



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
Laureate International Universities

FACULTAD DE CIENCIAS DE LAS SALUD

“DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA E INCIDENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) DE SEIS HATOS GANADEROS DE LA PARROQUIA CANUTO, CANTÓN CHONE EN LA PROVINCIA DE MANABÍ”

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista.

Profesor Guía:

Dr. Freddy Proaño Pérez

Autoras:

Luisa María Escudero Vásquez
Nataly Carolina Morales Granda

Año:

2013

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

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 AUTORIA DEL ESTUDIANTE

“Declaramos que este trabajo es original, de nuestra 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”

.....

Luisa María Escudero Vásquez

CC. 0201415072

.....

Nataly Carolina Morales Granda

CC. 1722550595

AGRADECIMIENTOS

A nuestro tutor, Dr. Freddy Proaño, por su paciencia y colaboración de manera incondicional en la realización de este trabajo, guiando nuestras ideas.

A nuestros profesores de la carrera, por transmitirnos sus conocimientos para así poder culminar esta etapa.

Un agradecimiento especial para la Lic. Margoth Barrionuevo y para el Dr. Patricio Sandoval por brindarnos su asesoría técnica y las facilidades necesarias para llevar a cabo el trabajo de laboratorio de esta investigación.

A los ganaderos y trabajadores por abrirnos las puertas de sus predios para llevar a cabo este trabajo.

DEDICATORIA

Para nuestros padres que con su apoyo, han sido los pilares fundamentales para lograr este objetivo y culminar así esta etapa de nuestras vidas.

A nuestros hermanos que en los buenos y malos momentos, supieron darnos la fuerza para levantarnos y continuar.

RESUMEN

La Diarrea Viral Bovina (DVB) es una enfermedad infecto–contagiosa, de distribución mundial, causada por un Pestivirus, que provoca importantes pérdidas económicas, debido a los problemas reproductivos que ocasiona en los animales. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia e incidencia de la DVB en seis hatos ganaderos de la parroquia Canuto, cantón Chone, provincia de Manabí.

El estudio se dividió en dos etapas, en la primera se utilizaron 430 sueros sanguíneos previamente empleados en otro estudio para determinar la prevalencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), los cuales fueron procesados en el laboratorio de Sanidad Animal de Agrocalidad en Tumbaco y analizados mediante el test de ELISA-Ac Indirecto (IDEXX), estos se distribuyeron en las siguientes categorías: raza, sexo, edad y animales que comparten IBR y DVB, obteniéndose un 8,83% de animales seropositivos. Para el segundo muestreo se tomaron en cuenta solo los sueros negativos y sospechosos a la primera prueba, muestreándose así 249 animales a los cuáles se los distribuyó en las mismas categorías antes mencionadas, obteniendo así el 14,85% de seropositivos. El rango de edad con mayor prevalencia, se encuentra en los animales mayores de 8 años para los dos muestreos, pero no se demostró estadísticamente diferencia significativa. Los animales que comparten IBR y DVB al primer muestreo se encuentran en un 2,50%, y al segundo 6,02 %; el incremento de estas cifras se podría asociar a que existe una infección mixta, y al estado inmunológico del animal al presentarse IBR, siendo concomitante a la segunda infección. En conclusión, los resultados proporcionan información importante sobre el estado de la DVB, siendo una base para el inicio de otras investigaciones en esta área.

Palabras Clave: DVB, IBR, ELISA, Canuto, prevalencia.

ABSTRACT

The Bovine Viral Diarrhea (BVD) is a contagious disease with a worldwide distribution, caused by a Pestivirus that causes significant economic losses due to reproductive problems in animals. The aim of this study was to determine the prevalence and incidence of BVD in six cattle farms located in the Canuto parish, Chone canton, and Manabí province.

The study was divided in two stages, first 430 animal blood sera previously collected in another study to determine the prevalence of Infectious Bovine Rinotracheitis (IBR), were processed and analyzed at Agrocalidad laboratories and were analyzed by the ELISA Total Ab Test (IDEXX), and distributed in the following categories: breed, sex, age and animals infected with both diseases IBR and BVD; we found 8.83% seropositive cattle. For the second sampling, were used only negative and suspects sera for the first test, representing 249 sampled cattle distributed in the same categories listed above, and identifying 14.85% of seropositive cattle. The age range with the highest prevalence found was cattle older than 8 years in both sampling; however, no significant difference was found. Cattle that share IBR and BVD at first sampling was found in 2.50%, and second 6,02%, the increase in these numbers could be associated with a mixed infection, and the immune status of cattle to be presented IBR being concomitant with the second infection. In conclusion, the results provide important information of the condition of the BVD, being a starting basis for further research in this area.

Keywords: BVD, IBR, ELISA, Canuto, prevalence.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Objetivo General	3
1.3 Objetivos específicos	3
CAPÍTULO II	4
MARCO TEÓRICO	4
2.1 Historia	4
2.2 Etiología y Taxonomía	5
2.2.1 Genotipos y Biotipos	6
2.3 Características del virus	8
2.3.1 Replicación viral	8
2.3.2 Resistencia a los agentes físicos y químicos	9
2.4 Epidemiología	9
2.4.1 Situación a nivel mundial	9
2.4.2 Situación a nivel Latinoamericano	10
2.4.2.1 Perú	11
2.4.2.2 Colombia	11
2.4.2.3 Chile	12
2.4.2.4 Argentina	12
2.4.2.5 Venezuela	13
2.4.2.6 Honduras	13
2.4.3 Situación en el Ecuador	13
2.5 Patogénesis	15
2.5.1 Hospedador	16
2.5.2 Fuente de infección	17

2.5.3 Modos de transmisión	17
2.5.3.1 Transmisión vertical	17
2.5.3.2 Transmisión horizontal	18
2.5.3.3 Transmisión entre hatos	20
2.5.3.4 Transmisión dentro del hato	20
2.6 Signos clínicos	21
2.6.1 Infección subclínica	21
2.6.2 Fase aguda	21
2.6.2.1 Complejo diarrea neonatal bovina	22
2.6.2.2 Infección aguda severa	23
2.6.2.3 Síndrome hemorrágico	23
2.6.2.4 Enfermedades respiratorias	24
2.6.2.5 Infección venérea	24
2.6.2.6 Trastornos reproductivos	25
2.6.3 Infección persistente	26
2.6.4 Enfermedad de las mucosas (EM)	27
2.6.5 Diarrea Viral Bovina crónica	27
2.7 Diagnóstico	28
2.7.1 Diagnóstico clínico	28
2.7.2 Diagnóstico de laboratorio	28
2.7.2.1 Aislamiento viral	29
2.7.2.2 Detección de antígenos mediante ELISA	30
2.7.2.3 Detección de antígenos mediante Inmunohistoquímica	30
2.7.2.4 Detección del ácido nucleico viral	31
2.7.2.5 Neutralización Viral (VN)	31
2.7.2.6 Detección de anticuerpos mediante ELISA	32
2.7.3 Diagnóstico Diferencial	32
2.8 Tratamiento	33
2.9 Prevención y control	33

