métodos actuales para detectar antígenos y anticuerpos del virus de DVB están diseñados para detectar virus del grupo I. Cualquier otra cepa no puede ser detectada.

2.5.2.1 Pruebas directas

La muestra ideal para el diagnóstico es la sangre con y sin anticoagulante, tomada preferiblemente durante los primeros 3 días de observar los síntomas clínicos (Obando, 2006, 317 – 321).

Si el estudio se realiza con anticoagulante, su objetivo es utilizar glóbulos blancos para el aislamiento viral, detección de antígeno o de genoma viral, debido a que el vDVB tiene una fuerte afinidad por ellos. Las muestras sin anticoagulante son destinadas a la obtención de sueros, útiles para el aislamiento viral y para la medición de anticuerpos por seroconversión.

En caso de presentarse abortos deben recolectarse trozos de hígado, bazo, riñón y pulmón de los fetos abortados, además de la placenta y enviarlos en bolsas plásticas selladas o en frascos estériles herméticamente cerrados, en un recipiente adecuado para su conservación (Obando, 2006, p. 317 – 321).

2.5.2.1.1 Aislamiento viral

Es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Por su alto costo económico, no es recomendado para ser usado en diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación (Lértora, 2003, p. 47). Es un método que no ofrece dificultades siempre y cuando, la colección y transporte de las muestras (bazo, ganglios, riñón, sangre con EDTA) al laboratorio sea adecuada, y que el laboratorio disponga de células susceptibles y libres de DVB endógeno, y obviamente cuente con reactivos de buena calidad (Duvobi, 1996, Diagnóstico de laboratorio de DVB).

Dado que los 2 biotipos del virus (NCP y CP), pueden dar lugar a los mismos signos clínicos, se supone que puede aislarse cualquiera de los 2 biotipos. Si el biotipo es CP (menos común) se observa la lesión característica en el cultivo celular o efecto citopatogénico; si se trata del biotipo NCP (más común en campo) no se produce ninguna lesión citopática, por lo tanto es necesario una prueba adicional, inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa.

2.5.2.1.2 Detección de antígenos virales

Este procedimiento es rápido y disponible en la mayoría de laboratorios. Consiste en la visualización de antígenos del virus (proteínas) directamente en una pequeña muestra, mediante técnicas como la inmunofluorescencia o la inmunoperoxidasa; este último útil también en muestras fijadas en formol. Ambos métodos son sensibles y específicos sobre todo si usan anticuerpos monoclonales y los resultados son obtenidos en pocos minutos (Lucas, 1986, p. 242 – 243).

- Detección de antígenos mediante enzimo-inmunoensayo (ELISA): La Prueba de ELISA utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para capturar antígenos del vDVB en muestras de sangre. Comparado con el aislamiento viral, es un método rápido y económico, por eso es el método de preferencia para la detección de animales PI a gran escala (Duvobi, 1996, Diagnóstico de laboratorio de DVB).
 - Los sistemas de ELISA basados en anticuerpos policlonales dirigidos contra varias proteínas y glicoproteínas de cepas antigénicamente diferente, son capaces de detectar una amplia variedad de vDVB. Este sistema, comparado con el aislamiento viral, ha demostrado una alta sensibilidad (97,9%) y alta especificidad (99,7%), y es comparable a los sistemas de ELISA que utilizan un pool de anticuerpos monoclonales. En tanto, que los sistemas de ELISA basados en un anticuerpo monoclonal epitope específico son cuestionables, debido a que su estrecho rango de especificidad puede fallar en detectar algunas cepas de vDVB (Graham, 1998, p. 149 – 154).
- Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (IHQ): La IHQ, se realiza en tejido fijado en formalina y embebido en parafina, es conveniente en relación a otras técnicas en la remisión de muestras, posibilita el estudio retrospectivo de muestras enviadas para examen histopatológico y permite una precisa asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histopatológicas. La IHQ posee un mejor desempeño que la inmunofluorescencia y el aislamiento viral,

especificidad: 97% y sensibilidad: 97% (Duvobi, 1996, Diagnóstico de laboratorio de DVB).

- Las muestras fijadas en formalina son más estables que las muestras de sangre o suero, evitándose así falsos negativos por autólisis o putrefacción, y los anticuerpos colostrales no interfieren con la técnica, permitiendo analizar terneros neonatos (Brodersen, 1998, p. 246).

2.5.2.1.3 Detección de ácido nucleico viral

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es altamente sensible al virus de la DVB, y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo; es un método usado para la amplificación selectiva in vitro de una región particular del genoma viral, y se hace sobre órganos homogeneizados (enfermedad aguda) o suero (infección persistente) (Obando, 2006, p. 317 – 321).

2.5.2.2 Pruebas indirectas

Tienen como fundamento la detección de anticuerpos específicos contra el vDVB.

La distribución de anticuerpos en los distintos grupos de edades de hatos con animales PI y sin animales PI, determina que existan cinco fases en el ciclo de infección (Lértora, 2003, p. 46):

- Fase A: Hatos con infección aguda sin animales PI donde solo un pequeño porcentaje del rebaño será seropositivo.
- Fase B: Hatos con animales PI menores de 3 a 4 meses de edad. La mayoría de los animales están bajo una infección aguda, a una velocidad variable dependiendo del sistema de producción.
- Fase C: Hatos con animales PI mayores de 3 a 4 meses de edad. Usualmente, más del 90% del rebaño es seropositivo.

- Fase D: Hatos previamente infectados, donde los animales PI han sido removidos recientemente. Los animales jóvenes serán seronegativos cuando pierdan sus anticuerpos calostrales a los 6 a 8 meses de edad. Los animales adultos permanecen seropositivos.
- Fase E: Hato previamente infectado, donde los animales PI han sido removidos hace varios años. Todos los animales jóvenes serán seronegativos (excepto algunos terneros con anticuerpos calostrales). Eventualmente el hato se volverá seronegativo.

Estos estudios epidemiológicos han permitido desarrollar diferentes métodos serológicos para la detección de hatos con infección activa (con bovinos PI) de manera simple, eficaz y económica (Lértora, 2003, p. 46).

2.5.2.2.1 Detección de anticuerpos (diagnóstico serológico)

La Seroneutralización (SN) y la prueba de ELISA indirecto son las más utilizadas en laboratorio. Estas pruebas tienen 3 aplicaciones (Obando, 2005, p. 317 – 321):

- 1) Para conocer si el vDVB está circulando en un hato. Se recolecta una muestra de sangre sin anticoagulante en un número representativo de animales no vacunados, entre 7 y 12 meses de edad, y determinar la presencia de anticuerpos específicos contra el virus. Si el resultado es positivo, este es indicativo de infección natural, debido a que los anticuerpos presentes en calostro desaparecen a los 6 meses de edad.
- 2) Como diagnóstico confirmativo de DVB en animales con signos clínicos característicos de la enfermedad. Se deben recolectar dos muestras, una en los primeros tres días de la infección y otra tres o cuatro semanas después, para determinar la presencia y niveles de anticuerpos en cada una de ellas (Prueba de titulación con sueros pareados). La detección de anticuerpos en la segunda muestra de un animal que resulto negativo a la primera, o el incremento en cuatro veces de los niveles de anticuerpos en la segunda muestra con relación a la primera,

serán indicativos de la infección con el vDVB. De igual forma es útil, al momento del aborto y cuatro semanas después, para estudios de seroconversión.

- 3) Cuando se desea medir cuan difundido está el vDVB en una población no vacunada, para lo cual se determina la proporción de seropositivos bovinos de una muestra aleatoria y que sea representativa obviamente, alrededor del 10%. Es importante tener presente que los bovinos mayores a seis meses, que no hayan sido vacunados contra el vDVB y que tengan anticuerpos contra este virus, son animales que sufrieron infección natural y que poseen inmunidad contra la enfermedad, la cual es superior a la que puede ser inducida por cualquier vacuna, siendo además, libres del vDVB con un 99% de seguridad.

El análisis serológico de una pequeña muestra de sangre tomada al azar en terneros de 6 a 12 meses de edad permite distinguir hatos con infección activa, de hatos sin bovinos PI, con un alto grado de seguridad. Se pueden cometer errores de clasificación cuando los rebaños poseen animales PI muy jóvenes, que no han tenido tiempo de infectar a los animales seropositivos restantes, cuando los sistemas de explotación y la virulencia de la cepa permitan una diseminación lenta, o si se toma la muestra de animales menores a 6 meses de edad, los cuales tendrán anticuerpos calostrales. Estos problemas se solucionan repitiendo el examen unos meses después (Houe, 1992, p. 320 – 323).

2.5.3 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial es muy importante debido que desde el punto de vista clínico, es muy difícil establecer diferencias entre las enfermedades que producen erosiones de la mucosa bucal, aun con la necropsia, ya que se puede confundir con: Fiebre Aftosa, Peste Bovina, Estomatitis Erosiva, Fiebre Catarral Maligna y Lengua Azul (Gasque, 2008, p. 126 – 128).

2.6 Tratamiento

No existe un tratamiento específico, pero pueden disminuirse las pérdidas y la duración del periodo de convalecencia mediante terapia de sostén a base de astringentes digestivos y de soluciones parenterales de electrolitos (Gasque, 2008, p. 126 – 128).

2.7 Erradicación y Control

Los recientes avances en el conocimiento de la patogénesis y epidemiología de la DVB indican que es poco factible mantener hatos libres de DVB (Rivera, 1993, p. 1 – 11).

Los detalles del programa de control de la enfermedad deberían registrarse en un documento. Este debe establecer un trabajo dinámico y una fuente de información que pueda ser revisada a menudo por las partes. Hay una serie de prerequisites para el éxito del programa de control de la enfermedad. Es fundamental que todas las partes involucradas conozcan la enfermedad y los factores de riesgo. Debería llevarse a cabo un estudio en el hato para establecer un estado actual de la DVB y los riesgos relativos de la reinfección y cuáles son los numerosos factores de riesgo. Los factores de riesgo pueden incluir animales PI, hembras o vacas portadoras de fetos PI, animales con infección aguda, materiales infectados, entre otros (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

El programa de control debe ser definido, de igual manera los métodos utilizados para alcanzar los objetivos deben ser realistas; En algunos hatos el objetivo será minimizar las pérdidas económicas asociadas con la exposición al virus y en otras situaciones el objetivo será eliminar el virus del hato (Brownlie, 2000, p. 176 – 187).

La finalidad es evitar el ingreso del virus al hato. Con este propósito deben evitarse una serie de factores: El uso múltiple de la aguja hipodérmica, contacto con otros rumiantes que pueden ser portadores del virus, el uso de germoplasma de dudosa procedencia, el uso de vacunas a virus vivo

modificado, el libre ingreso de animales al hato sin previo análisis, el estrés, entre otros (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina).

Desde los primeros reportes de la DVB en el mundo, la vacunación ha sido la herramienta utilizada para intentar combatir las infecciones de este virus. La principal limitante de los laboratorios para crear una vacuna efectiva, ha sido la variabilidad antigénica entre sus cepas. Su aplicación ha sido estratégica, en los sesenta se utilizaba con la finalidad de reducir la severidad de los signos y las pérdidas económicas; mientras que en los ochenta su finalidad fue la de prevenir la infección de fetos y evitar la generación de nuevos animales PI (Obando, 2005, p. 317 – 321). La vacunación por sí sola no elimina el virus del hato y su finalidad es proveer protección contra infecciones transplacentarias que den origen a terneros PI (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina).

La inmunización en todas las hembras del hato debe aplicarse en las siguientes situaciones (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina):

- Hatos negativos y susceptibles donde hay riesgo de entrada del virus y/o donde el valor económico lo justifique.
- Hatos que experimentan aumentos de pérdidas asociadas al vDVB, muerte embrionaria temprana, baja tasa en la concepción, abortos, enfermedad entérica e inmunosupresión.
- Hatos de alto valor genético.
- Hatos donde se realiza transferencia embrionaria.

Las vacunas a virus viro modificado contra el vDVB, desde el inicio de su comercialización, han estado asociadas con efectos indeseables. Los virus vacunales pueden atravesar la placenta en cualquier etapa de la gestación y ocasionar en el feto signos clínicos más o menos severos. Su efecto inmunosupresor es otro de los factores que preocupan. Recientemente, se ha comprobado que las cepas de las vacunas contra la DVB, a virus modificado,

alcanzan los ovarios después de la vacunación, tal como ha sido evidenciado con cepas de campo después de infecciones agudas, ocasionando ooforitis crónica, disfunción ovárica y reducción de la fertilidad (Obando, 2005, p. 317 – 321).

Considerando lo señalado, las vacunas inactivadas contra el vDVB, son de elección en el control de esta enfermedad y deben utilizarse, en forma estratégica en rebaños infectados (Obando, 2005, p. 317 – 321):

- Si la problemática observada es la mortalidad elevada de becerros sería recomendable vacunar al final de la gestación, para mejorar la inmunidad conferida por el calostro.
- Las vaconas deberían ser vacunadas y revacunadas un mes antes de ser sometidas a servicio, lo que contribuirá a mejorar su comportamiento reproductivo y a disminuir el riesgo de que nazcan nuevos animales PI.
- Las vacas paridas deberían revacunarse cuando estén próximas a un nuevo servicio, siguiendo el criterio señalado para las vaconas.

La medida principal en cualquier programa de erradicación del vDVB es eliminar la fuente del virus, es decir, el animal PI (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina); afortunadamente estos animales no superan el 2%, pero en algunos hatos pueden alcanzar porcentajes superiores (Ridpath, 1991, p. 39 – 42).

En regiones donde la seroprevalencia y la densidad poblacional es baja y no se emplean vacunas, la erradicación se basa en: Identificación de los rebaños con infección activa, eliminación de los animales PI y medidas de bioseguridad o mantener hatos cerrados para evitar la infección de hatos libres (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina).

Este proceso debe hacerse cuando existen sospechas de tener la infección en el hato, por ejemplo: incremento de la frecuencia de abortos, nacimiento de terneros débiles o con malformaciones congénitas, incremento en el número de vacas que repiten el celo. En tal situación, debe muestrearse todos los animales mayores a 6 meses. Si en el hato hay DVB, la prevalencia debe ser

alta y los negativos deben considerarse sospechosos y eliminados del hato, si el porcentaje de estos animales es mínimo (Rivera, 1993, p. 1 – 11).

La otra posibilidad de encontrar estos animales es después de la vacunación con vacuna a virus muerto a todos los animales mayores a 6 meses, incluyendo la segunda dosis al tiempo recomendado, y posteriormente se realiza el análisis serológico a todos los animales vacunados, aquellos que no responden a la vacunación serán eliminados del hato lo más pronto posible. Esta medida será repetida periódicamente para el chequeo de animales que no fueron muestreados (terneros menores a 6 meses) (Baker, 1987, Revisión de DVB).