2.9.1 Vacunación	35
2.9.1.1 Vacuna a virus vivo modificado	36
2.9.1.2 Vacuna a virus muerto	37
CAPÍTULO III	38
MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1 Descripción del lugar de estudio	38
3.2 Diseño del estudio	41
3.3 Población de estudio	42
3.3.1 Población de estudio IBR	42
3.3.2 Población de estudio DVB	44
3.4 Materiales	46
3.5 Métodos	49
3.5.1 Encuesta	49
3.5.2 Muestreo	49
3.5.3 Análisis de Laboratorio	51
3.5.3.1 Fundamento del test	52
3.5.3.2 Descripción del kit	53
3.5.3.3 Protocolo del test	53
3.5.3.4 Lectura de resultados	55
3.5.3.4.1 Interpretación de resultados	55
3.5.4 Análisis estadístico de	
Resultados	56
3.5.4.1 Análisis de factores de riesgo	57
CAPÍTULO IV	58
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
4.1 Resultado del análisis de laboratorio	58
4.1.1 Resultados obtenidos por raza	63

4.1.2 Resultados por sexo al análisis de DVB	64
4.1.3 Resultados obtenidos por edad para el Diagnóstico de DVB	66
4.1.4 Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al primer muestreo	69
4.1.5 Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al segundo muestreo	70
4.2 Resultado de la encuesta	71
4.2.1 Propósito y tipo de explotación	71
4.2.2 Conocimiento de la DVB	73
4.2.3 Manejo de animales	73
4.3 Factores de riesgo	77
CAPÍTULO V	80
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	80
5.1 Conclusiones	81
5.2 Recomendaciones	82
REFERENCIAS	82
ANEXOS	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Información básica de las haciendas en estudio	40
Tabla 2. Distribución de los animales estudiados por razas	43
Tabla 3. Distribución por sexo de los animales estudiados	44
Tabla 4. Número de bovinos muestreados	44
Tabla 5. Distribución por sexo de animales muestreados	45
Tabla 6. Distribución por razas de los animales del estudio	45
Tabla 7. Materiales de campo	47
Tabla 8. Materiales de Laboratorio	48
Tabla 9. Reactivos	48
Tabla 10. Protocolo del test	54
Tabla 11. Resultados del diagnóstico de DVB de los dos muestreos realizados, utilizando el test de ELISA	62
Tabla 12. Valores calculados para el primero y segundo muestreo	62
Tabla 13. Resultados obtenidos por raza para el diagnóstico de DVB	64
Tabla 14. Resultados obtenidos por sexo para el diagnóstico de DVB	66
Tabla 15. Distribución por categorías de edad de los resultados del análisis de DVB	68
Tabla 16. Resultados de las medidas de tendencia central calculados a la variable edad	69
Tabla 17. Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al primer muestreo, utilizando un ELISA	70
Tabla 18. Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al segundo muestreo utilizando un ELISA	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del virus de la DVB	5
Figura 2. Notificación a nivel mundial del virus de la DVB durante el primer semestre del 2012	10
Figura 3. Hospedadores del virus de la DVB	16
Figura 4. Ubicación geográfica de la provincia de Manabí, cantón Chone, parroquia Canuto	38
Figura 5. Distribución geográfica de las haciendas en estudio	39

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Registro de bovinos	94
Anexo 2. Registro de fincas	95
Anexo 3. Encuesta	96
Anexo 4. Fotos	99

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La Diarrea Viral Bovina (DVB) es una enfermedad infecto-contagiosa, con amplia distribución mundial, y que limita la eficiencia productiva debido a la persistencia del virus en la naturaleza. En el Ecuador, la DVB es endémica en algunos hatos bovinos lecheros y cárnicos, causando grandes pérdidas económicas debido a su presentación clínica con trastornos reproductivos y muerte embrionaria; entre otros. Además de la presentación de animales persistentemente infectados, los cuales resultan estériles o diseminan la enfermedad (Baker, 1990, pp. 25 - 41).

La presencia de DVB causa grandes pérdidas económicas a nivel ganadero, reduciendo sus procesos productivos y reproductivos, por lo cual con el desarrollo de este trabajo se puede obtener información acerca del manejo, estado sanitario del hato para así poder determinar factores de riesgo asociados a esta enfermedad vírica (Machado, García y Silveira, 2010, pp. 1695 - 7504).

Entre las distintas actividades económicas que posee el Ecuador se encuentra la ganadería con una población estimada de 4´486.020 bovinos, siendo Manabí la principal Provincia del litoral que ha desarrollado esta actividad, con un total de 783.592 cabezas, en donde el cantón Chone es el que abarca la mayor población bovina (INEC, 2000). La actividad ganadera del cantón Chone tiene como propósito la producción cárnica y lechera, encontrándose esta última en mayor nivel; debido a estas importantes actividades productivas desarrolladas en este cantón, es necesario realizar una adecuada determinación, seguimiento y control de las enfermedades víricas respiratorias, entéricas y

reproductivas que pudiesen presentarse en la zona (Martínez y Riveira, 2008, p.8).

Económicamente la DVB es una de las enfermedades más costosas a nivel mundial, ya que se estima que puede producir pérdidas que pueden ir de 10 a 88 dólares por cabeza en ganado cárnico y lechero, por lo cual es necesaria una rápida detección de los animales persistentemente infectados mediante el uso de pruebas diagnósticas sensibles y específicas (Larson, Pierce, Grotelueschen y Wittum, 2002, pp. 106 – 112).

Según estudios realizados en Canadá, en los que se ha evaluado las pérdidas económicas causadas por la DVB tomando en cuenta factores como población en riesgo, sistema y tipo de producción, incidencia y prevalencia anual de la enfermedad, así como el efecto real de la enfermedad sobre la producción, entre otros, se obtuvo como resultado que en un hato promedio de 50 vacas lecheras y el costo anual por efecto de la DVB fue de 1847 \$USD, y un cambio en la producción de leche de 0% a 5%, lo cual hace que se incremente el costo de la enfermedad en un 266% (Cajal y Álvarez, 2012, pp. 4 - 8).

Debido a que en el cantón Chone, una de las principales actividades comerciales es la ganadería, es necesario hacer un seguimiento de las enfermedades víricas que afectan a los hatos productivos (INEC, 2000). En este caso se realizará el seguimiento de la DVB determinando inicialmente la prevalencia para luego determinar su incidencia y de esta manera contar con información y datos de esta zona, para que una vez obtenida esta información los ganaderos puedan implantar medidas de control de la enfermedad.

En vista de la existencia de un estudio previo realizado por (De la Torre, 2012, pp. 10 – 12) que abarca la temática de la prevalencia de la enfermedad IBR, realizado en la misma zona en la cual se pretende llevar a cabo la presente investigación; se procederá a establecer la correlación existente entre estas

dos enfermedades como son IBR y DVB, ya que se encuentran relacionadas entre sí, debido a que presentan signos clínicos parecidos y ocasionan altas pérdidas económicas especialmente en el ámbito reproductivo (Martínez y Riveira, 2008, p. 9).

El tipo de estudio que se realizará en esta investigación es primariamente un estudio transversal ya que se determinará la prevalencia de la DVB, a través de muestras previamente extraídas de la población, sin tomar en cuenta la exposición a un determinado factor y si hay o no la presencia de la enfermedad. Posteriormente se realizará un estudio de cohorte longitudinal para detectar la incidencia de la DVB, el cual consiste en el seguimiento de los animales seronegativos a través del tiempo para ver si estos llegan a adquirir la enfermedad, a estos animales se los considera que están expuestos al virus.

1.2 Objetivo General

Determinar la prevalencia e incidencia de la Diarrea Viral Bovina (DVB) en seis hatos ganaderos de la parroquia Canuto, cantón Chone, provincia de Manabí.

1.3 Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de DVB a través de la aplicación de ELISA en análisis de las muestras obtenidas en seis hatos de la parroquia Canuto, cantón Chone, provincia de Manabí.
- Calcular la incidencia semestral de DVB en seis hatos de la parroquia Canuto, cantón Chone, provincia de Manabí.
- Identificar factores de riesgo que predisponen la presentación y mantenimiento de la DVB en los seis hatos ganaderos de la parroquia Canuto.
- Difundir resultados de este estudio a través de la presentación de charlas a los ganaderos y la publicación de esta investigación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Historia

Los primeros indicios de la enfermedad se presentaron en Estados Unidos de América en el año de 1946 con la presentación de casos clínicos de alta mortalidad y baja morbilidad en bovinos en el estado de New York (Fenner et al., 1992, p. 145).

En este mismo año se descubrió que la DVB es una enfermedad que se transmite al ganado, con presencia de signos como fiebre, anorexia, siendo el más relevante la diarrea; de aquí proviene el nombre de Diarrea Viral Bovina (Obando y Rodríguez, 2005, p. 320).

Posteriormente se siguió investigando a la enfermedad, y se encontró animales con signos más pronunciados de diarrea, emaciación y lesiones ulcerativas en el tracto digestivo que provocaban una mortalidad del 100% en los animales infectados, a esta enfermedad se la denominó enfermedad de las mucosas, para lo cual se descubrió que eran manifestaciones diferentes causadas por el mismo virus de la DVB (Vargas, Jaime y Vera, 2009, p. 679).

Después se descubrió que la enfermedad de las mucosas ocurre solamente en individuos persistentemente infectados (PI) con este virus y que estos individuos resultan de una infección transplacentaria antes de que puedan responder inmunológicamente frente al virus (Obando y Rodríguez, 2005, p. 318).

Para los años 70 y 80 se perdió el interés de estudiar a esta enfermedad, retomándolo a finales de los años 80 en los que se descubrieron algunas formas de presentación de esta enfermedad, las cuales causaban

inmunodepresión en el hospedador y efectos fatales a nivel de producción y reproducción en el hato. Actualmente a esta enfermedad se la considera como una de las principales enfermedades de importancia económica a nivel mundial (Martínez y Riveira, 2008, p. 12).

En el Ecuador, la DVB causa grandes pérdidas económicas debido a su presentación clínica con trastornos reproductivos y muertes neonatales entre las más importantes (Lértora, 2003, p. 40). Sin embargo, ha sido poco estudiada y no se cuenta con información de la situación real de la enfermedad.

2.2 Etiología y Taxonomía

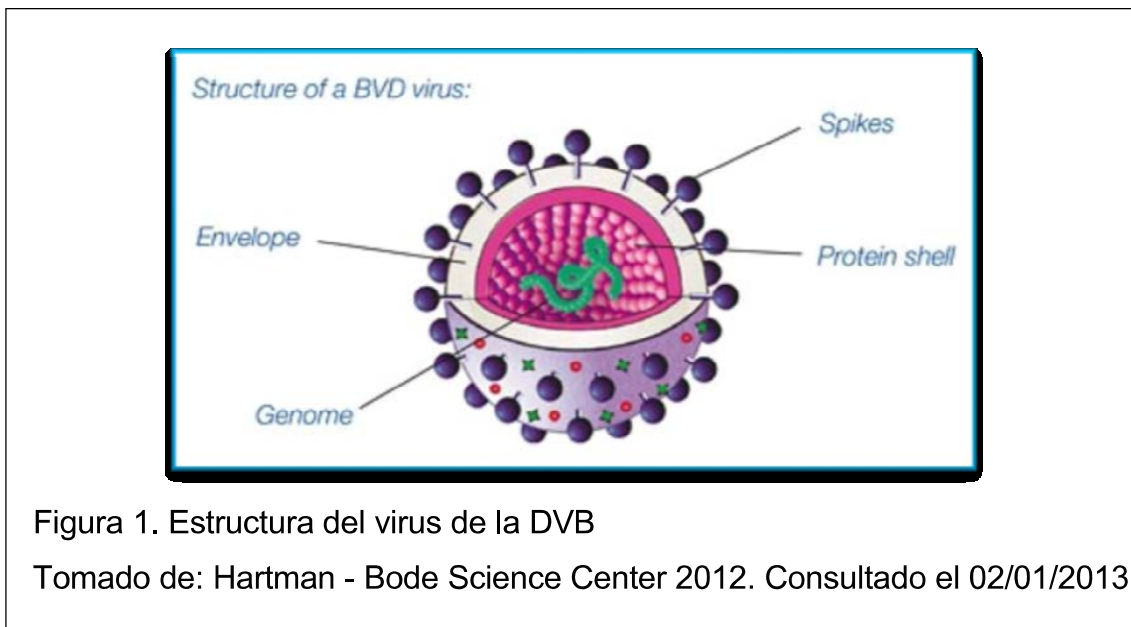


Figura 1. Estructura del virus de la DVB

Tomado de: Hartman - Bode Science Center 2012. Consultado el 02/01/2013

El virus de la DVB es un ARN virus perteneciente a la familia Flaviviridae, del género *Pestivirus*, originalmente se lo ubicó dentro de la familia Togaviridae, más tarde debido a sus características moleculares se reclasificó (Rebhun, 1995, pp.255 - 259). Es un virus de genoma ARN de cadena simple y polaridad positiva (9000 a 12500 nucleótidos), está rodeado por una nucleocápside de envoltura proteica rodeado por proyecciones pleomórficas o esféricas con un diámetro entre 40 – 60 nm; presenta una envoltura lipídica que deriva de la membrana de las células que infecta (Nettleton y Entrican, 1995, pp. 615 – 620).

Está relacionado antigénica y genéticamente con el virus de la enfermedad de las fronteras de los ovinos y en un menor grado con el virus de la peste porcina clásica. El virus puede infectar también a artrópodos y vertebrados entre los cuales se observa de manera subclínica ovinos, caprinos, cerdos y otros rumiantes (Giraud, 2000, pp. 3 - 7).

2.2.1 Genotipos y Biotipos

Los biotipos se refieren a diferencias fenotípicas, mientras que los genotipos indican las diferencias en el genoma. Al virus de DVB se lo divide en genotipos: virus DVB tipo 1 y virus DVB tipo 2. En un inicio los genotipos fueron reconocidos como especies distintas ya que la clasificación se realizaba en función de la similitud en la secuencia de la región 5'UTR, actualmente se basa en las diferencias que presentan en distintas partes del genoma (Ridpath, Bendfeldt, Neill y Liebler-Tenorio, 2006, pp. 62 - 65).

El virus DVB tipo 1 es responsable de procesos leves con sintomatología inaparente, caracterizados por un ligero aumento de la temperatura corporal y la presencia de lesiones moderadas restringidas al aparato digestivo y a órganos del sistema linfoide; en vacas gestantes este genotipo puede inducir abortos y patologías reproductivas. Al virus DVB tipo 2 se lo asocia con enfermedades agudas severas caracterizadas por presentar un cuadro hemorrágico agudo, conocido como síndrome hemorrágico, que es fatal para los animales. No se ha establecido una diferencia en la virulencia y en los mecanismos patogénicos de ambas especies (Walz, Bell, Wells y Grooms, 2001, pp. 103).