Sin embargo, la eliminación de los animales PI puede no eliminar todo el virus del hato. Las pruebas disponibles pueden determinar cuáles son los animales positivos, mas no detectar las infecciones agudas; el problema de lenta diseminación del virus durante la infección aguda del hato, en ausencia de un animal PI, ya ha sido observada (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina).

La erradicación de animales PI, conducirá a la presencia de animales libres de la enfermedad dentro del hato. Por consiguiente el hato será más vulnerable y si se reintroduce el vDVB, las perdidas pueden llegar a ser cuantiosas. Al cambiar el balance de animales seropositivos se debe tener una excelente bioseguridad (Brownlie, 1997, Conferencia de Jornadas de Reproducción Bovina).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y METODOS

3.1 Diseño del estudio

Es un estudio de corte transversal, para determinar la presencia y calcular la prevalencia de la DVB en las islas Santa Cruz y San Cristóbal del Archipiélago de Galápagos.

El muestreo se realizará utilizando una metodología única (se detalla en el punto 3.7 Metodología); las muestras serán recolectadas en campo, procesadas en el laboratorio de Agrocalidad en Santa Cruz y analizadas en los laboratorios de Agrocalidad en Tumbaco.

Este estudio, contó con el aval y la participación de:

- La Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), que cuenta con los servicios de los Laboratorios de Agrocalidad para realizar el procesamiento y análisis de las muestras.
- El muestreo ha sido realizado en colaboración de los ganaderos de ambas islas, así como la participación del personal de MAGAP y Agrocalidad.

3.2 Área de estudio

Las Islas Galápagos, oficialmente conocidas como Archipiélago de Colon, constituyen un archipiélago del Océano Pacífico. Está conformado por 13 grandes islas, 6 islas más pequeñas y 107 rocas e islotes.

Geográficamente se encuentran en el Océano Pacífico a 972 Km de la costa ecuatoriana. Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2010), las islas poseen una población de 25.124 habitantes y una superficie de

7.880 Km². El Archipiélago se encuentra ubicado en las coordenadas 0° 30'S 90° 30'O.

Santa Cruz y San Cristóbal son las 2 islas más representativas del archipiélago, tanto poblacionalmente como económicamente. Según datos proporcionados por el último censo realizado en el año 2011: Santa Cruz cuenta con una población de 15.393 habitantes y una extensión territorial de 986 Km², mientras que San Cristóbal por su parte cuenta con 7.475 habitantes y una superficie de 558 Km² (INEC, 2012); de igual forma, cada isla cuenta con una población estimada de 7000 y 1500 bovinos respectivamente (MAGAP, 2011).

Tabla 1 - Población total de bovinos en Galápagos

Islas	Población total	Animales Identificados (SITA)	Avance de la identificación (%)
Santa Cruz	7000	6069	86,70
San Cristóbal	1500	1376	91,73
Isabela	1300	1135	87,30
Floreana	200	126	63,00
Ejecutado (Identificación)	-	8706	87,06
Por ejecutarse (Identificación)	-	1294	12,94
Número referencial de Bovinos existentes en Galápagos	10000		

Fuente: MAGAP (Datos del Sistema de Identificación y Trazabilidad Animal "SITA"). Consultado: 06/03/12.

3.3 Cálculo de la muestra

Antes de realizar el cálculo de la muestra, se llevó a cabo una etapa de sensibilización durante el mes de noviembre de 2011, periodo en el cual se llevaba a cabo el programa de identificación y trazabilidad del ganado bovino (SITA).

En la isla Santa Cruz se mantuvo reuniones con las distintas autoridades de las entidades responsables del MAGAP y Agrocalidad, para informarles sobre el objetivo del estudio y tener una idea más clara sobre los requisitos y responsabilidades que el mismo demandaba.

Dentro de esta fase se organizó diferentes reuniones en Quito con las autoridades de Agrocalidad para solicitar todos los permisos para realizar el trabajo.

Para el presente estudio, se utilizaron datos de las islas Santa Cruz y San Cristóbal, y únicamente de los animales ya identificados según datos del SITA.

Tabla 2 - Población bovina identificada (SITA) en Santa Cruz y San Cristóbal

Islas	Animales	%
Santa Cruz	6069	81,52
San Cristóbal	1376	18,48
Total	7445	100

Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 * p * q}{C^2}$$

Dónde:

- n: Tamaño de la muestra.
- Z: Porcentaje de confiabilidad (1,96 para un 95% confiabilidad).
- p: Probabilidad de que exista la enfermedad (en este caso, 50% de probabilidad de que haya la enfermedad y 50% de probabilidad de que no la haya).
- q: 1 – p.
- C: Error (en este caso del 5%, que es lo aceptable).

Entonces:

$$n = \frac{1,96^2 * 0,5 * (1 - 0,5)}{0,05^2}$$

$$n = 384 \textit{ Animales}$$

3.4 Selección de fincas

Las fincas se dividieron en 3 categorías: pequeños (I), medianos (II) y grandes (III) productores. Esta división fue realizada de acuerdo a la cantidad de animales por finca (tabla 3 – categorización de las fincas).

Tabla 3 - Categorización de fincas en Santa Cruz y San Cristóbal

Categoría	Santa Cruz		San Cristóbal	
	n	%	n	%
I 1 – 10 animales	13	12,88	26	37,14
II 11 – 50 animales	42	41,58	38	54,29
III 51 – en adelante	46	45,54	6	8,57
Total	101	100	70	100

Posteriormente, mediante métodos estadísticos, se determinó la cantidad de fincas y animales a ser muestreados por cada isla (Tabla 4 – Fincas y animales muestreados). En las Figuras 7 y 8, se detalla la georeferenciación de fincas muestreadas en Santa Cruz y San Cristóbal respectivamente.

Cada finca muestreada se le asignó un código de identificación:

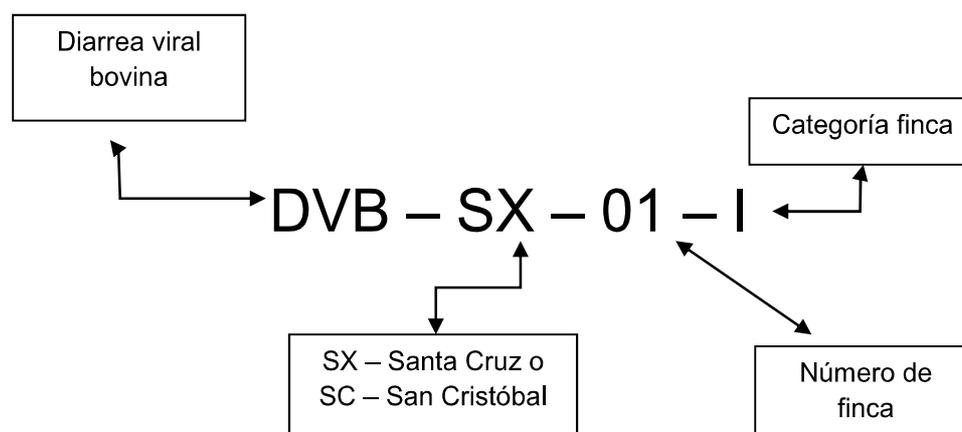


Tabla 4 - Fincas y bovinos muestreados por cada categoría en Santa Cruz y San Cristóbal

Categoría		Santa Cruz		San Cristóbal	
		Fincas	Animales	Fincas	Animales
I	1 – 10 animales	7	25	7	19
II	11 – 50 animales	21	140	9	60
III	51 – en adelante	12	100	4	40
Total		40	265	20	119

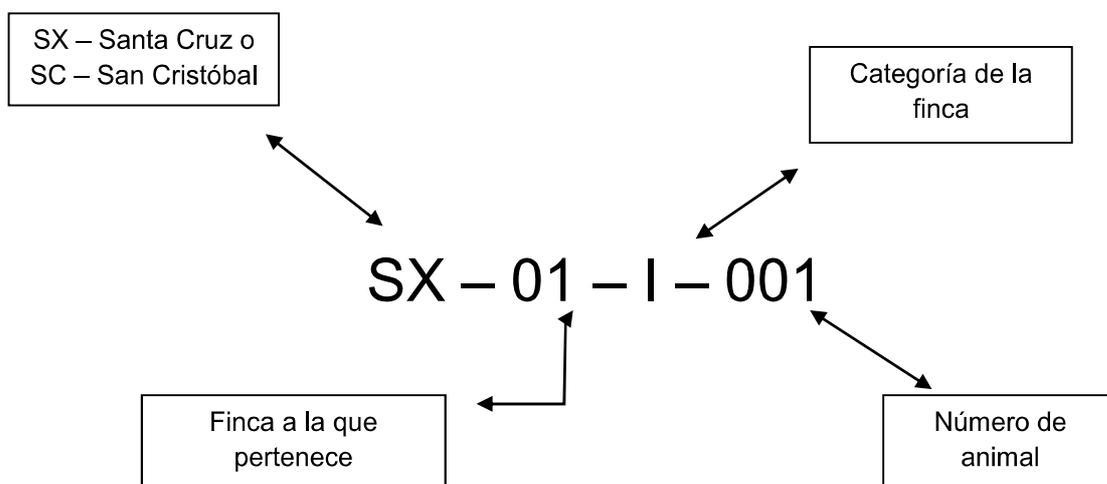
3.5 Selección de animales

Los animales elegidos para el muestreo fueron seleccionados al azar, indistintamente de sexo y edad, esta selección se llevó acabo el mismo momento de la visita a las fincas.

Se muestreo el siguiente porcentaje de animales por cada categoría de fincas:

- 1 – 10 animales: 50%.
- 11 – 50 animales: 25%.
- 51 – adelante animales: 10% como máximo.

A cada animal se le asignó un código de identificación:



3.6 Materiales

3.6.1 Materiales de oficina

Tabla 5 - Materiales de oficina

Materiales	Cantidad
Laptop	1
Lápiz	2
Carpeta de plástico	1
Calculadora	1
Libreta de anotaciones	1
Hojas A4	1 resma de 500 hojas
Mochila	1

3.6.2 Materiales de campo

Tabla 6 - Materiales de campo

Materiales	Cantidad
Bolígrafo	2
Registro de fincas muestreadas	60 impresiones
Registro de bovinos muestreados	60 impresiones
Apoya manos acrílico	1
Marcador permanente	2
Mochila	1
Overol	1
Botas de campo	1 par
Caja de transporte de materiales	1
Guantes de examinación	2 cajas
Alcohol	1 frasco
Gaza	1 rollo
Capsulas de extracción de sangre	4
Agujas toma múltiple #20	500
Vacutainers®	500
Cooler	2
Sustituto de hielo	15
Funda desechos infecciosos	10
Recipiente desechos corto-punzantes	4

3.6.3 Materiales de laboratorio

Tabla 7 - Materiales de laboratorio

Materiales	Cantidad
Mandil	1
Centrífuga	1
Criotubos	800
Caja transporte criotubos	5
Agitador placas	1
Pipetas multicanal	2
Lector microelisa	1
Lavador de placas automático	1
Pipetas de precisión	2
Cronómetro	1
Puntas pipetas	1000
Agua destilada	2 lts
Vórtex	1
Adhesivo para cubrir microplacas	10
Kit DVB ELISA Indirecto (IDEXX BVDV TOTAL Ab TEST, Código: 99 – 44000)	1

3.6.4 Reactivos

Tabla 8 - Reactivos

Tipo	Cantidad
Placas tapizadas con Antígeno BVDV	5
Control positivo	1 ml
Control Negativo	1 ml
Conjugado	60 ml
Diluyente de la muestra	60 ml
Substrato TMB No. 12	60 ml
Solución de frenado No. 3	60 ml
Solución de lavado concentrado (10X)	480 ml

Ver Anexo 7 - Fotos

3.7 Metodología

3.7.1 Muestreo

El muestreo se realizó durante 8 semanas en las islas Santa Cruz y San Cristóbal, en el periodo de junio – agosto de 2012, en la cual se visitaron todos los hatos productivos para el muestreo de los animales.

Previo al muestreo hubo un acercamiento con los propietarios de las fincas donde se les informó sobre los objetivos, temática y procedimiento de la investigación.

Se realizó el siguiente procedimiento:

- Al momento de la visita a cada predio, se tomaron los datos del propietario y de la finca en estudio según un formato desarrollado en conjunto por el Tesista y Director de Tesis establecido (Ver Anexo 5 y 6 – Registros).
- Se seleccionaron animales al azar, y posteriormente fueron confinados (dependiendo de las facilidades que cada finca ofreció) para poder realizar un mejor manejo y minimizar el riesgo del personal involucrado.
- Antes de realizar la toma de muestra se anotó el respectivo número de arete (código SITA) de cada animal; posteriormente mediante ayuda del personal del MAGAP, se ingresó a la base de datos del SITA para consultar los datos individuales del animal (raza y edad).
- A continuación, se procedió a limpiar y desinfectar región de la cola del animal con agua y alcohol.
- La muestra se obtuvo mediante punción de la vena coccígea, se tomó aproximadamente 8 ml de sangre por animal.
- Para la toma de muestra se utilizaron agujas de toma múltiple #20 (una aguja por cada animal).
- La sangre fue depositada en tubos estériles Vacutainers® al vacío (sin anticoagulante) perfectamente identificados.
- Los Vacutainers® fueron transportados al punto de almacenamiento (Laboratorios de Agrocalidad – Santa Cruz) en un cooler con hielo

químico para mantener la cadena de frío y evitar el deterioro de la muestra.

- Al llegar al punto de almacenamiento se centrifugaron las muestras a 3000 rpm por 15 minutos para obtener el suero.
- Se extrajo 2 ml de suero que se dividieron en 2 alícuotas (1 ml para cada una). Una alícuota se utilizó para el análisis de DVB y la otra fue dejada en las islas por seguridad y/o para futuros estudios.
- Cada alícuota fue depositada en un tubo Eppendorf diferente perfectamente identificado y se lo congeló a -20°C.
- Se adquirió la guía de movilización de muestras establecida, que emite la Coordinación de Agrocalidad – Galápagos (Ver Anexo 8 – Guía movilización muestras).
- Se emitió un Certificado Veterinario, donde se indicó que las muestras no causan ningún daño, para fines de cumplimiento con la línea aérea (Ver Anexo 9 – Certificado Veterinario para transporte de muestras).
- Finalmente, las 384 muestras fueron transportadas al continente en un cooler de espuma flex T8 con hielo químico para mantener la cadena de frío.

Ver Anexo 7 – Fotos.

Los materiales utilizados en el muestreo siguieron este proceso:

- El material corto-punzante utilizado durante el muestreo fue depositado en galones identificados de la misma forma (corto-punzantes; Ver Anexo 7 – Fotos) y almacenados en el punto de recepción (Laboratorio Agrocalidad – Santa Cruz).
- El resto del material utilizado fue depositado en fundas identificadas (material Infeccioso) y de igual forma almacenadas en el punto de recepción.
- Finalmente, estos materiales fueron colectados por personal del Municipio de Santa Cruz y San Cristóbal, dedicados a esta labor, y llevados hasta otras instalaciones donde fueron incinerados.