Debido a la falta de diferencias antigénicas no se ha podido establecer la serotipificación del virus DVB (Paton, 1995, pp. 217). Genéticamente se han tipificado a los aislados del virus DVB tipo 1 y 2 en subgrupos o subgenotipos, dando lugar a 11 subgenotipos para el virus DVB tipo 1

(1a,1b,1c,1d,1e,1f,1g,1h,1i,1j,1k) y 2 para el virus DVB tipo 2 (1a,1b) (Pedrera et al., 2007, p. 8).

Según el efecto sobre los cultivos celulares se ha tipificado dos biotipos del virus, citopático (CP) y no citopático (NCP) (Deregt y Loewen, 1995, pp. 371 – 377). El biotipo NCP es responsable de la infección 90% de los bovinos, así como también es uno de los causantes de las alteraciones reproductivas, y pertenece al grupo de virus que actúan en el complejo respiratorio bovino (Bracamonte, Obando y Rodríguez, 2005, pp. 317 – 321).

Los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada se observa normal. El biotipo CP es el que se encuentra mayormente en la ambiente, este puede originar infección persistente, este biotipo se origina por mutación del NCP por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral y es aislado en animales con enfermedad mucosa (Schweizer y Peterhans, 2001, pp 4692 - 4698). Los virus NCP infectan células linfocitarias, los CP tienen predilección por células epiteliales (Dubovi, 1986, p. 18).

El biotipo CP es aislado únicamente en animales con enfermedad de las mucosas, provocan efecto citopático sobre cultivos de células epiteliales bovinas, lo que se traduce en vacuolización citoplasmática y muerte celular. El biotipo NCP ante los cultivos celulares muestra que se replica pero no presenta cambios morfológicos evidentes. Actualmente se ha sugerido la existencia de un tercer biotipo linfocitopático que no causa muerte celular en cultivos de células epiteliales pero sí en cultivos de células linfoides (Ridpath et al., 2006, pp. 62 - 65).

El biotipo NCP es el único con capacidad de atravesar la placenta e infectar al feto, pudiendo dar lugar al nacimiento de animales persistentemente infectados, los cuales juegan un papel crucial en la epidemiología de la enfermedad. El biotipo CP en cambio, es incapaz de establecer infecciones

persistentes. Sin embargo, cuando infecta a individuos que han sufrido una infección intrauterina previa por una cepa NCP antigénicamente homóloga, puede dar lugar al desarrollo de una forma fatal de la DVB conocida como enfermedad de las mucosas (Pedrera et al., 2007, pp. 10 - 15).

2.3 Características del virus

El virus posee variabilidad genética y antigénica al no existir una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas durante la replicación, por lo que dan lugar a un amplio espectro de manifestaciones clínicas y lesiones, que dificultan el diagnóstico de la enfermedad y limitan la protección de las vacunas monovalentes (Paton, 1995, pp. 215 - 236); el virus DVB usa esta estrategia para sobrevivir, utilizando cepas mutantes que huyen de la respuesta inmunológica del hospedador. El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente; el virus aislado en ovejas y cerdos tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados en bovinos (Valera, 2007, pp. 449 - 451).

Los períodos largos de replicación en animales persistentemente infectados (PI), dan lugar a la mutación mediante la variabilidad; a estos se los considera animales reservorio, mientras los animales que sufren una infección aguda pueden generar nuevas variantes antigénicas (Lértora, 2003, pp. 40 – 48).

2.3.1 Replicación viral

Este virus presenta tropismo por células mitóticamente activas como células epiteliales, fagocitos, linfocitos. Al existir una adhesión y penetración en la célula hospedadora se puede dar origen a la replicación. El virus ingresa por endocitosis gracias a la glicoproteína de superficie, se desnuda la nucleocápside y se libera el genoma en el citosol. En el ribosoma se produce la traducción de RNA viral a una poliproteína. Los viriones adquieren su envoltura lipídica gracias al ensamblaje que se da en el retículo endoplasmático y en el

aparato de Golgi. Se produce una exocitosis por lo que los viriones alcanzan el medio extracelular y las células infectadas liberan de 100 a 1000 viriones (Valera, 2007, pp. 447 - 449).

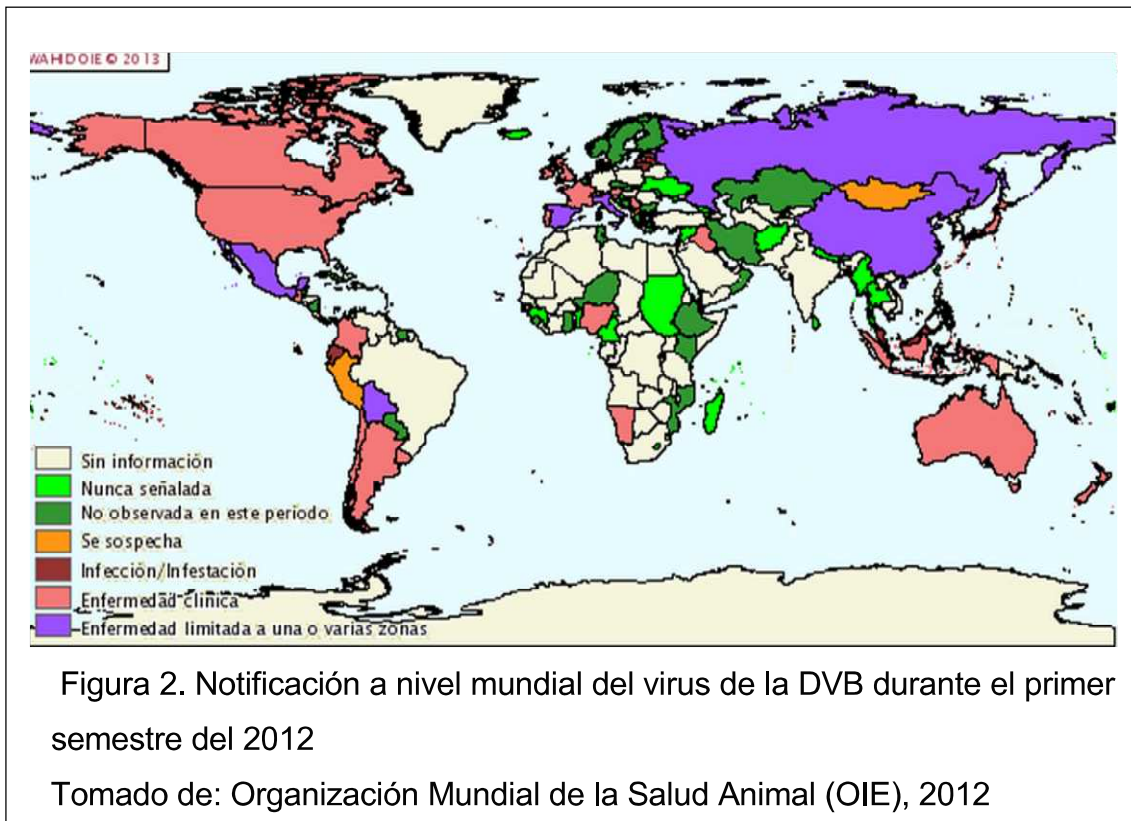
2.3.2 Resistencia a los agentes físicos y químicos

Este virus contiene en su estructura lipoproteínas, razón por la cual su supervivencia depende de muchos factores entre los cuales puede ser sensible a ciertos disolventes como éter y cloroformo, detergentes como Nonidet P-40, desoxicolato y saponina; además se lo puede inactivar mediante el tratamiento con tripsina. Presenta sensibilidad al exponerlo a radiaciones ultravioletas y temperaturas de 60° C durante 10 minutos, el virus es estable en pH de 5,7 y 9.3, un pH extremo de 3 y 11 lo destruiría (Biberstein y Chung, 2007, pp. 559 - 560).

2.4 Epidemiología

2.4.1 Situación a nivel mundial

La DVB es una enfermedad de distribución mundial, es endémica en la mayoría de poblaciones bovinas, en encuestas realizadas en distintos países a nivel mundial se obtuvo como resultado que esta enfermedad alcanza niveles de 0.5 a 2% de bovinos persistentemente infectados y del 60 a 80% de bovinos seropositivos (Lértora, 2003, p. 43).



2.4.2 Situación a nivel Latinoamericano

La incidencia de la DVB es escasamente registrada en América del Sur, según un estudio realizado en 1990 sobre incidencia, epidemiología y control de la DVB en América del Sur, se habla de que las investigaciones en América del Sur han sido esporádicas y referentes a encuestas serológicas localizadas o a brotes anormales de diarrea en ganado joven (Rweyemamu et al., 1990, pp. 215 – 221)

En el mismo estudio los anuarios de Sanidad Animal, FAO, OMS Y OIE en los años de 1985 a 1987 citan a la DVB como una enfermedad esporádica, siendo Argentina y Brasil los primeros países que reportaron casos en el año de 1960 y encuestas serológicas determinaron la presencia del virus en Chile, Colombia, Perú, Brasil, Uruguay y Argentina con una incidencia del 37 y 77 % del ganado en las áreas encuestadas (Rweyemamu et al., 1990, pp. 215 – 221).

2.4.2.1 Perú

La introducción del virus de la DVB al Perú fue al parecer en la década de 1960 – 1970, ya que se importaron bovinos en Lima y en el valle del Mantaro, después se empezó a observar que hijos de vacas importadas empezaron a presentar cuadros de diarrea severa, se realizó estudios anatomopatológicos y análisis serológicos que confirmaron la presencia de DVB (Rivera, 1993, p. 9).

Un estudio realizado en el Valle de Lima, en 12 hatos lecheros, de los cuales se tomó 311 muestras; se demostró la presencia de anticuerpos contra el virus de la DVB en el 56% de la población bovina, esto indica la exposición en alguna etapa al virus, se concluyó que la infección fue de tipo subclínica pero que tuvo gran impacto en la producción por problemas reproductivos que causó, además la mayoría de la población bovina infectada fue mayor de dos años de edad, esto puede ser debido a que tuvieron mayor oportunidad de infección (Aguilar, Benito y Rivera, 2006, pp. 148 – 153).

Otro estudio realizado en Perú fue en Arequipa, en el que de igual manera se demostró una alta presencia de anticuerpos contra el virus de la DBV, también se encontró animales PI, esto debido a la cercanía con que se les mantiene a animales de un potrero con otro, además de la introducción de animales nuevos sin realizarles los respectivos exámenes de laboratorio y debido a la falta de conocimiento de la enfermedad (Huamán, Rivera, Arainga, Gavidia y Manchego, 2007, pp. 141 – 149).

2.4.2.2 Colombia

En Colombia, un estudio realizado en los departamentos de Córdoba y Sucre, durante los años 1980 – 1984, demostró la presencia del virus de la DVB, ya que de 2234 muestras de suero se obtuvo una prevalencia del 5.6%, en este estudio también se demostró que no existen diferencias entre ganado lechero y cárnico para la circulación de este virus, y además se dice que los índices de

prevalencia aumentan según aumenta la edad de los animales (Otte, Navarrete y Orjuela, 1984, p. 384).

Otro estudio realizado en Colombia, en el Municipio de Montería, demuestra de igual manera la presencia del virus, se analizaron 170 sueros, dando como resultado una prevalencia del 29.4% de animales seropositivos, esta seropositividad se le atribuye a la monta directa que se practica en los hatos, ya que la mayoría de animales seropositivos son machos (Betancur, Gogorza y Martínez, 2007, pp. 11 – 15).

2.4.2.3 Chile

En Chile se sospechó por primera vez de la existencia del virus de la DVB en 1983, por medio de hallazgos anatomopatológicos en terneros, que hacían sospechar que existía la enfermedad en terneros (Fidler et al., 1986, pp. 151 - 155), el virus se logró aislar en 1985, cuando hubo un brote de la enfermedad de las mucosas (Reinhardt et al., 1986, pp. 157 - 161).

En un estudio realizado en Chile, en el que se pretendía poner en evidencia al virus de la DVB en bovinos clínicamente infectados, de 33 muestras de diferentes tejidos, obtenidas de animales que cursaban cuadros clínicos sospechosos de DVB, se encontró que 23 de ellas resultaron seropositivas, es decir había la presencia del virus, de estos virus aislados todos fueron del biotipo NCP, se concluye con la alta posibilidad de que el virus de la DVB participe en problemas reproductivos (Celedón, Roco, Quinteros, Santibañez y Berríos, 1997, pp. 190 – 195).

2.4.2.4 Argentina

En Argentina los datos de seroprevalencia son variables, según Kobrak y Weber (1997, pp. 151 - 153), informan que la situación en Argentina es similar al resto del mundo, con una seroprevalencia del 70%, y de bovinos PI del 1%.

Según un estudio realizado en Argentina en el que se analizó la seroprevalencia de la DVB, *Herpesvirus* bovino y Virus Sincitial Respiratorio bovino, realizado en 2936 sueros de 11 distritos de la provincia de Buenos Aires, 2184 sueros de 7 distritos de la provincia de Corrientes y 1290 de 9 distritos de los llanos de la Rioja, se determinó que existe una alta prevalencia de la DVB, se reportan prevalencias del 40 al 90% en bovinos adultos y en bovinos menores a 12 meses, esto debido a la amplia distribución del virus en estas regiones, y a la exposición temprana al virus en el caso de los bovinos menores a 12 meses de edad (Odeón et al., 2001, pp. 216 – 220).

2.4.2.5 Venezuela

En Venezuela, estudios serológicos señalan la presencia del virus de la DVB desde la década de los 70. En el estado de Carabobo en 1987 se sospechó de la existencia del virus de la DVB, y en año de 1999, se realizaron estudios serológicos, mostrando una amplia difusión del virus (Bracamonte, Obando y Plaza, 2006, p.19).

2.4.2.6 Honduras

En un estudio realizado en honduras se demostró la presencia de anticuerpos contra la DVB, con lo que se concluyó que los animales responden satisfactoriamente a la presencia del virus, ya que han desarrollado anticuerpos, el objeto de estudio fueron 10 explotaciones ganaderas, en donde se obtuvo como prevalencia un 17% (Sobalvarro, 2003, pp. 1 – 13).