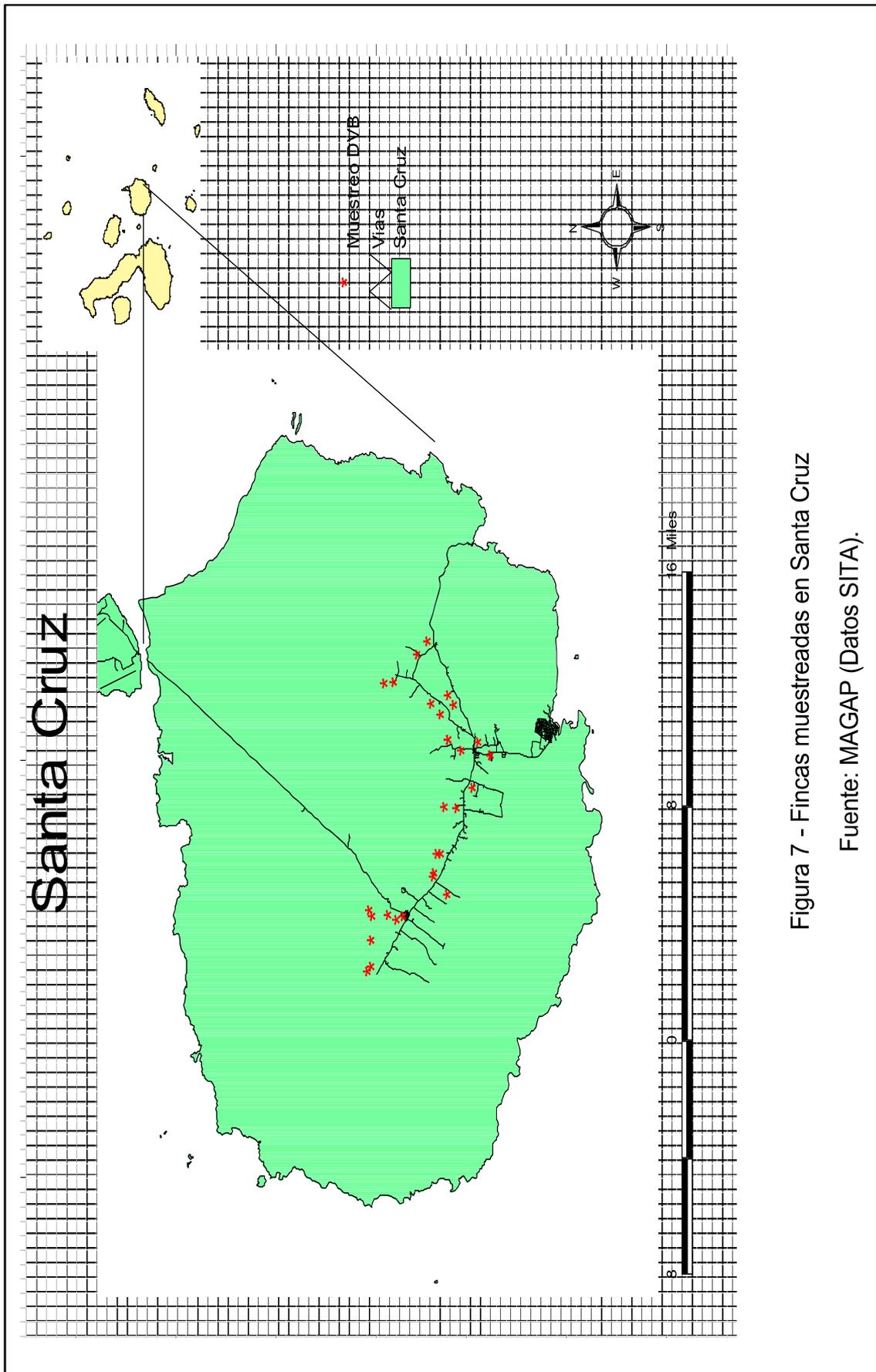


Figura 7 - Fincas muestreadas en Santa Cruz

Fuente: MAGAP (Datos SITA).

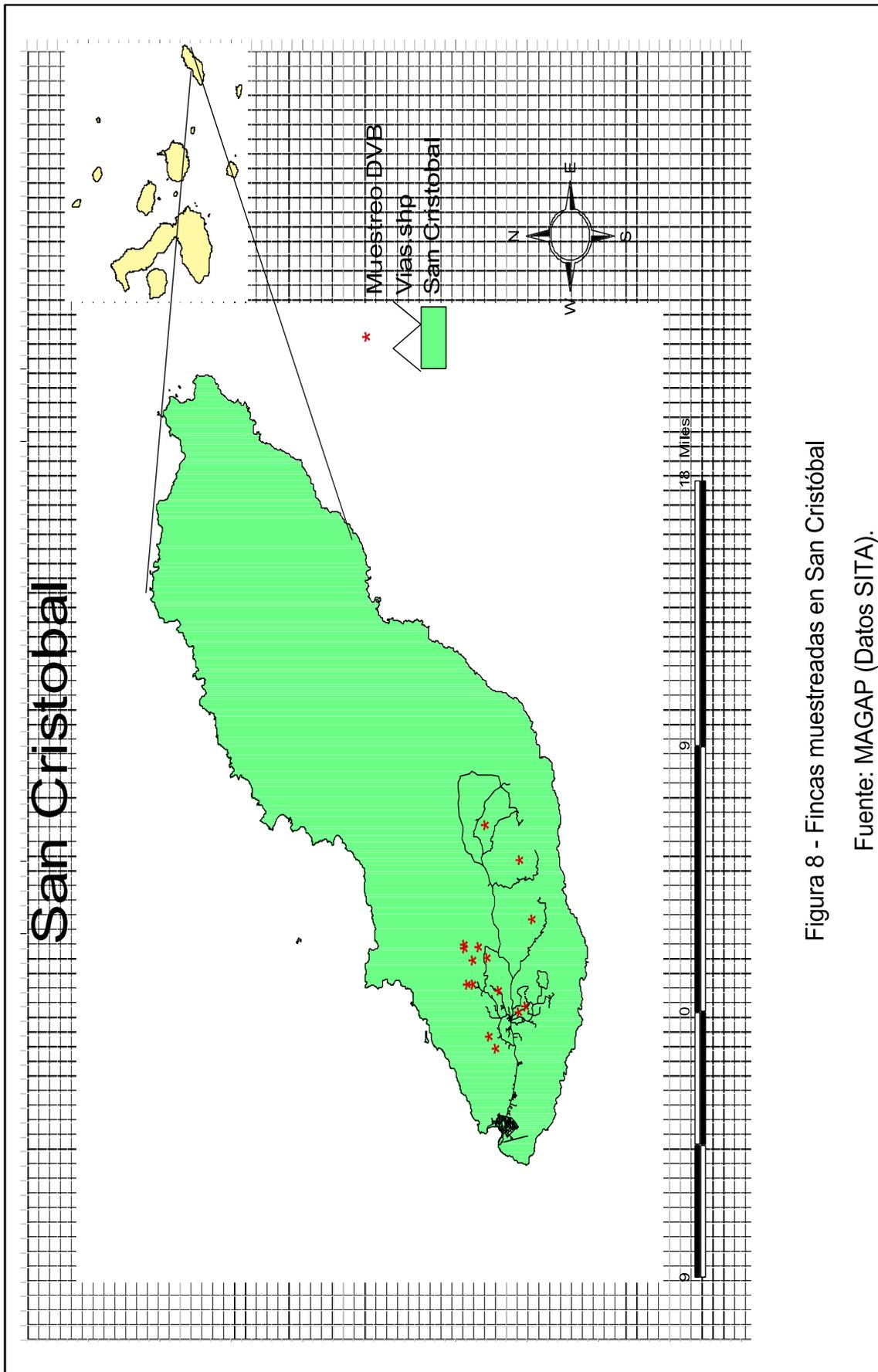


Figura 8 - Fincas muestreadas en San Cristóbal

Fuente: MAGAP (Datos SITA).

3.7.2 Análisis de Laboratorio

La tercera etapa consistió en el procesamiento y análisis de laboratorio de las muestras, y tuvo una duración total de 3 días.

El suero sanguíneo de las muestras fue debidamente almacenado y transportado de las islas al continente. Posteriormente, fue procesado en los laboratorios de Agrocalidad en Tumbaco.

Esta etapa contó con la colaboración y supervisión de personal especializado en dicha área.

Para el análisis serológico, se utilizó el test de ELISA Indirecto (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).

Ver Anexo 7 – Fotos.

3.7.2.1 Fundamento del Test

El test de ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los resultantes tenga actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmoadsorbente) la reacción antígeno – anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

Se decidió usar el ELISA Indirecto debido a que es un test versátil, robusto, confiable, sencillo y económico (Melendez, et al., 1987; Dinter, 1989).

Las desventajas del test según Melendez et al., (1987) son las siguientes:

- Reacciones inespecíficas.
- Reactividad cruzada.
- Sensibilidad a inhibidores de la actividad enzimática.

3.7.2.2 Especificaciones del kit

Se utilizó un kit comercial de la marca IDEXX (IDEXX BVDV Total Ab Test, Código: 99 – 44000).

Como se menciona en el punto sobre las desventajas de la prueba acerca de la posibilidad de reacciones cruzadas, Abad (2012), nos indica que “Los Kits IDEXX han sido desarrollados para detección de antígenos o anticuerpos desarrollados frente a enfermedades específicas con la garantía de evitar cualquier interferencia entre patógenos de la misma familia y mucho menos interferencias interespecie”, lo que garantiza la veracidad de los resultados.

El kit IDEXX BVDV Total Ab es un inmunoensayo enzimático indirecto diseñado para detectar anticuerpos específicos de BVDV en muestras de suero, plasma y leche.

El ensayo consiste en una técnica ELISA indirecta donde se utilizan placas de microtitulación tapizadas con antígenos de la placa. El material no ligado se elimina mediante un lavado. El complejo antígeno-anticuerpo se detecta mediante un conjugado peroxidasa de rábano, el resto del conjugado se elimina mediante el lavado de la placa y se añade una solución de sustrato/cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato 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.

La absorbancia se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda única de 450 nm [A (450)] o a una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm [A (450/650)]. El cociente M/P de las muestras se calcula usando la absorbancia [A (450)] o [A (450/650)] de la muestra y un control positivo, corregidas con la absorbancia del control negativo. El desarrollo de color indica la presencia de anticuerpos frente a BVDV en la muestra (resultado positivo) (IDEXX, 2012, p. 22 – 27).

Las ventajas del kit en mención son las siguientes (IDEXX, 2012, p. 22 – 27):

- Identifica animales que se han infectado recientemente o han sufrido una reinfección del vDVB, es un fuerte indicador de animales PI en los hatos.
- Identifica infecciones con el genotipo I y II.
- Detecta anticuerpos en suero sanguíneo, plasma sanguíneo y leche.
- Mide la fuerza de la respuesta inmune al virus en grandes cantidades de muestras de leche, lo que puede ser un indicativo de una exposición reciente con animales PI.
- Provee un 99,5% de especificidad y un 96,3% de sensibilidad.
- Nos brinda, así como los ensayos de neutralización de suero, los más rápidos tiempos de respuesta.
- Permite identificar animales infectados en una rapidez de 90 minutos.
- Proporciona un alto rendimiento y soporte para el uso de reactivos y el formato de I – ELISA.
- Se realiza en el equipo estándar de ELISA y usa el mismo sustrato, soluciones de lavado y demás, como otro ensayo IDEXX BVDV.

3.7.2.3 Metodología del Test

Paso	Acción
1. Preparación y distribución de las muestras	Tomar las placas tapizadas y marcar la posición de las muestras en una hoja de trabajo. Añadir 100 µl de diluyente de la muestra a cada pocillo. Añadir 25 µl de control negativo en los pocillos apropiados. Añadir 25 µl de control positivo en los pocillos apropiados. Añadir 25 µl de la muestra en los pocillos restantes.
2. Incubación de las muestras	Incubar durante 90 minutos a 18-26°C o toda la noche (12 a 18 horas) a 2-8°C (en un refrigerador).

	Las placas deben ser firmemente selladas para evitar evaporaciones o incubadas en una cámara húmeda.
3. Lavado de la placa	<p>Aspirar los contenidos líquidos de los pocillos en un recipiente apropiado.</p> <p>Lavar cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 5 veces.</p> <p>Aspirar los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado.</p> <p>Tras la aspiración final, eliminar el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola firmemente sobre material absorbente.</p>
4. Dilución del conjugado	Dispensar 100 µl de conjugado en cada pocillo.
5. Incubación del conjugado	Incubar durante 30 minutos a 18.26°C.
6. Repetir la etapa 3	
7. Distribución del sustrato	Dispensar 100 µl de sustrato TMB n. °12 en cada pocillo.
8. Incubación del sustrato	<p>Incubar 10 minutos a 18-26°C en oscuridad.</p> <p>Comenzar a cronometrar después de llenar el primer pocillo.</p>
9. Frenado de la reacción	<p>Dispensar 100 µl de la Solución de Frenado n. °3 en pocillo para parar la reacción.</p> <p>Añadir solución de frenado en el mismo orden que la solución sustrato en el paso 7.</p>
10. Medición de la placa	<p>Calibrar el espectrofotómetro con aire.</p> <p>Medir y anotar la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm. Calcular los resultados.</p>

11. Interpretación (M/P)	<p>< 0,20 - Negativo.</p> <p>> o = 0,20 a < 0,30 - Sospechoso.</p> <p>> 0,30 - Positivo.</p>
--------------------------	--

3.7.2.4 Lectura de resultados

Para que el ensayo sea válido, la diferencia (M-N) entre la media del Control Positivo (CPx) y la media de Control Negativo (CNx) debe ser mayor o igual a 0,250 DO. Además, la media del Control Negativo (CNx) debe ser menor o igual a 0,250 DO. Para 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 BVDV en la muestra se determina mediante el cociente M/P de cada muestra.

Los Controles Negativo y Positivo, vienen estandarizados por la misma marca IDEXX y el kit de laboratorio.

Cálculos

Cálculo de la media del Control Negativo (CNx)

$$CNx = \frac{CN1 A450 + CN2 A450}{2}$$

Cálculo de la media del Control Positivo (CPx)

$$CPx = \frac{CP1 A450 + CP2 A450}{2}$$

Cálculo del resultado de la muestra analizada

$$M/P = \frac{Muestra A450 - CNx}{CPx - Cnx}$$

Se utilizó el programa "XCHECK" provisto por la empresa IDEXX, que calcula los valores medios y porcentajes.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

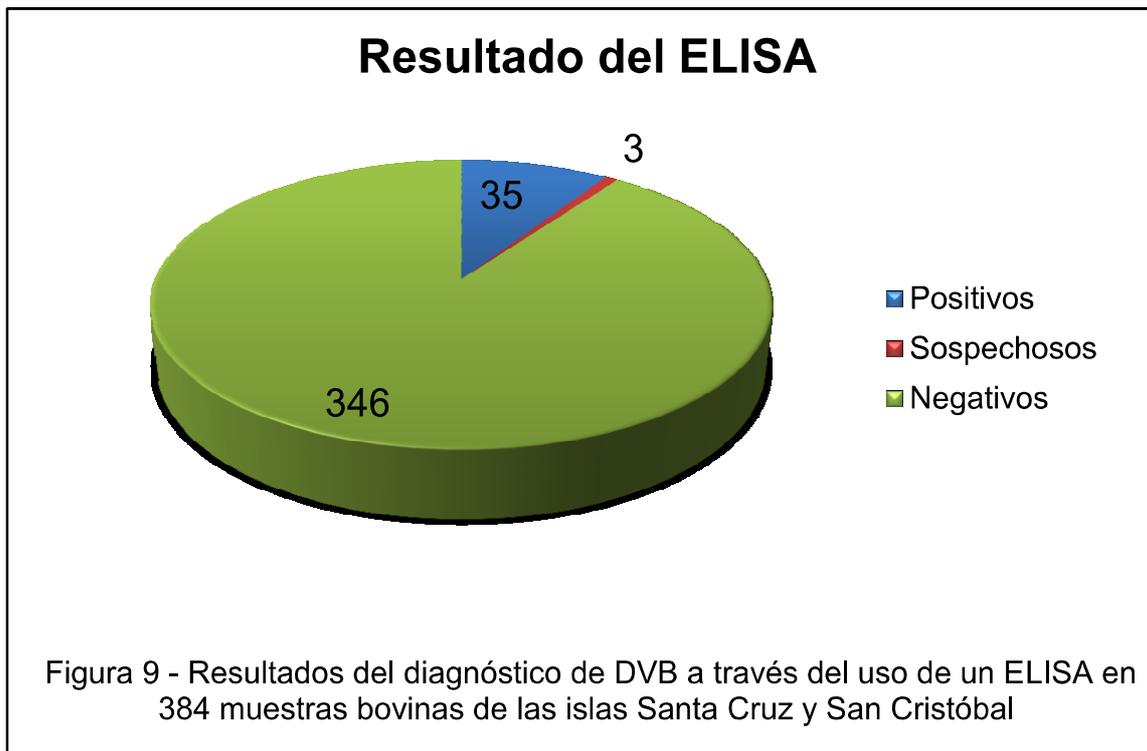
El presente estudio es el primero que se realiza en las islas Galápagos enfocado a identificar la presencia de diarrea viral bovina, se analizó un total de 384 muestras de suero sanguíneo bovino, repartidas en 60 fincas de las islas Santa Cruz (40 fincas) y San Cristóbal (20 fincas).

Las fincas que fueron identificadas para el muestreo se encuentran ubicadas en la parte alta de cada isla. Esta zona cuenta con una topografía y clima más adecuados para el desenvolvimiento de la producción ganadera, así como suelos más aptos para el cultivo de pastos.

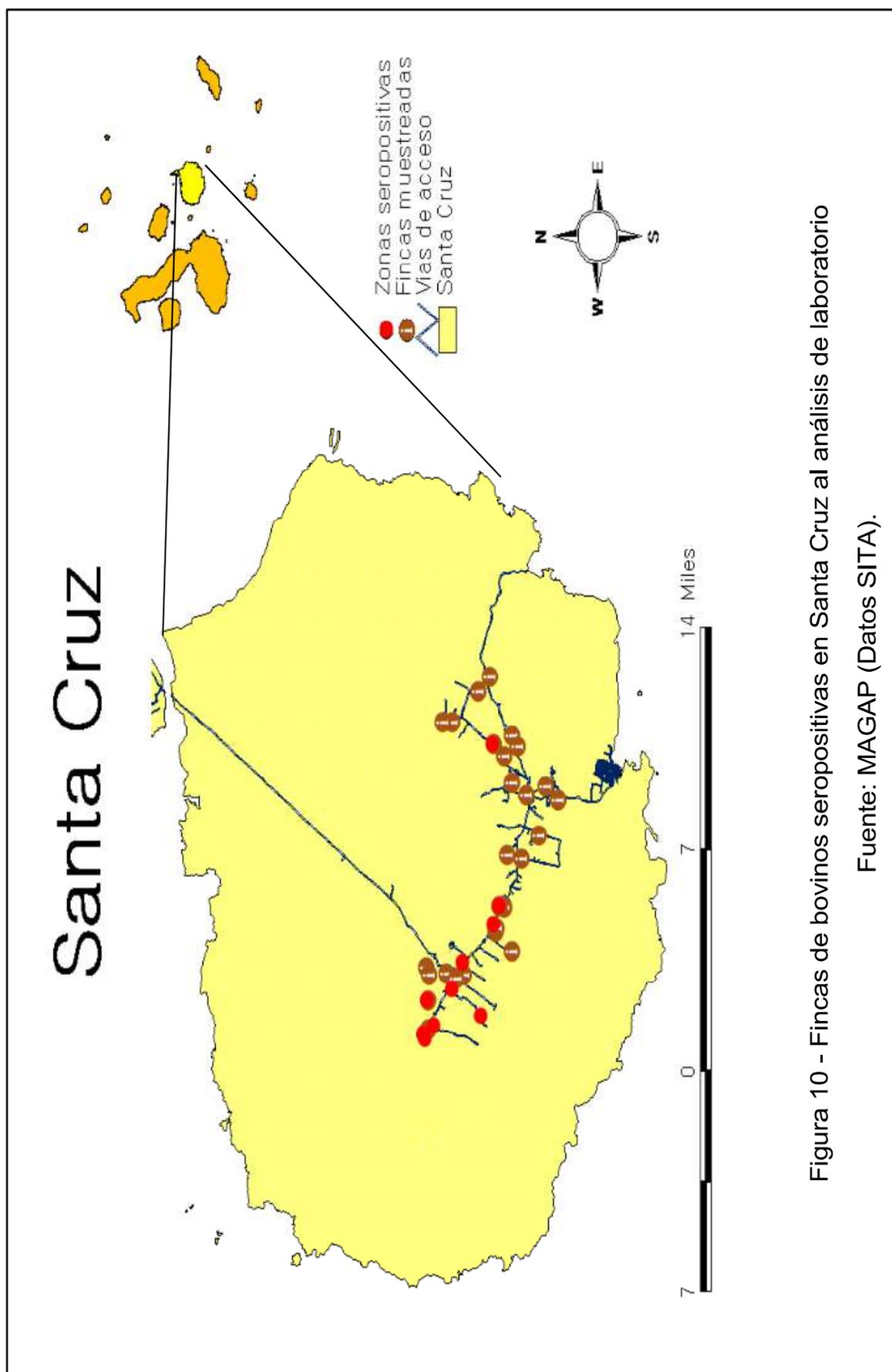
4.1 Resultado del análisis de laboratorio

Todas las muestras (n= 384) fueron analizadas en el Laboratorio de Sanidad Animal de Agrocalidad (MAGAP), ubicado en Tumbaco. En la Figura 9, se muestran la distribución de los resultados generales del análisis de laboratorio.

Las muestras fueron analizadas 2 veces en el laboratorio. En el primer análisis se obtuvieron un total de 33 muestras seropositivas y 7 sospechosas; estas muestras positivas y sospechosas resultantes fueron confirmadas repitiendo el test de ELISA (IDEXX BVDV Total Ab Test, Código: 99-44000), finalmente se obtuvieron 35 positivas y 3 sospechosas, las que fueron tomadas como diagnóstico definitivo. En las Figuras 10 y 11, se muestra la georeferenciación de las fincas seropositivas al análisis de laboratorio.



El test ELISA utilizado detectó anticuerpos en circulación, lo cual indica una exposición de los animales al virus de campo (Huamán et al., 2007, p.146; Aguilar et al., 2006, p.156; Quispe et al., 2008, 178), en el archipiélago está prohibido el uso de vacunas y el transporte de animales vivos desde el continente para evitar el ingreso de microorganismos patógenos que puedan convertirse en un riesgo potencial para el ecosistema; se permite únicamente la importación de pajuelas y embriones con certificación sanitaria, y el transporte inter-islas de animales pero bajo un análisis clínico y de laboratorio previo que certifique que el animal se encuentra en buen estado fisiológico; esta disposición esta dictada por el MAGAP y regulada en la actualidad por Agrocalidad.



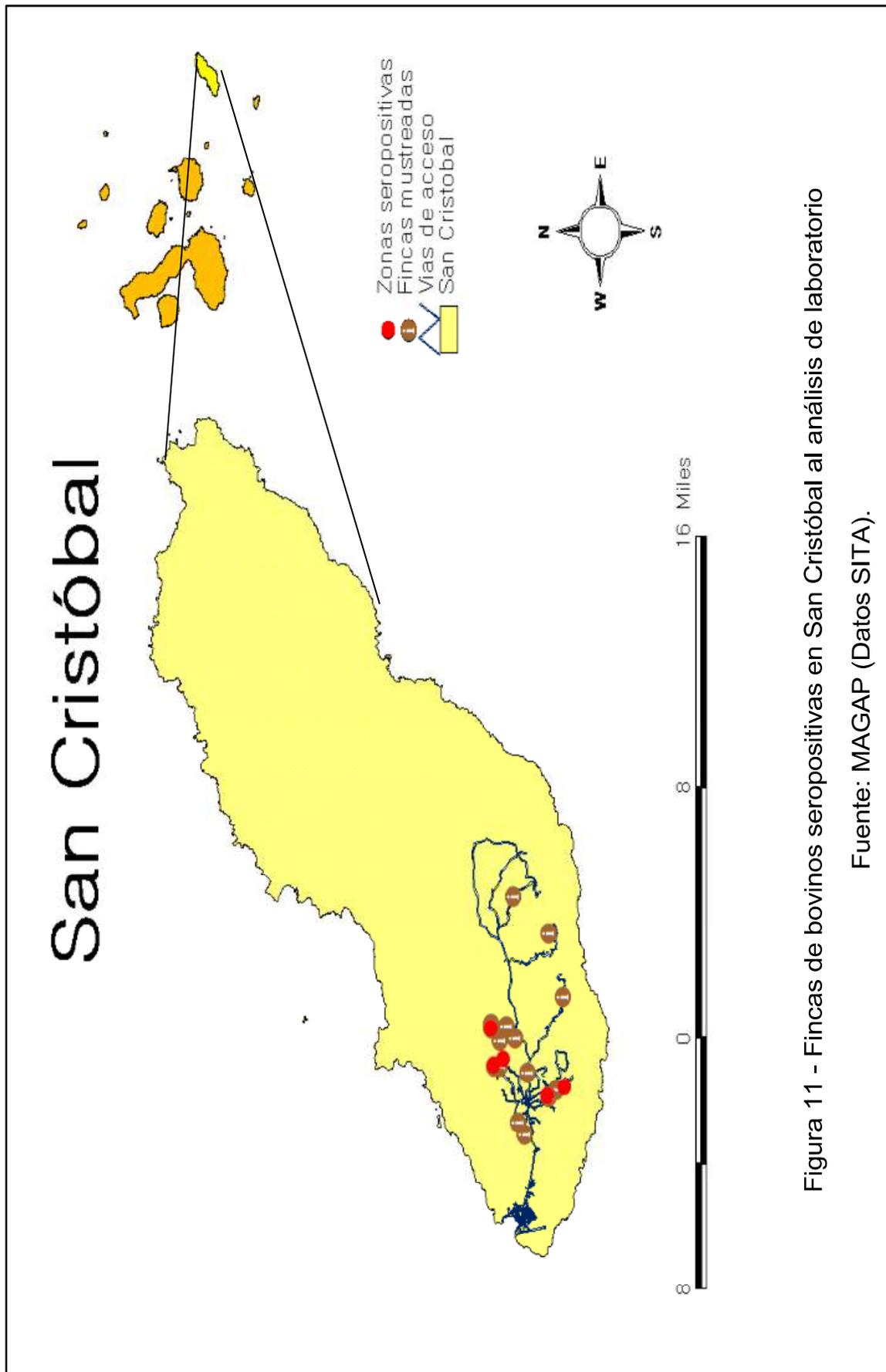


Figura 11 - Fincas de bovinos seropositivas en San Cristóbal al análisis de laboratorio
Fuente: MAGAP (Datos SITA).

4.2 Cálculo de prevalencia de DVB

La prevalencia para DVB no había sido establecida antes en las islas Santa Cruz y San Cristóbal.

Para el cálculo de la prevalencia se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Prevalencia DVB} = \frac{\text{No de casos de DVB encontrados}}{\text{No total de la poblacion estudiada}}$$

Como observamos en la Tabla 9 (Prevalencia total de DVB) se obtuvo una prevalencia de 9,12% en Santa Cruz y San Cristóbal. La posible y más lógica causa de la entrada del virus al archipiélago ha sido la falta de control y regulación en el pasado para la entrada de pajuelas para inseminación artificial sin certificación sanitaria y el contrabando de animales desde el continente hacia las islas, así como el transporte de animales inter-islas.

La Tabla 9 (Prevalencia de DVB), nos indica que Santa Cruz posee una prevalencia mayor de la enfermedad (11,33%) en relación a San Cristóbal (4,20%), hecho atribuible a que posee la mayor cantidad de animales (70% de la población bovina en el archipiélago) (SITA, 2012).

Los ganaderos se San Cristóbal adquieren muchos animales de los grandes ganaderos de Santa Cruz y el transporte de los animales sin un adecuado análisis, cuarentena y control al momento de la movilización, pueden ser la posible causa de la llegada de la enfermedad a la isla.

En el presente debido a la alta infestación de IBR en Santa Cruz, el transporte de animales inter-islas ha disminuido notablemente, razón atribuible al poco número de animales encontrados con DVB en San Cristóbal. De igual forma, el análisis previo de los animales y cuarentena se ha aplicado de una manera más adecuada por parte de los mismos ganaderos que desean evitar el contagio de sus animales.

La baja prevalencia de DVB indica una falta de fuentes de infección en la zona (Huamán et al., 2007, p.146); estas fuentes serían los animales PI y los animales con infecciones agudas, favorecidos con la cercanía entre hatos y falta de medidas de bioseguridad (Lindberg et al., 1999).