2.4.3 Situación en el Ecuador

En el Ecuador son pocos los estudios realizados y publicados sobre esta enfermedad, sin embargo los escasos estudios que existen, han contribuido de una manera importante con datos acerca de la prevalencia en algunas zonas del país. Según la OIE (2012) en el Ecuador continental, hay casos de infección

pero sin manifestaciones clínicas, siendo la provincia de Pichincha la que más casos reportó en los últimos años.

En la provincia de Loja, se realizó un estudio acerca de la seroprevalencia de DVB e IBR, en el que se muestreó 734 animales distribuidos en 16 cantones de dicha provincia, de los cuáles 118 animales dieron positivos a la prueba de ELISA indirecto dando como resultado una prevalencia del 16.06%, con lo cual se demostró la presencia de la enfermedad en esta provincia, en el estudio realizado también se menciona que en la provincia de Loja el 100% de ganaderos no vacunan contra el virus de la DVB e IBR y que los principales factores de riesgo para que haya la circulación del virus son: la movilización de animales de un hato a otro, la falta de registros por parte de los ganaderos, provocando que disminuya el control zootécnico y sanitario del hato, haciendo posible que ingresen virus como el de la DVB, se observa que existen animales que resultaron seropositivos a los dos virus, es decir comparten la infección con los dos virus, y se concluyó que la edad no es un factor predisponente para la presencia del virus, pero los sistemas de explotación extensivos si ya que los animales pastan en grandes extensiones diseminando así fácilmente el virus (Jara, 2007, pp. 30 – 41).

En un estudio realizado en hatos lecheros conformados por ganado lechero y doble propósito de las provincias de Azuay, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, se demuestra la presencia de la enfermedad en estas provincias, ya que se recolectaron 2367 de suero sanguíneo y se las analizó obteniendo una prevalencia del 32% (Saa et al., 2008, pp. 645 – 650).

Recientemente en las Islas Santa Cruz y San Cristóbal del Archipiélago de Galápagos, se realizó el primer estudio con la finalidad de determinar la presencia de la DVB en las islas, en el que se muestrearon 384 animales, de los cuales se obtuvo como resultado que 35 muestras fueron seropositivas y 3 sospechosas dando como resultado una prevalencia del 9.12%, concluyendo

que existe la presencia de anticuerpos en circulación al análisis de laboratorio, es decir son animales que tuvieron contacto con el virus haciendo que se estimule la producción de anticuerpos, no se puede afirmar la presencia de la enfermedad ya que para esto se necesita realizar una prueba que detecte antígenos, también se menciona que los posibles factores de riesgo para que haya ingresado en algún momento el virus serían: la falta de conocimiento acerca de enfermedades infecciosas como la DVB por parte de los ganaderos, el deficiente control que existe en el transporte de animales, la falta de registros y las malas prácticas reproductivas (Cabezas, 2012, pp. 43 – 81).

2.5 Patogénesis

La patogénesis de cualquier enfermedad pone en manifiesto el balance que existe entre la capacidad del hospedador para resistir una invasión microbiana y la capacidad del microbio para establecerse en el organismo, reproducirse y llegar a provocar una lesión (Brownlie, Thompson y Curwen, 2000, p. 176).

Los *Pestivirus* son considerados como uno de los agentes virales más exitosos de la naturaleza, ya que tienen especial habilidad para difundirse rápidamente, llegar a causar la enfermedad y persistir en una población sin ser descubiertos (Sandvick, 2004, pp. 151 - 169).

El virus de la DVB es uno de los principales virus que atacan a los bovinos, produciendo una de las enfermedades víricas del ganado más importantes, y los signos clínicos pueden presentarse inaparentes o pueden originar un amplio rango de manifestaciones clínicas dependiendo de factores como el huésped, la cepa viral y la condición ambiental (Brownlie et al., 2000, pp. 178 – 180; Bolin y Ridpath, 1992, pp. 2157).

Los *Pestivirus* penetran por ingestión, inhalación, piel o semen y se replican en amígdalas, provocando una infección oral o nasal, también pueden replicarse en los ganglios linfáticos regionales como son la vagina o la piel. Tras una fase

de replicación el virus pasa a la sangre produciendo viremia, consecuentemente el virus llega a localizarse en los órganos blanco que son el bazo, ganglios, riñón, pulmón y médula ósea, produciéndose aquí nuevas replications víricas y lesiones características (Valera, 2007, p. 447).

Estos virus son capaces de atravesar la placenta y de infectar al feto, la etapa de gestación en la que el feto se infecta determinará el futuro del feto, pudiendo provocar abortos, muerte perinatal, malformaciones fetales o a su vez pueden nacer animales de apariencia normal, estos pueden ser infectados al final de la etapa de gestación desarrollando una respuesta inmune efectiva contra el virus infectante (Valera, 2007, p. 447).

2.5.1 Hospedador

Los *Pestivirus* Infectan solo a ungulados del orden Artiodáctila, en este orden se encuentran los porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos y rumiantes salvajes; siendo su huésped preferido los bovinos (Valera, 2007, p.447; Rebhun, 1995, pp.225 – 267).

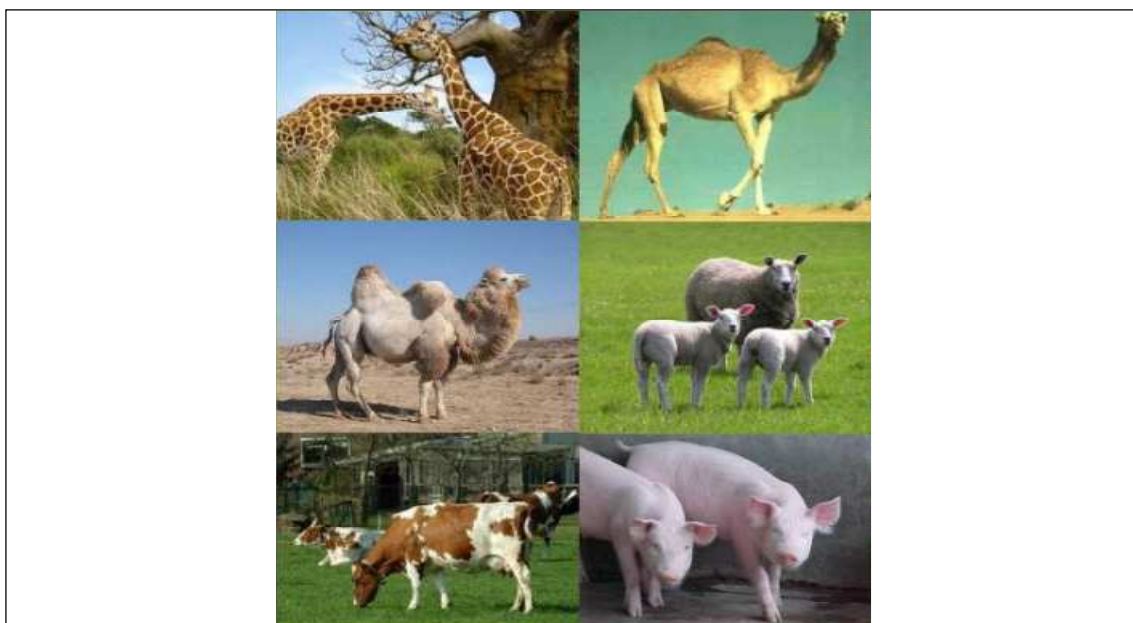


Figura 3. Hospedadores del virus de la DVB

Tomado de: Orden Artiodáctila, 2013. Acceso: 01/04/2013

2.5.2 Fuente de infección

La principal fuente de infección son los bovinos persistentemente infectados (PI), estos animales son los que se infectan 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 (Lértora, 2003, p. 43). Estos animales eliminan el virus en cantidades altas y continuamente durante toda su vida el virus, mediante secreción nasal, saliva, materia fecal, orina, lágrimas, semen y leche; por otra parte los animales con infección aguda también son una fuente importante de eliminación del virus aunque en menor cantidad y por cortos períodos de tiempo (Houe, 1995, p. 523).