De igual forma, la baja prevalencia es debido a que el virus tiene mayor oportunidad de infectar a animales susceptibles en poblaciones numerosas y de crianza intensiva (Aguilar et al., 2006, p.152), lo que se correlaciona con el tipo de producción extensiva en ambas islas.

Según los resultados, podemos complementar la ausencia de animales PI en ambas islas, ya que si hubiese existencia de estos animales la prevalencia estaría elevada entre un 40 – 70% (Houe, 1995; Schreiber et al., 1999; Houe, 2003); esta alta prevalencia se explica debido a que los animales PI permanecen seronegativos pero eliminan el virus durante toda su vida a través de todas sus secreciones infectando a gran cantidad del hato (Houe, 1995; Grooms, 2004).

Tabla 9 - Prevalencia total de DVB en Santa Cruz y San Cristóbal

Resultado	Santa Cruz	%	San Cristóbal	%	Total	%
Positiva	30	11,33	5	4,20	35	9,12
Sospechosa	2	0,75	1	0,84	3	0,78
Negativa	233	87,92	113	94,96	346	90,10
Total	265	100	119	100	384	100

4.2.1 Seroprevalencia de DVB por categoría de finca en Santa Cruz y San Cristóbal

Como se muestra en la Tabla 10, la mayor cantidad de fincas con seroprevalencia en Santa Cruz (en relación al número de fincas muestreadas) se encuentra en los grandes ganaderos (58,33%). La falta de bioseguridad en las diferentes prácticas y el confinamiento de los animales en las horas de ordeño pueden colaborar a la diseminación del virus dentro del hato. El bajo porcentaje de animales infectados podrían corresponder a la diseminación mediante un animal con infección aguda, ya que esta es de corta duración;

caso contrario ocurriría como lo menciona Tremblay (1996, p.858 – 866), si la infección es por animales PI donde la diseminación será rápida y afectará a la mayoría de los animales del hato.

En los medianos productores hay una prevalencia considerable del virus también (38,10%), ya que ellos son los principales compradores de animales a los grandes productores para pie de cría. Según Houe (1995, p. 521 – 547) el contagio también se podría dar ya que algunas fincas tienen contacto entre sus linderos y puede haber una infección por contacto directo entre bovinos con infección aguda.

En los pequeños productores no se encontró ningún animal infectado, ellos poseen poca extensión de terreno donde sus animales pastan sin tener contacto con animales de otras fincas y el manejo que reciben es casi nulo. No realizan ninguna práctica que pueda facilitar la transmisión dentro del hato.

En San Cristóbal se puede apreciar (Tabla 11) que existe una prevalencia más o menos semejante en las categorías I, II y III (28,27%, 22,22% y 25% respectivamente), aunque el número de animales positivos es muy bajo y poco representativo. Según lo observado durante el trabajo de campo, en esta isla se realizan mejores prácticas que en Santa Cruz lo cual evita la diseminación del virus entre fincas. Como se menciona en el punto anterior, la posible causa de la llegada es el poco control en el transporte de bovinos inter-islas.

Tabla 10 - Seroprevalencia de DVB por categoría de finca en Santa Cruz

Categoría	Fincas	Positivo	%	n	Positivo	%	Sosp.	%
I – Pequeños	7	-	-	25	-	-	-	-
II – Medianos	21	8	38,10	140	14	10	2	1,42
III – Grandes	12	7	58,33	100	16	16	-	-
Total	40	15	37,35		30	11,32	2	0,75

Tabla 11 - Seroprevalencia de DVB por categoría de finca en San Cristóbal

Categoría	Fincas	Positivo	%	n	Positivo	%	Sosp.	%
I – Pequeños	7	2	28,27	19	1	5,26	1	5,26
II – Medianos	9	2	22,22	60	3	5	-	-
III – Grandes	4	1	25	40	1	2,5	-	-
Total	20	5	25	119	5	4,20	1	0,84

4.2.2 Seroprevalencia de DVB por raza en Santa Cruz y San Cristóbal

Como se puede apreciar en las tablas 12 y 13, tanto en Santa Cruz como en San Cristóbal la raza Simmental posee la mayor cantidad de animales seropositivos debido a que representa la mayor población en ambas islas (47,9% del total de la población muestreada).

La raza Brahman y Gyr son las que más altos porcentajes de seropositividad tienen (33,33 y 100% respectivamente), aunque el número de animales muestreados fue poco representativo.

En un estudio realizado en Montería – Colombia (Betancur et al., 2007, p.13) el análisis estadístico del factor racial fue poco significativo, por lo que se podría concluir que la presencia del virus, no depende o no está influenciada por la raza o cruce del animal. Dicho estudio recolectó 170 muestras repartidas en 32 fincas donde el 48,8% fueron animales mestizos, el 47,1% cebuínos y el resto de tipo Europeo.

Tabla 12 - Seroprevalencia de DVB por raza en Santa Cruz

Raza	n	Positivo	%	Sospechoso	%	Negativo	%
Simmental	131	16	12,21	2	1,52	113	86,27
Brown Swiss	39	2	5,12	-	-	37	94,88
Holstein	35	4	11,42	-	-	31	88,58
Brahman	10	5	50	-	-	5	50
Senepol	7	-	-	-	-	7	100
Jersey	5	-	-	-	-	5	100
Montbellier	1	-	-	-	-	1	100
Holstein Rojo	1	-	-	-	-	1	100
Normando	1	-	-	-	-	1	100
Gyr	1	1	100	-	-	-	-
Otro	34	2	5,88	-	-	32	94,12
Total	265	30	11,32	2	0,75	233	87,93

Tabla 13 - Seroprevalencia de DVB por raza en San Cristóbal

Raza	n	Positivo	%	Sospechoso	%	Negativo	%
Simmental	53	3	5,66	-	-	50	94,34
Brown Swiss	28	1	3,57	-	-	27	96,43
Holstein	19	-	-	-	-	19	100
Angus	6	-	-	-	-	6	100
Brahman	3	1	33,33	-	-	2	66,67
Otro	10	-	-	1	10	9	90
Total	119	5	4,20	1	0,84	113	94,96

4.2.3 Seroprevalencia de DVB por edad en Santa Cruz y San Cristóbal

Para determinar la prevalencia por edad, se agruparon los animales muestreados en 5 categorías:

- 6 meses – 1 año.
- 1 año – 2 años.
- 2 años – 4 años.

- 4 años – 8 años.
- 8 años en adelante.

No se muestrearon animales menores a 6 meses debido a que podía haber interferencia de anticuerpos maternos y evitar resultados falsos positivos como lo menciona Saa et al., (2008 – 2009, p.646) en su estudio realizado en Azuay, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo (Ecuador) en animales no vacunados contra el vDVB.

En los Tablas 14 y 15 se puede apreciar que la mayor cantidad de animales seropositivos en ambas islas se encuentran entre el rango de 2 – 8 años, un total de 24 animales en Santa Cruz que representan el 26,23% y en San Cristóbal 5 animales que representan el 100%; probablemente debido a que estos animales tuvieron mayor oportunidad a infección como lo mencionan Fredriksen et al. (1999, p.111 – 114) en su estudio sobre Nivel y Duración de Anticuerpos en Suero Sanguíneo de Ganado Infectado Natural y Experimentalmente con el vDVB.

Betancur, et al., (2007, p.13) indica en su estudio realizado en Montería – Colombia; que animales de edad media (5 – 7 años) tienen una prevalencia mayor debido a que han tenido varios partos y están más predispuestos a estados inmunodepresivos, a pesar de que estadísticamente está demostrado que se puede presentar en cualquier edad productiva del animal. Dicho estudio muestreo animales en 3 categorías diferentes: animales entre 3 y 4 años, 5 y 6 años y mayores de 7 años; obteniendo prevalencias de 16%, 17% y 11% respectivamente.

Quispe et al., (2008, p.178) por su lado, mediante su estudio realizado en Perú, afirma que se ha demostrado que animales mayores a 2 años tienen una mayor prevalencia del virus debido a la persistencia del anticuerpo en el animal o a la posibilidad de reinfecciones por el vDVB.

La poca prevalencia en animales menores a 12 meses indica una pobre exposición al virus (Odeon, et al., 2001, p.216).

Jara (2007, p.33) en su estudio en Loja – Ecuador, menciona que obtuvo una mayor prevalencia de la DVB en animales entre 1 – 4 años de edad y lo atribuye debido al muestreo aleatorio, ya que la mayor cantidad de animales en las fincas muestreadas se encontraron en ese rango de edad.

Tabla 14 - Seroprevalencia de DVB por edad en Santa Cruz

Categoría	n	Positivo	%	Sospechoso	%
6 meses – 1 año	15	1	6,66	-	-
1 – 2 años	50	3	6	1	2
2 – 4 años	74	10	13,51	1	1,35
4 – 8 años	110	14	12,72	-	-
8 años en adelante	16	2	12,5	-	-
Total	265	30	11,32	2	0,75

Tabla 15 - Seroprevalencia de DVB por edad en San Cristóbal

Categoría	n	Positivo	%	Sospechoso	%
6 meses – 1 año	19	-	-	-	-
1 – 2 años	39	-	-	1	2,56
2 – 4 años	25	2	8	-	-
4 – 8 años	34	3	8,82	-	-
8 años en adelante	2	-	-	-	-
Total	119	5	4,20	1	0,84

4.2.4 Seroprevalencia de DVB por sexo en Santa Cruz y San Cristóbal

Durante el trabajo de campo se intentó muestrear todos los machos reproductores de las fincas seleccionadas para el estudio, puesto que los toros representan una importante fuente de infección en cada hato (Betancur et al., 2007, p.14). En San Cristóbal se cumplió con el plan establecido donde se muestrearon un total de 29 animales machos (25,21% del total muestreado en la isla) en las 20 fincas seleccionadas para el estudio; caso contrario aconteció en Santa Cruz donde se muestrearon un total de 27 animales machos (10,18%

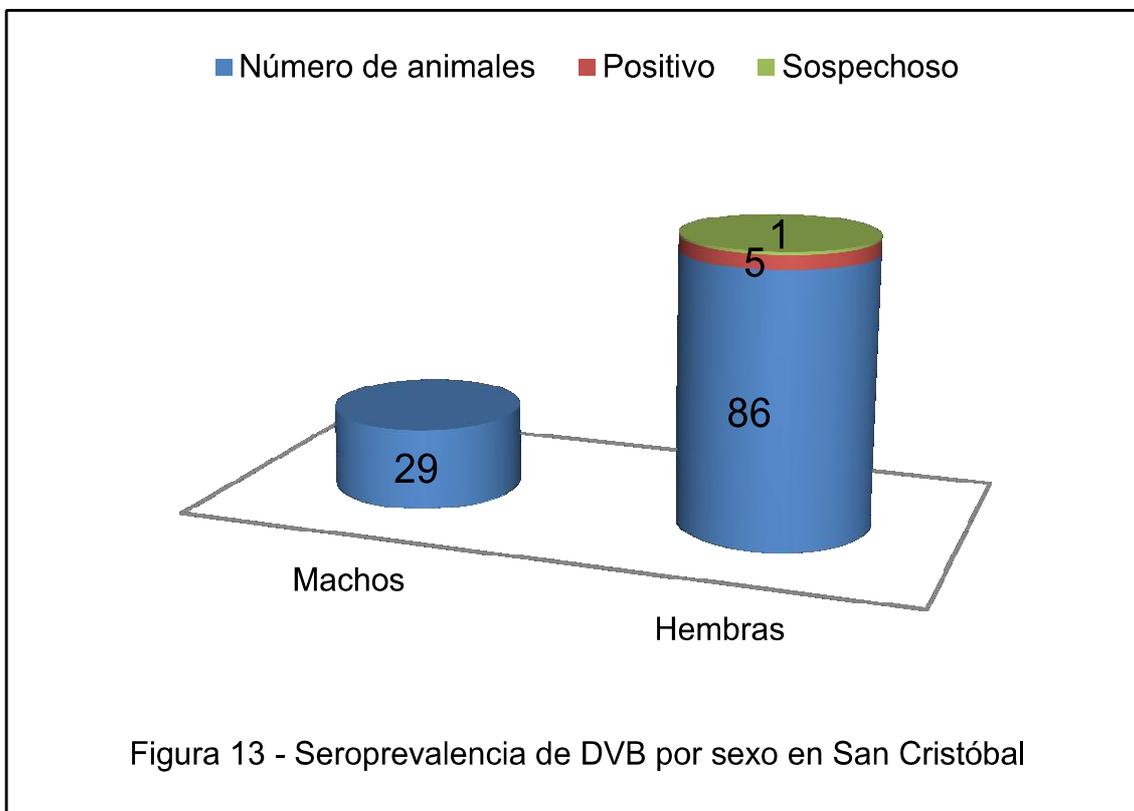
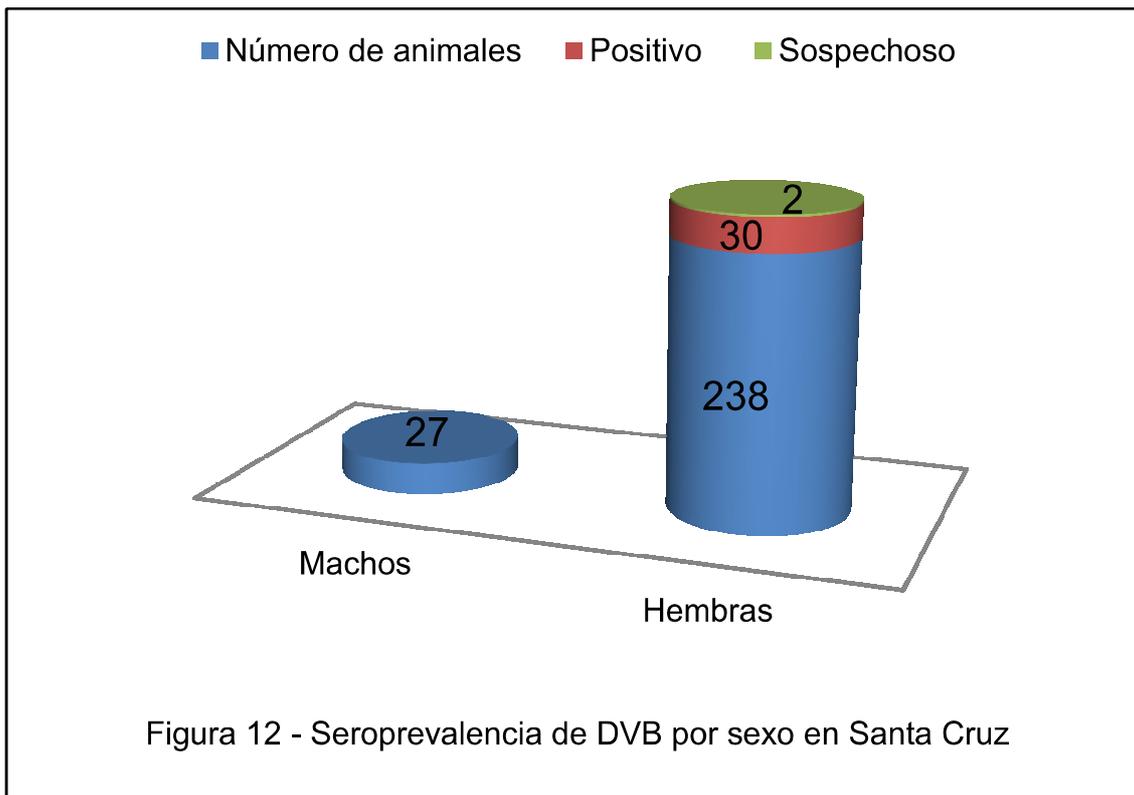
del total muestreado en la isla), en 15 fincas de las 40 seleccionadas para el estudio no se pudo muestrear a él/los machos reproductores debido a que algunas (4 fincas) no tenían un macho reproductor ya que solo practicaban inseminación artificial y otras (11 fincas) donde el ganado era arisco y/o nervioso, combinado con la falta de manipulación y pobre infraestructura para el manejo de los animales durante la toma de muestra.

En las Figuras 10 y 11 (Seroprevalencia de DVB por sexo en Santa Cruz y San Cristóbal respectivamente) se observa que, tanto en Santa Cruz como San Cristóbal solo se encontraron hembras seropositivas.

Todo macho sometido al análisis resultó seronegativo, factor que puede ser atribuido a que los animales que resultaron seropositivos al análisis son animales sanos que estuvieron en contacto en algún momento con el virus pero generaron anticuerpos y se recuperaron (un animal sano no puede infectar a otro por ningún medio), estos anticuerpos son los que reaccionaron al momento del análisis laboratorial; es la razón por la cual ningún macho resultó seropositivo, ya que siendo la monta natural la práctica reproductiva más común en las islas, era de esperarse que todo macho reproductor hubiese sido seropositivo (García, 2012).

La posible razón por la cual se encontraron animales seropositivos es debido a que los animales con infecciones agudas, generan altas cantidades de anticuerpos y posteriormente se recuperan rápidamente; dichos anticuerpos bajan lentamente persistiendo por largo tiempo (Fredriksen et al., 1999).

La baja morbilidad del virus que podría ser otra razón en este caso, puede deberse también a que las cepas circulantes del virus que circulan en la región han desarrollado variantes de baja patogenicidad, generando adaptación virus – hospedador (Betancur, et al., 2007, p.14).



4.3 Resultado de la encuesta

El objetivo de la encuesta fue el de poder identificar el conocimiento que tienen los ganaderos de ambas islas acerca de la DVB, el determinar la cantidad de animales, propósito y tipo de la explotación, practicas más comunes dentro de la explotación, tipo de pastos y manejo reproductivo para correlacionarlos posteriormente con los resultados e identificar posibles factores de riesgo.

4.3.1 Conocimiento de la Diarrea Viral Bovina

Debido a la prohibición del uso de biológicos en las islas, y a la “ausencia” de enfermedades en el Archipiélago a lo largo del tiempo, el conocimiento de las enfermedades del Ganado Bovino por parte de los productores es casi nulo. El 100% de los ganaderos que formaron parte del estudio no tiene conocimiento de la Diarrea Viral Bovina y el impacto que este causa a nivel productivo y económico. En la Actualidad, los productores tienen conocimiento acerca del virus del IBR debido a la alta infestación que este está causando en las islas. Esta falta de información de los ganaderos sobre la enfermedad y consecuentemente la introducción al hato de animales sin análisis clínicos ni de laboratorio es una importante causa de la entrada de la enfermedad a un hato como lo menciona Valle et al., (1999, p.165 – 177).

4.3.2 Alimentación

La totalidad de las fincas da como suplemento sal mineral a sus animales. No poseen agua en los potreros ya que no existe ningún sistema de riego, solamente agua de lluvia; solo 1 vez por semana o cada 15 días bajan los animales a los corrales para ser bañados, realizar algún tipo de tratamiento y proveerles de sal mineral y agua (con excepción de los animales de ordeño que cada mañana durante las primeras horas del día son ordeñados).

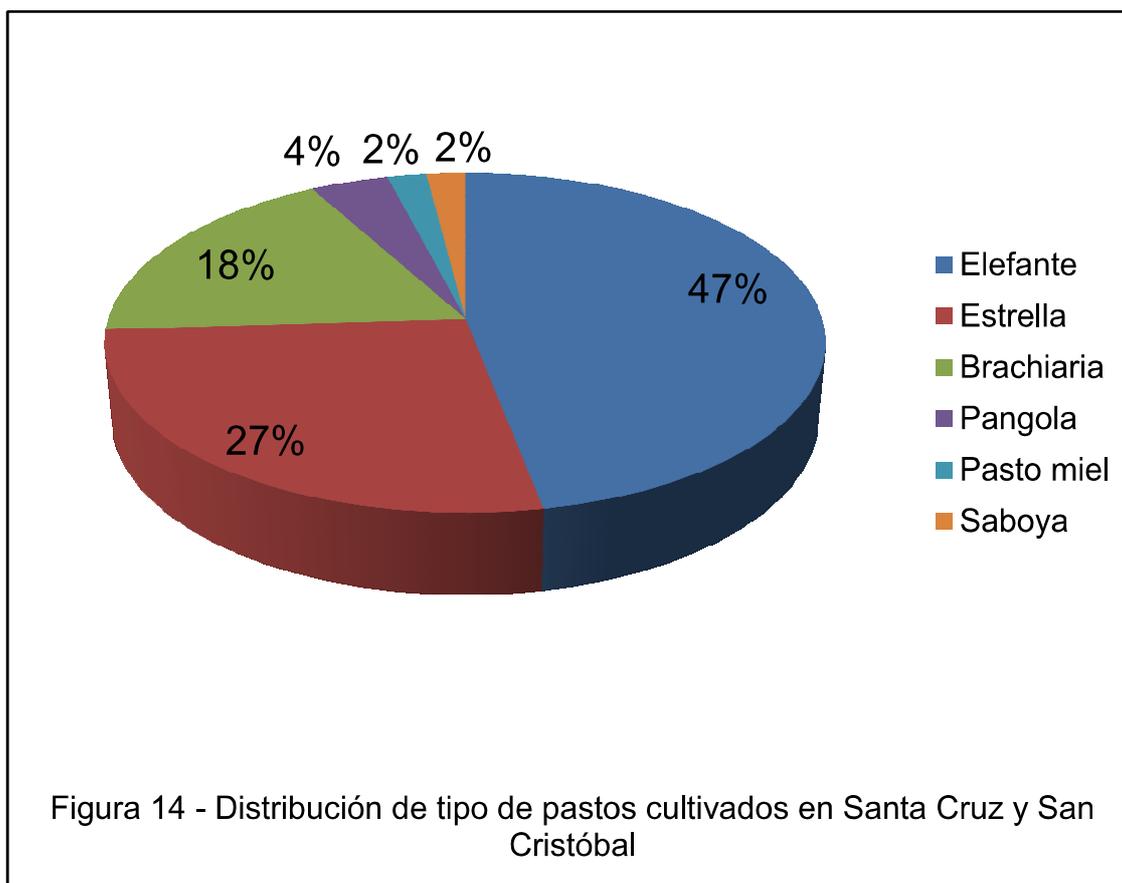
Jara (2007, p.39) menciona en su estudio en Loja que los hatos con un manejo nutricional deficiente; donde la falta de alimento y agua es una causa

predisponente para la infección del animal, ya que crea mucho estrés y como consecuencia una importante inmunodepresión del animal.

Mainar – Jaime et al., (2001, p.63 – 73) en su estudio en la región de Asturias menciona que el uso de pastos comunes en las explotaciones bovinas es un factor de riesgo para el vDVB.

Dentro de los pastos más cultivados en ambas islas se encuentran los siguientes:

- Estrella - *Cynodon plectostachium* - *Cynodon nlemfluensis*.
- Elefante – *Pennisetum purpureum*.
- Brachiaria – *Brachiaria dictyoneura*.
- Pasto miel – *Paspalum dilatatum*.
- Pangola – *Digitaria decumbens*.
- Saboya – *Panicum máximum*.



4.3.3 Tratamientos

El 100% de los ganaderos realizan desparasitaciones con productos a base de Ivermectina®, baños con garrapaticidas y administración de antibióticos para control de diarreas y problemas respiratorios, mientras que solo el 70% de los ganaderos administra vitaminas a sus animales. Un número reducido de los ganaderos (aprox. 2 – 3%) administra o ha administrado fluidos a sus animales.

4.3.4 Tipo y objetivo de explotación

El 100% de las fincas poseen un tipo de explotación extensiva donde los productores manejan las vacas lecheras en los potreros cercanos a los corrales para poder realizar el ordeño cada mañana (4am – 7am), mientras que los animales destinados a carne son manejados en los potreros más altos de cada finca; como se comentaba en el punto de alimentación, son bajados cada semana o cada 15 días para cualquier práctica necesaria.

El objetivo zootécnico de la mayoría de los productores (98,33%) es doble propósito (carne y leche), y solamente el 1,67% de los productores se dedica a la producción de carne.

Jara (2007, p.38) determina que el sistema de explotación extensivo es el factor de riesgo más importante ya que los animales recorren o pastan en grandes extensiones llegando a diseminar dichas enfermedades en toda la región.

Stahl et al. (2008, p.285 – 296) menciona que cuando el virus ingresa a un hato de crianza extensivo o semi-extensivo, constituido por pocos animales, usualmente todos se infectan con o sin consecuencias clínicas; pero seroconvierten y quedan protegidos contra reinfecciones, siendo la infección en estos casos autolimitantes.

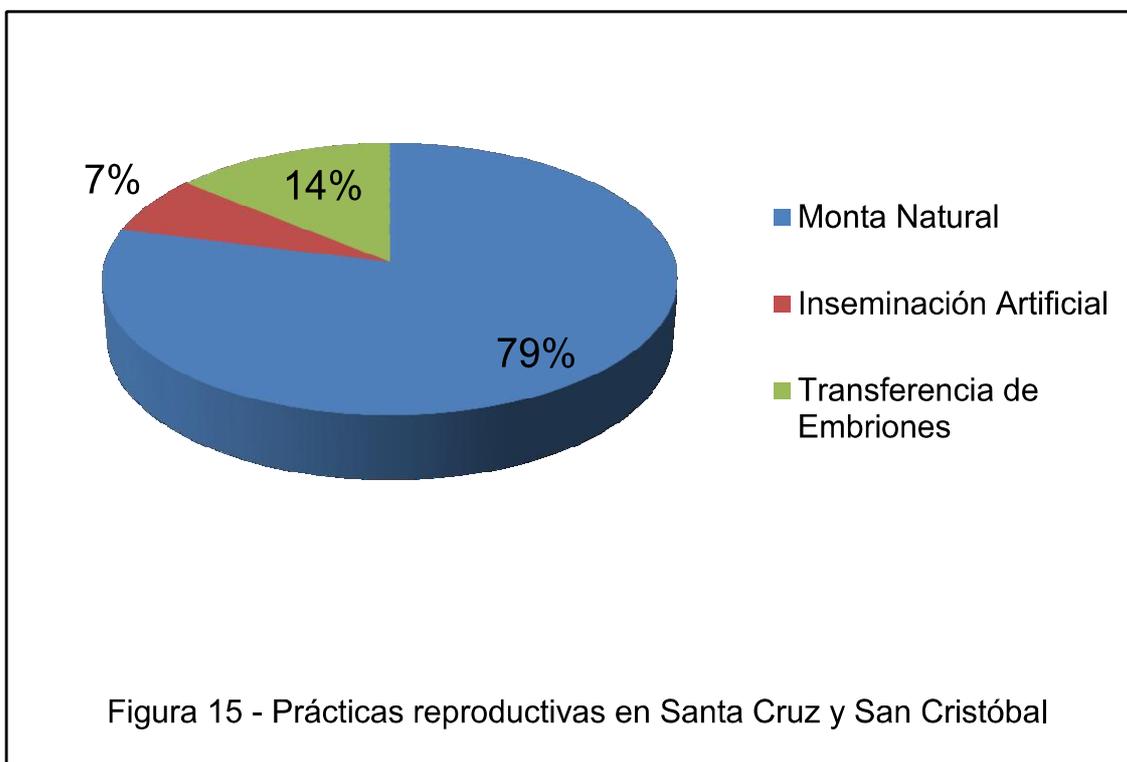
4.3.5 Reproducción

En Santa Cruz el 87,5% utilizan la monta natural, cada hato posee un solo semental que es el único que monta a las hembras, el 5% utilizan únicamente la inseminación artificial, mientras que el 7,5% utilizan tanto la monta como la inseminación artificial. Los productores con mayor posibilidad económica importan pajuelas con certificación libre de enfermedades directamente de países como Francia (que según la Página web de la OIE posee la enfermedad clínica), mientras que los demás utilizan las pajuelas que el MAGAP importa y distribuye a los diferentes ganaderos.

En San Cristóbal el 100% de los ganaderos utilizan la monta natural, aunque en el presente el MAGAP ha implementado la práctica de transferencia de embriones, pero solo en algunos ganaderos (14% del total de fincas seleccionadas para el estudio en San Cristóbal), debido al costo que esta práctica demanda; se hace un estudio y análisis previo de animales para posteriormente hacer una calificación y selección de los vientres participantes. Los embriones son traídos de los Estados Unidos y cuentan con una certificación sanitaria que garantiza el no ingreso de enfermedades a la isla (Castillo, 2012).

Como se mencionaba en los puntos anteriores, el uso de sementales infectados, pajuelas o embriones sin una certificación sanitaria adecuada son una importante y muy riesgosa fuente de infección (Quispe, et al., 2008, p.180).

Durante la encuesta, los propietarios mencionaron signos multifactoriales que no se pueden asociar directamente con la DVB, aunque algunos coincidieron en una baja cantidad de abortos, signos respiratorios, bajo índice de fertilidad; signos que pueden ser atribuibles más al IBR que se encuentra en mucha mayor proporción en las islas en comparación con la DVB. La falta de uso de registros es una limitante al momento de asociar y correlacionar signos y síntomas (García, 2012).



4.4 Factores de riesgo

Como se observó a lo largo del capítulo, el principal factor de riesgo para la transmisión del virus de DVB sería la falta de conocimiento de los ganaderos sobre las DVB y las diferentes enfermedades del ganado bovino. Esto ocasiona como consecuencia las pobres medidas de bioseguridad en los hatos y el poco control en la introducción de animales que se podrían convertir en potenciales fuentes de infección de enfermedades como lo mencionan Valle et al. (1999, p.165 – 177).