2.5.3 Modos de transmisión

Esta enfermedad se puede transmitir de manera vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto.

2.5.3.1 Transmisión vertical

Es una infección transplacentaria que ocurre en hembras susceptibles que se infectan durante la etapa de gestación, y transmiten el virus de una generación a otra; en muchos casos la madre gestante se ha infectado por medio de una transmisión horizontal. Los animales recién nacidos que no hayan recibido leche materna y resulten con importantes concentraciones de inmunoglobulinas son indicativos de estímulo antigénico intrauterino (Bracamonte, Obando y Plaza, 2006, p. 19).

Si el feto es infectado por el biotipo NCP antes del día 125 de gestación aproximadamente, es decir antes de adquirir competencia inmunológica, este se convertirá en un animal persistentemente infectado, de estos animales por lo general un 50% mueren en el primer año de vida y los que no mueren alcanzan

su madurez sexual y se reproducen (Obando y Rodríguez, 2005, p. 318). Las hembras bovinas que se llegan a reproducir siempre darán lugar a terneros persistentemente infectados (Baker, 1987, pp. 1449 – 1451).

Esta transmisión también se puede dar luego de la transferencia embrionaria, si el donante o el que recibe es un animal persistentemente infectado y no se lava correctamente al embrión (Rondón, 2006, pp. 694 - 696; Houe, 2003, pp.137 – 143).

2.5.3.2 Transmisión horizontal

La transmisión horizontal puede ser directa o indirecta, la forma más importante de transmisión en condiciones naturales es el contacto directo de animales susceptibles con animales persistentemente infectados, siendo la más eficiente el contacto directo nariz – nariz (Houe, 1995, p. 545), la transmisión de forma indirecta se da por fómites o alimentos contaminados con secreciones, orina, heces, fetos abortados y placentas, siendo uno de los principales medios de transmisión indirecta los visitantes, ya que ellos pueden llevar el virus de un lugar a otro (Gasque, 2008, p. 126).

Por medio de experimentos también se han demostrado otras vías de transmisión indirecta como el uso de agujas, mocheta, palpación rectal y la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI, pero su importancia no está cien por ciento aclarada ya que este virus se inactiva fácilmente por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergentes, solventes orgánicos y pH que baje o sobrepase de 5,7 a 9,3; también existe la posibilidad de contagio mediante el uso de vacunas a virus vivo modificado o vacunas contaminadas (Houe, 1995, p. 547; Tremblay, 1996, p. 860).

Se ha demostrado experimentalmente la transmisión de este virus de bovinos PI a bovinos susceptibles por vía aérea a corta distancia, esta vía de

transmisión no es la principal pero se debe poner especial atención ya que puede tener consecuencias graves si el hato está afectado por cepas de alta virulencia y sobre todo si hay alta densidad animal (Mars, Brusckke y Van Oirschot, 1999, pp. 198 – 207).

Otra importante vía de transmisión horizontal es el semen fresco o criopreservado de toros PI o con infección aguda, para minimizar el contagio por esta vía se debería evitar el uso de estos animales, reconociéndolos mediante el aislamiento viral en sangre, seguido de un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección, sin embargo, realizando esto no se puede asegurar al 100% que el semen este libre del virus ya que este puede escapar al aislamiento viral en sangre y puede superar el tiempo de período de cuarentena y seguir siendo una amenaza (Lértora, 2003, p.44).

El virus se puede eliminar en el semen por un período corto después del último día de viremia y se han detectado toros seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por semen, esta situación por lo general se presenta cuando el animal fue infectado durante la pubertad, en la que se está formando la barrera inmunológica hemato-testicular, lo cual permite al virus que se replique dentro del testículo y que evada la respuesta inmune (Fray, Paton y Lenius, 2000, pp. 618 – 627).

Además la transferencia embrionaria es otro modo de transmisión horizontal, ya que muchas de las células del tracto reproductivo de la hembra permiten la entrada del virus; también los cultivos celulares y el suero fetal bovino que son utilizados en esta práctica pueden estar contaminados, los embriones producidos in vivo, con zona pelúcida intacta, recolectados de vacas natural o artificialmente infectadas, muchas veces no son vectores para la transmisión de la enfermedad si es que se cumple con los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria, sin embargo, esto no garantiza que los embriones estén libres del virus ya que existe la posibilidad de que se desarrollen de

oocitos infectados, aunque no se ha demostrado si estos oocitos infectados pueden desarrollarse hasta la ovulación, las células germinales pueden transmitir el virus de la DVB (Stringfellow y Givens, 2000, p. 632).

Los embriones producidos in vitro son una fuente importante de transmisión del virus de la DVB, ya que la zona pelúcida de estos permiten al virus atravesar hasta un 50% de su espesor debido a alteraciones estructurales y bioquímicas que presentan estos; anulando así los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina; pero aún no se ha demostrado si la cantidad de virus que poseen estos embriones puede llegar a producir la enfermedad en fetos (Stringfellow y Givens, 2000, p. 640).

2.5.3.3 Transmisión entre hatos

La forma más importante de transmitir el virus de la DVB a un hato susceptible es adquiriendo bovinos PI o a su vez adquiriendo hembras que llevan en su vientre fetos PI, el virus también se puede introducir en un hato susceptible por medio del uso de vacunas vivas, semen contaminado, transferencia embrionaria, contacto con bovinos que atraviesan una infección aguda, cuando se encuentran gran cantidad de bovinos en un mismo lugar, y por la falta de categorización de estos (Houe, 1995, p. 540).

2.5.3.4 Transmisión dentro del hato

Todo depende de la forma en que ingresó el virus al hato, cuando ingresa un animal PI al hato, la transmisión a animales susceptibles se da de manera inmediata y rápida y se contagian la mayoría de animales dentro del hato, en cambio cuando la infección se inicia con el ingreso de un animal con infección aguda, la transmisión es de corta duración (Lértora, 2003, p. 44).

Por otra parte el sistema de producción que mantenga el hato y la virulencia de las cepas con las que se infectó el hato, juega un rol importante en la rapidez y

eficacia con que se propague el virus; en un sistema de producción intensivo, en el que los animales tengan un contacto estrecho unos con otros, la diseminación va a ser más eficiente (Houe, 2003, p. 137 – 143).