La entrada de pajuelas para inseminación artificial, movimientos de animales interislas y prácticas reproductivas deficientes también son un factor de riesgo considerable según Quispe, et al. (2008, p.180), como se observó en la encuesta la monta natural es la práctica más común en ambas islas, los machos infectados son una de las principales fuentes de infección dentro de un hato; afortunadamente no se encontraron reproductores seropositivos y las hembras seropositivas al análisis son animales aparentemente sanos que tuvieron contacto con el virus y se recuperaron y no son fuentes de infección.

La cantidad de animales dentro de un hato (categoría de la finca) es un factor de riesgo ya que facilita la diseminación del virus por contacto directo entre animales sanos y animales con infección aguda, especialmente en las horas de ordeño; las fincas de medianos y grandes productores son el grupo más representativo en las islas y por tanto un punto a tener en cuenta para el futuro y la mejora de las prácticas zootécnicas.

Como menciona Jara (2007, p.38) el tipo de explotación, la pobre calidad de los pastos y la poca disponibilidad de agua es un importante factor de riesgo debido al estrés que crea en los animales, los inmunodeprime y los convierte en blancos susceptibles para la entrada y desarrollo del virus; aunque contrasta con Stahl et al. (2008, p.285 – 296), donde mencionan que cuando el virus ingresa a una explotación extensiva o semi-extensiva, todos los animales se infectan y seroconvierten, siendo esta infección autolimitante y quedando protegidos de por vida.

Indiferentemente de los resultados, y en base a otros estudios consultados (Betancur et al., 2007, p.13) podríamos determinar que la raza no es un factor de riesgo; y simplemente los resultados se debieron a la cantidad de animales de una u otra determinada raza en ambas islas.

Por último, la edad también sería un factor de riesgo ya que los animales entre 2 a 8 años de edad resultaron el grupo más significativo de seropositivos, debido al estrés y los múltiples estados inmunodepresivos a los que son sometidos en esta etapa que es la de mayor pico reproductivo y productivo como los mencionan Fredriksen et al., (1999, p.111 – 114) y Betancur, et al., (2007, p.13) en sus respectivos estudios.

Consecuentemente y mediante el presente estudio, se puede dar un punto de partida importante en el estudio epidemiológico de las enfermedades infecciosas del ganado bovino en las islas; Galápagos es un área mal considerada “Ausente de enfermedades”; las medidas de control y regulación en el ingreso y transporte de animales deben ser fortalecidas con el fin de evitar el ingreso de otros patógenos que puedan interferir de manera directa o

indirecta en las distintas explotaciones, el ecosistema, la vida silvestre y salud pública.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. Mediante este estudio se comprobó la presencia de anticuerpos en circulación al análisis de laboratorio, aparentemente son animales que estuvieron en contacto con el virus en alguna etapa de su vida y eso estimuló la producción de anticuerpos. 11,33% y 4,20% de los animales de Santa Cruz y San Cristóbal respectivamente; se presume que esta situación podría ser similar en las islas donde se mantiene bovinos y no se realizó el muestreo.
2. Al no haber realizado el análisis de antígenos (virus), no podemos afirmar que se trata de animales afectados por la DVB. El Test de ELISA-Ag es la prueba de elección para identificar circulación viral en una población bovina no vacunada
3. Los principales factores de riesgo asociados con los resultados encontrados en este estudio, son principalmente la falta de conocimiento de los ganaderos de las islas sobre la DVB, así como de otras enfermedades infecciosas; deficiente control en el transporte de animales, asociado con la mala aplicación de cuarentenas; las malas prácticas reproductivas, asociadas a una deficiente bioseguridad; y la edad, debido a que un estrés por una producción o por reproducción.
4. Al análisis de la información recolectada a través de la encuesta, no se pudo determinar a la raza como un factor predisponente, asociado a la presencia de anticuerpos contra la DVB.
5. La falta de utilización de registros en las ganaderías, dificultó una mejor toma de información específica, para una mejor correlación de datos con posibles enfermedades infecciosas.

5.2 Recomendaciones

1. Realizar un nuevo análisis de los animales positivos del presente estudio, a través de la aplicación de un ELISA-Ag para la identificación de antígenos en circulación (virus), y así poder confirmar la presencia de enfermedad.
2. Realizar estudios complementarios para determinar las posibles fuentes de contaminación, como el análisis de semen en machos reproductores de cada finca ya que el virus puede evadir la respuesta inmune en el testículo.
3. Sugerir a los organismos encargados de la salud animal, la implementación de campañas de información y difusión entre los ganaderos de las islas, para mejorar el conocimiento de la DVB y otras enfermedades infecciosas del ganado bovino, y así evitar su difusión.
4. Fortalecer los sistemas de vigilancia epidemiológica de las islas, para monitorear periódicamente la presencia DVB, mediante análisis de laboratorio en muestras de los animales
5. Sugerir una mejora en los sistemas de manejo y registro de datos de los animales, para facilitar la utilización de la información en estudios futuros

REFERENCIAS

Aguilar, R., Benito, A. y Rivera, H. (2006). Seroprevalencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina en Ganado Lechero de Crianza Intensiva del Valle de Lima. *Rev Inv Vet Perú*, N° 17 (2), 148-153.

Ames, TR. (1986). The causative agent of BVD: its epidemiology and pathogenesis. *Edit. Vet Med*, 848–869.

Baker, JC. (1987). Bovine viral diarrhea virus: A review. *Edit. JAVMA*, 1449-1458.

Baule, C. (2000). Molecular characterization of bovine viral diarrhea virus: an important pathogen of cattle. *Acta Universit. Agric. Sueciae*, N° 95, 9–38

Betancur, H., Gogorza, LM. y Martínez, FG. (2007). Seroepidemiología de la Diarrea Viral Bovina en Montería (Córdoba, Colombia). *Analecta Veterinaria*, N° 27 (2), 11-16.

Bielefeldt, H. (1986). Pathogenesis of bovine viral diarrhea–mucosal disease: distribution and significance of BVDV antigen in diseased calves. *Res. Vet. Sci*, N° 34, 5–10.

Bolin, SR. y Ridpath, JF. (1992). Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea virus in calves. *Edit. Am. J. Vet. Res*, 2157–2163.

Bracamonte, M., Obando, C. y Plaza, N. (2006). Diarrea Viral Bovina: Como afecta a los animals. *INIA divulga*, 19-22.

Brodersen, BW., White, AK. y Smith, DR. (1998). Immunohistochemical test on skin biopsies as a method for detection of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *Edit. Proc. Am. Assoc. Bov. Pract*, 246.

Brownlie, J., Thompson, I. y Curwen, A. (2000). Bovine virus diarrhea virus–strategic decisions for diagnosis and controll. *Edit. In Practice* 22, 176–187.

Caropi, WV., Donis, RO. y Dubovi, EJ. (1990). Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhoea virus. *Edit. Am. J. Vet. Res.*, 1388–1394.

Celedón, M., Roco, L., Quinteros, G., Santibáñez, M. y Berrios, P. (1999). Puesta en evidencia del vDVB en bovinos clínicamente infectados. *Edit. Arch med vet.* 189-195.

Constable, PD., Hull, BL., Wicks, JR. y Myer, W. (1993). Femoral and tibial fractures in a newborn calf after transplacental infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.*, 383–385.

De Verdier Klingenberg, K. (2000). Enhancement of clinical signs in experimentally rotavirus infected calves by combined viral infections. *Edit. Vet. Rec.*, 717–719.

Dinter, Z. (1989). *Diagnostic Virology. A review of methods at the National Veterinary Institute. Coordinated research programme on animal disease diagnostics.* National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden.

Donis, RO. (1995). Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. *Edit. Food Anim. Pract.*, 393-423.

Drake, TR., Moore, DA., Whitlock, RH., Castro, AE., Hattel, AL., Reams, R. y Stoffregen, W. (1995). An outbreak of acute BVD in Pennsylvania cattle, *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review.* Edit. Cornell University, 208.

Dubovi, EJ. (1996). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Edit. Vet. Med.*, 867-872.

Dubovi, EJ. (1994). Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle. *Edit. Food Anim. Pract.*, 503–514.

Fray, MD., Paton, DJ. y Alenius, S. (2000). The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Edit. Anim. Reprod. Sci.*, 615–627.

Fredriksen, B., Sandvik, T., Loken, T. y Odegaard, SA. (1999). Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine viral diarrhoea virus. *Edit. Vet. Rec*, 111–114.

Gasque, R. (2008). *Enciclopedia Bovina: Diarrea Viral Bovina*. México DF, México: FMVZ.

Gordillo, J. (2000). *Relatos de 44 años en Galápagos*. Quito, Ecuador: Abya – Yala.

Graham, DA., McLaren, IE. y German, A. (1998). Evaluation of the suitability of a commercial bovine viral diarrhoea virus antigen capture ELISA for diagnostic testing. *Edit. Vet. J.* 149–154.

Grahn, TC., Fahning, ML. y Zemjanis, R. (1984). Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *Edit. JAVMA*. 429–432.

Grooms, DL., Brock, KV. y Ward LA. (1998). Detection of bovine viral diarrhoea virus in the ovaries of cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus, *Edit. J. Vet. Diag. Invest*, 125–129.

Hamers, C., Couvreur, B., Dehan, P., Letellier, C., Lewalle, P., Pastoret, P. y Kerkhofs, P. (2000). Differences in experimental virulence of bovine viral diarrhoea virus strains isolated from hemorrhagic syndromes, *Edit. Vet. J.* 250–258.

Hibberd, RC., Turkington, A. y Brownlie, J. (1993). Fatal bovine viral diarrhoea virus infections of adult cattle, *Edit. Vet. Rec.* 227–228.

Houe, H. (1995). Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Edit. Food. Anim. Pract*, 521-547.

Huaman, J. Rivera, H. Arainga, M. Gavidia, C. y Manchego, A. (2007). Diarrea Viral Bovina y Animales Portadores del Virus en Hatos Productores de Leche de la Irrigación de Majes, Arequipa. *Rev Inv Vet Perú*, N° 18 (2), 141-149.

Instituto Nacional de Censos y Estadística. (2012). Resultados de censo de población. Recuperado el 6 de marzo de 2012 de <http://www.inec.gov.ec/cpv/>

Jara, D. (2007). Estudio de seroprevalencia de Diarrea Vírica Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en la provincia de Loja (Ecuador) por medio de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y su distribución epidemiológica geoespacial: Conclusiones, Médico Veterinario Zootecnista. Loja – Ecuador. Universidad Técnica Particular de Loja. 63 -65.

Larson, RL., Pierce, VL., Grotelueschen, DM. y Wittum, TE. (2006). Economic evaluation of beef cowherd screening for cattle persistently-infected with bovine viral diarrhea virus, *Bov Pract*, 36(2), 106-112.

Lértora, WJ. (2003). Diarrea Viral Bovina: Actualización. *Rev. Vet. FCV UNNE*, N° 14, 1-11.

Lucas, ME. Westcott, GF., Edawards, S., Newman. RH. y Swallow, C. (1986). Immunofluorescence and cell culture techniques in the diagnosis of viral Infection of aborted bovine fetuses. *Edit. Vet Rec*, 242-243.

Mainar-Jaime, RC., Berzal-Herranz, B., Arias, P. y Rojo-Vazquez, F.A. (2001). Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral-diarrhoea virus (BVDV) infection in a nonvaccinated dairy-cattle population from the Asturias region. *Preventive Veterinary Medicine*, 52, 63–73.

Meléndez, L., Schurig, A., Schudel, J., Pocius, L. y Dellers, M. (1987). Manual de diagnóstico rápido de enfermedades virales de los animales utilizando métodos inmunoenzimáticos. *Salud animal. Publicación científica N° 15*.

Moncayo, C. (2010). Creación de un Banco de Germoplasma Bovino Mediante la Criopreservación de Semen Post-mortem en Toros de Biotipo Galapagueño: Historia del Ganado Galapagueño. Ingeniero en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. 6 – 7.

Nettleton, PF. y Entrincan, G. (1995). Ruminant Pestiviruses, *Edit. Br. Vet. J*, 615-642.

Obando, C. y Rodríguez, JM. (2005). *Diarrea Viral Bovina. Manual de Ganadería de Doble Propósito*. Mexico DF, Mexico: FMVZ.

Odeón, A. (2006). Diarrea viral bovina (DVB). *Producir XXI*, 14(174), 24-30.

Odeón, A., Spath, E., Paloma, E., Leunda, M., Fernández, I., Pérez, S., Kaiser, G., Draghi, B., Cetra, A. y Cano, A. (2001). Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, Herpesvirus Bovino y Virus Sincicial Respiratorio en Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria*, N° 82, 216-220.

Organización Mundial de la Salud Animal. (2011). Incidencia de la Diarrea Viral Bovina en el Ecuador. Recuperado el 7 de diciembre de 2011 de <http://web.oie.int/wahis/public.php>

Organización Mundial de la Salud Animal. (2011). Lista de países según el estado sanitario de la Diarrea Viral Bovina. Recuperado el 9 de diciembre de 2011 de http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_lists&disease_type=Terrestrial&disease_id=189

Organización Mundial de la Salud Animal. (2011). Mapas de distribución mundial de la Diarrea Viral Bovina. Recuperado el 5 de diciembre de 2011 de http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_map

Pereira, T. (2006). *Conceitos Básicos, Métodos e Técnicas em Laboratório de Virologia Animal*. Minas Gerais, Brasil: Tavares.

Pernthaner, A., Schilcher, F. y Baumgartner, W. (2008). Acute bovine viral diarrhoea virus infections in Austrian cattle, *Edit. Israel J. Vet. Med*, 104–107.

Quispe, R., Cama, A., Rivera, H. y Araingá, M. (2008). El Virus de la Diarrea Viral en Bovinos Criollos de la Provincia de Melgar, Puno. *Rev Inv Vet Perú*, N° 19 (2), 176-182.

Reinhardt, G., Carrasco, L., Tadich, N. y Riedemann, S. (2001). Comparación entre dos técnicas de diagnóstico para diarrea viral bovina (DVB) en 50 predios de la X región, Chile.

Seroneutralization y enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA-I). Arch. Med. Vet. V.33 n.2, p.16.

Ridpath, JF. (1996). Sequence diversity and genotyping. International Symposium Bovine Viral Diarrhea Virus a 50 Year Review, Edit. Cornell University, 39–42.

Rivera, H. (1994). El Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVD). Investigaciones Pecuarias VI, N° 1, 1-11.

Rueda, D. (2009). Mejoramiento Genético del Ganado Bovino en San Cristóbal. Recuperado el 20 de marzo de 2012 de http://galapagospark.org/nophprg.php?page=desarrollo_sustentable_agropecuaria_inseminacion&set_lang=es

Rweyemamu, M., Fernández, A., Espinosa, A., Schudel, A., Lager, I. y Mueller, S. (1990). Incidencia, epidemiología y control de la diarrea viral bovina en América del Sur, Edit. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz, 215-221.

Saa, L., Perea, A., Garcia-Bocanegra, I., Arenas, A., Jara, D., Ramos, R. y Carbonero, A. (2011). Seroprevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. Trop Anim Health Prod 44:645–649.

Sobalvarro, A. (2003). Estudio Epidemiológico de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina y Diarrea Viral Bovina en 10 explotaciones ganaderas de Honduras: Resultados y conclusiones. Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura, p. 6-13.

Ståhl, H., Lindberg, A., Rivera, H., Ortiz, C. y Moreno-López, J. (2008). Selfclearance from BVDV infections- A frequent finding in dairy herds in an endemically infected region in Peru. Prev Vet Med 83: 285-296.

Stringfellow, DA. y Givens, MD. (2000). Epidemiologic concerns relative to in vivo and in vitro production of livestock embryos, Edit. Anim. Reprod. Sci, 629–642.

Talafha, A.Q., Hirche, S.M., Ababneh, M.M., Al-Majali, A.M. y Ababneh M.M. (2009). Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds in Jordan. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 499–506.

Tizard, I. (2002). *Inmunología veterinaria*. Mexico DF, Mexico: McGraw-Hill Interamericana.

Tremblay, R. (1996). Transmission of bovine viral diarrhoea virus, *Edit. Vet. Med*, 858–866.

Ubidia, J. (1974). *Crianza de los bovinos e industrialización de los productos*. Quito, Ecuador: Edit. Fray Jodoco Ricke.

Valera, A. (2007). *Microbiología Veterinaria: Flavivirus*. En Stanchi, N., Martino, P., Gentilini, E., Reinoso, E., Echeverria, M., Leardini. y Copes, J. (Eds.). *Microbiología Veterinaria*. (1era. ed.). (pp. 447-450). Buenos Aires, Argentina: INTER-medica.

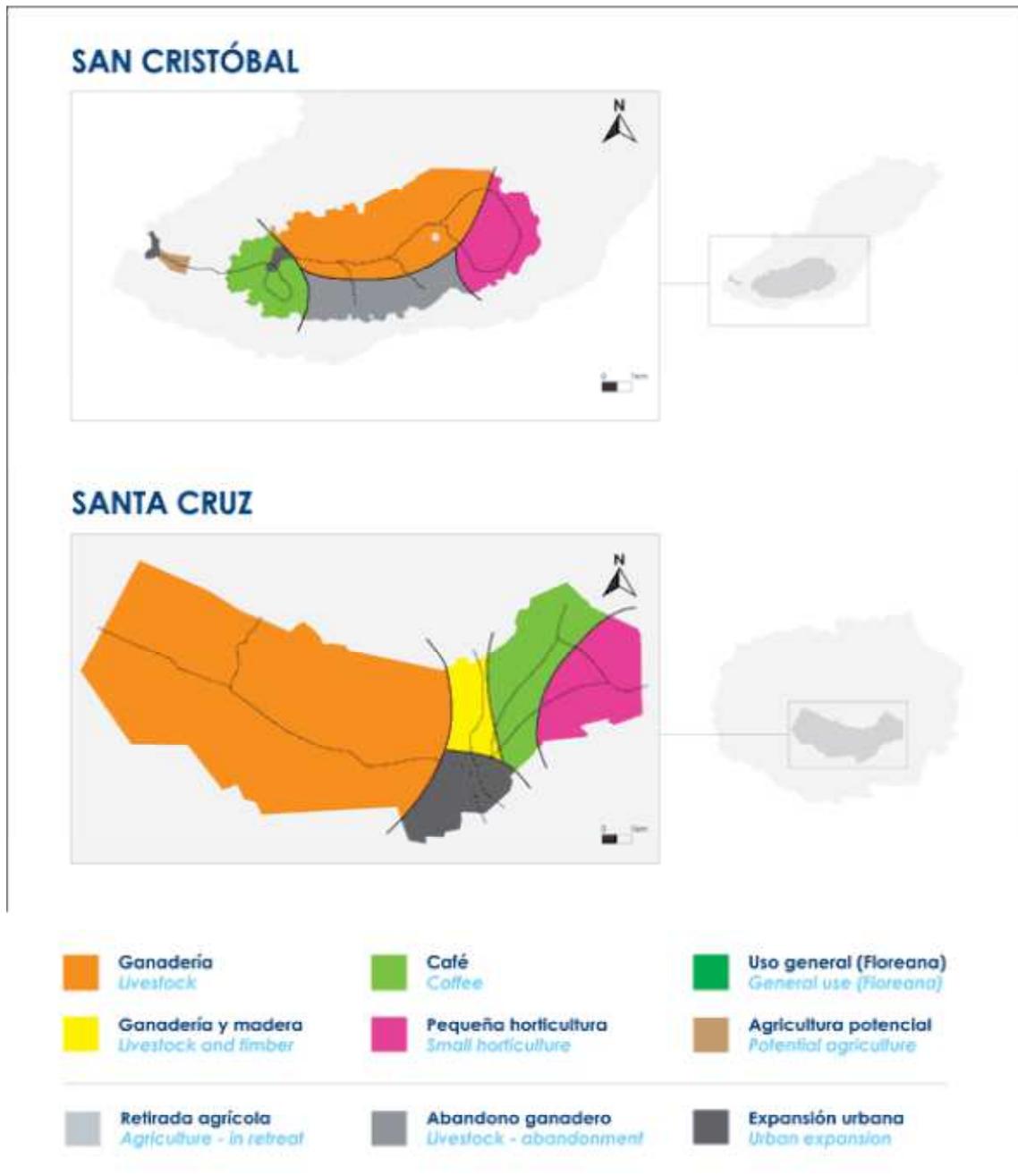
Vilcek, S., Paton, DJ., Durkovic, B., Strojny, L., Ibata, G., Moussa, A., Loitsch, A., Rossmanith, W., Vega, S., Scicluna, MT. y Paifi, V. (2001). Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups, *Edit. Arch. Virol*, 99–115.

Virakula, P., Fahning, ML., Joo, HS. y Zemjanis, R. (1998). Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain, *Edit. Theriogenology*, 2441–449.

Walz, PH., Steficek, BA. y Baker, JC. (1999). Effect of experimentally induced type II bovine viral diarrhoea virus infections on platelet function in calves, *Edit. Am. J. Vet. Res*, 1396–1401.

ANEXOS

Anexo 1 - Distribución del suelo para las diferentes actividades productivas en Santa Cruz y San Cristóbal



Fuente: Pagina web Parque Nacional Galápagos. Consultado: 20/03/12.

Anexo 2 - Estado sanitario de la DVB en Latinoamérica

País	Estado enfermedad	Casos
Argentina	Enfermedad clínica demostrada	Presente sin datos cuantitativos
Bolivia	Enfermedad en ciertas zonas del país	10
Brasil	Enfermedad clínica demostrada	92
Chile	Enfermedad clínica demostrada	46
Colombia	Enfermedad clínica demostrada	197
Ecuador	Infección presente sin signos clínicos	Presente sin datos cuantitativos
Paraguay	No hay reportes	No hay datos
Perú	Sospechosa pero no confirmada	Sin confirmación
Uruguay	Enfermedad clínica demostrada	Presente sin datos cuantitativos
Venezuela	Infección presente sin signos clínicos	No hay datos

Fuente: Pagina web Organización Mundial de la Salud Animal (OIE).
Consultado: 07/06/2012.

Anexo 3 - Incidencia de la DVB en el Ecuador en 2011

Provincia	2011											
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic
Orellana						x						
Santo Domingo de los Tsáchilas				x		x					x	x
Azuay				x		x						
Cañar	x	x			x							
Carchi			x	x	x	x						
Chimborazo			x	x		x	x			x		
Cotopaxi		x	x	x	x	x	x	x	x	x		
El Oro	x			x								
Esmeraldas		x		x					x			
Guayas		x		x								
Imbabura				x	x	x						
Manabí								x	x			
Morona Santiago								x		x		
Napo					x		x					
Pastaza	x											
Pichincha	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sucumbíos				x								
Tungurahua				x	x			x	x	x		

Fuente: Pagina web Organización Mundial de la Salud Animal (OIE).
Consultado: 07/06/2011.

Anexo 4 - Presencia de la IBR (Rinotraqueítis Infecciosa Bovina) en Galápagos

Año	Galápagos	
2007	Nuevos focos	7
	Total focos	7
	Casos	109
	Susceptibles	162
2008	Nuevos focos	1
	Total focos	1
	Casos	3
	Susceptibles	10
2010	Nuevos focos	1
	Total focos	1
	Casos	2
	Susceptibles	0
2011	Nuevos focos	1
	Total focos	1
	Casos	2
	Susceptibles	4

En el año 2009 no se presentaron casos de IBR en el Archipiélago de Galápagos.

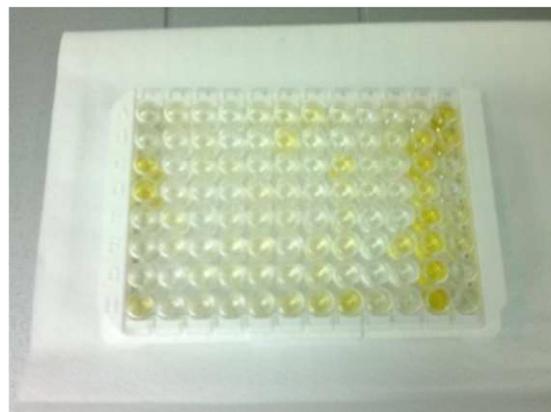
Fuente: Pagina web Organización Mundial de la Salud Animal (OIE).
Consultado: 20/12/2011.

Anexo 5 - Registro de fincas de bovinos muestreados

<u>I.- Datos generales.</u>						
Propietario:				Teléfono:		
Hacienda:				Ubicación:		
Coordenadas:				# Total bovinos:		
# Otros animales:	Perros:		Caballos:		Aves:	
	Gatos:		Cerdos:		Otros:	

<u>II.- Información complementaria.</u>		
1) Alimentación.		
	Tipo.	Cantidad.
Pasto:		
Concentrado:		
Suplementos:		
Agua:		
Leche:		
2) Sanidad.		
	Producto	Frecuencia.
Desparasitaciones:		
Tratamientos frecuentes:		
Vacunas:		
3) Manejo productivo.		
Tipo explotación:		
Objetivo explotación:		
Manejo pastos:		
4) Manejo Reproductivo.		
Tipo de Reproducción:	Inseminación artificial.	Monta natural/controlada.
Procedencia del semen:	Marca:	País:
Destete (meses):		
5) Otros.		
Uso de registros:		

Anexo 7 - Fotos

**Materiales muestreo****Materiales de laboratorio****Procesamiento de muestras****Muestreo****Análisis de laboratorio****Placa ELISA**

Anexo 8 - Guía de movilización de muestras de suero sanguíneo bovino

	REPUBLICA DEL ECUADOR MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO		Nº 121/2012 AGROCALIDAD GALAPAGOS
	GUÍA DE MOVILIZACIÓN DE ANIMALES PRODUCTOS Y/O SUBPRODUCTOS		

AGROCALIDAD Galápagos concede la presente Guía Sanitaria de Movilización, debiendo los interesados sujetarse a cumplir con lo dispuesto en la Ley de Sanidad Animal, Reglamentos y Acuerdos Vigentes. Los animales a movilizarse fueron sometidos a control ecto parasitario, no presentan signos de enfermedades infectocontagiosas. Los productos y/o subproductos se encuentran en buenas condiciones.

LA AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DEL AGRO, autoriza la movilización

AURELIO CABEZAS

1716912280

Nombre del propietario

Cédula de Ciudadanía/RUC

Desde: **Isla Santa Cruz** Puerto Ayora
 Isla Parroquia Sector Hacienda o lugar

Hasta: **Pichincha** **Quito**
 Provincia Cantón Parroquia Hacienda o lugar

Bovinos	CANTIDAD		MARCA	OTRAS ESPECIES	CANTIDAD	
	EN LETRAS	NUMEROS			EN LETRAS	NUMEROS
Terneros				Equinos		
Vaconas				Porcinos		
Nobillos				Ovinos		
Toretos				Caprinos		
Vacas				Caninos		
Toros				Aves		
Bueyes				Felinos		
TOTAL				TOTAL		

OBJETO DE LA MOVILIZACION	Carne <input type="checkbox"/>	Cria <input type="checkbox"/>	Exposición <input type="checkbox"/>
	Feria <input type="checkbox"/>	Cebo <input type="checkbox"/>	Otros <input type="checkbox"/>

ARTICULO	FUENTE ANIMAL	CANTIDAD		OTRAS MUESTRAS	Forma de embalaje	Numero de contenedores
		EN LETRA	NUMEROS			
Carne (Kg.)				905 muestras de suero sanguíneo bovino	905 criolubos distribuidos en 05 cajas de cartón	1
Embutidos. "						
Yogurth. Lts.						
Mantequilla. (Kg)						
Huevos, unidades						
Aves faenadas						
Quesos unidades						
Otros						
TOTAL				TOTAL 905 MUESTRAS		

Transportados en Vehículo
 Nº de placa Nombre del conductor Nº Cedula

Avión TAME/AEROGAL
 Nombre de la Compañía Nº de vuelo

Otros FIBRA

Esta Guía es válida por el tiempo de: 2 días, a partir del martes, 21 de agosto de 2012

Las muestras son para análisis de laboratorio no tienen ningún riesgo sanitario, se autoriza su Observaciones..... movilización y serán transportadas en un cooler de espuma flex con hielo químico para mantener la cadena de frío.

REVISADO
 Inspector Agropecuario


 Aprobado
 Coordinadora Provincial Agrocalidad-Galápagos



Anexo 9 - Certificado veterinario emitido por Agrocalidad para transporte de muestras de suero sanguíneo bovino



Av. Amazonas y Eloy Alfaro.
Edif. MAGAP, piso 9.
Telf.: (593) 2 2567 232
www.agrocalidad.gov.ec
direccion@agrocalidad.gov.ec

Puerto Ayora, 22 de Agosto de 2012

Cert.008

CERTIFICADO

Por medio de la presente certifico que se transportarán por vía aérea, muestras de suero sanguíneo Bovino.

Las mismas que serán transportadas por el Sr. Aurelio Cabezas Murillo de cédula de identidad No. 1716912280, destinadas hacia los Laboratorios de Agrocalidad - Tumbaco. Dichas muestras no representan ningún riesgo a la salud humana, las mismas se detallan a continuación.

DETALLE	CANTIDAD
Muestras de suero sanguíneo de bovino, almacenados en criotubos. Cooler de espuma flex T8 con hielo químico.	905

Atentamente,

Dr. Fabricio Vásquez Arreaga
CI: 200006094-3
Médico Veterinario AGROCALIDAD-SIGAL