2.6 Signos clínicos

2.6.1 Infección subclínica

Del 70 al 90 % de los bovinos adultos susceptibles desarrollan la forma subclínica o inaparente; esta forma de infección se refiere al primer contacto que un animal inmunocompetente (es decir que su sistema inmune es capaz de responder mediante la generación de anticuerpos, activando la inmunidad celular); tiene con el virus de la DVB, recuperándose de una forma rápida y completa debido a la aparición e incremento de anticuerpos neutralizantes a los 14 a 28 días post infección, los cuáles, persisten por muchos años y le confieren al animal protección para toda su vida; está infección por lo general pasa desapercibida, sin embargo, si se pone especial atención, los animales pueden presentar ligera fiebre y leucopenia antes del período de incubación que es de 5 a 7 días; los anticuerpos adquiridos por el calostro desaparecen durante los primeros seis meses (Baker, 1987, pp. 1449 – 1458; Potgieter, 1986, 1049 – 1060).

Si una vaca preñada susceptible es infectada por el virus DVB, puede desarrollar la forma subclínica o aguda de la enfermedad, con la posibilidad de que el virus atraviese la placenta e infecte al feto, el efecto que causa el virus en este va a depender del período de gestación en el que se encuentre la madre y del biotipo de virus infectante (Tremblay, 1996, p. 859).

2.6.2 Fase aguda

Es una infección posnatal aguda que se produce en bovinos seronegativos e inmunocompetentes, ocasionando un rango amplio de signos clínicos, influenciados por factores como pueden ser cepa del virus, inmunidad, edad y

estado fisiológico del animal, la mayoría de estas infecciones son ocasionadas por el biotipo NCP, y por lo general se producen en animales jóvenes desde los 6 meses a los 2 años de edad (Valera, 2007, p. 449; Baker, 1990, p. 30).

Clínicamente la enfermedad puede pasar de ser inaparente a provocar signos como estomatitis erosiva aguda, gastroenteritis y diarrea; también este tipo de infecciones pueden causar ovaritis y por ende provocar una infertilidad temporal (Vanroose, Nauwinck, Van Soom, Vanopdenbosch y De Kruif, 1998, pp. 857 – 866).

Los animales infectados pueden estar predispuestos a contraer infecciones secundarias como la enfermedad del transporte, esto debido al efecto inmunosupresor que causa el virus en el hospedador; también los toros pueden excretar el virus por el semen y por ende pueden producir semen de mala calidad (Meyling, Hone y Jensen, 1990, pp. 75 – 93; Paton, 1995, pp. 215 - 221).

Actualmente se conoce que el virus de DVB inmunodeprime al hospedador durante el periodo de infección aguda lo que permite la coacción con otros patógenos para causar enfermedades más severas, como por ejemplo con el virus de IBR, Pasteurella, Rotavirus, Coronavirus o Salmonella (Brownlie et al., 2000, p. 178).

Además la patogenia de estas enfermedades mixtas se debe a la inmunosupresión que se da por consecuencia de la leucopenia transitoria en el animal y por una disfunción de los neutrófilos (Brownlie et al., 2000, p. 180).

2.6.2.1 Complejo diarrea neonatal bovina

Cuando los animales nacen infectados o fracasa la transferencia pasiva de anticuerpos, el virus participa en el complejo diarrea neonatal de los bovinos, aumentando la probabilidad de que el ternero se infecte con otros patógenos como agentes intestinales y respiratorios, debido al efecto inmunosupresor del

virus; provocando una alta mortalidad por presentación de enfermedades entéricas y respiratorias, muchas veces acompañadas por lesiones hemorrágicas y erosivas en la boca (De Verdier Klingenberg, 2000, pp. 717 – 719).

Los anticuerpos que el ternero recibe de su madre por medio del calostro y leche se agotan de los 105 a 230 días de edad, el incremento del título de anticuerpos después de esto se puede deber a una infección natural o a la vacunación (Rivera, 1993, p. 2).

2.6.2.2 Infección aguda severa

Antiguamente se daba poco interés a las infecciones agudas, ya que ocasionaban baja mortalidad; sin embargo, cada vez existen más casos informados de infección aguda severa, causando alta morbilidad y mortalidad en los animales; esto se encuentra asociado a un virus de DVB tipo 1 de alta patogenicidad, que ocasiona fiebre elevada, diarrea, abortos, baja de la producción de leche, signos respiratorios y muerte súbita; en algunos casos esta exposición al virus de alta patogenicidad puede provocar signos clínicos y lesiones parecidas a la forma de la enfermedad de las mucosas (Brownlie et al., 2000, p.180; Drake et al., 1996, p. 208).

2.6.2.3 Síndrome hemorrágico

Es una forma aguda grave de la DVB, descrita por primera vez en el Reino Unido, en el año de 1992 en bovinos de edad adulta, es una forma de infección no muy frecuente pero que causa una alta morbilidad y mortalidad (Bolin y Ridpath, 1992, pp. 2157 – 2163)

Esta infección es causada por cepas NCP del tipo 2 del virus de la DVB, estas cepas son de alta virulencia y pueden afectar a animales de todas las edades, con signos clínicos como: agalaxia, fiebre alta, diarrea líquida sanguinolenta,

hemorragia en múltiples sistemas orgánicos y alteraciones respiratorias fuertes, produciendo la muerte del animal aproximadamente a las 48 horas después del comienzo de la infección, también se puede presentar una elevada leucopenia y trombocitopenia en conjunto con lesiones neumónicas y ulceraciones en la mucosa de la boca (Pernthaner, Schilcher y Baumgartner, 2008, pp. 104 – 107).

2.6.2.4 Enfermedades respiratorias

El virus de la BVD forma parte importante del complejo respiratorio bovino, ya que es un potente agente inmunosupresor, esto quiere decir que origina una inmunodepresión sistémica y pulmonar aumentando la patogenicidad de agentes respiratorios, esto debido a que el virus posee una afinidad por el tejido del sistema inmunológico (Grooms, 1998, pp. 7 – 12).

Además el virus produce atrofia del tejido linfoide, marcada leucopenia, alteración en la función de las células polimorfonucleares, supresión de la producción de interferon y otras disfunciones que favorecen la invasión y sinergismo de otros microorganismos neumotrópicos como *Pasteurella*, Herpes Bovino 1 (IBR), *Mycoplasma*, entre otros, que dan lugar a un proceso respiratorio agudo (Baker, 1987, pp. 1449 – 1458; Larson et al., 2002, pp. 106-112).

2.6.2.5 Infección venérea

El semen del toro infectado durante la etapa fetal o de toros con infección aguda, contiene el virus de la DVB, esto como consecuencia de la replicación viral en la vesícula seminal y glándula prostática (Kirkland, Mackintosh y Moyle, 1994, pp. 527 – 529); este semen infectado posee espermatozoides de baja motilidad y con anomalías morfológicas (Baker, 1987, pp. 1449 - 1458), y además es el medio ideal para transmitir el virus a vacas susceptibles (Bracamonte et al., 2006, p. 20).

El virus afecta la fertilización y no a la concepción, caracterizándose por repeticiones de celo e incrementándose el número de servicios por concepción, este problema puede resultar pasajero y puede llegar a eliminarse cuando la vaca adquiere inmunidad contra el virus (Baker, 1987, pp. 1449 – 1458).

La comercialización de germoplasma y la transferencia de embriones fueron una de las principales fuentes de transmisión del virus de la DVB, actualmente los riesgos han disminuido bastante siempre y cuando el germoplasma provenga de industrias que manejen un adecuado control sanitario (Rivera, 1993, p. 3).

2.6.2.6 Trastornos reproductivos

Los trastornos reproductivos que origina el virus de la DVB ocasionan el mayor impacto económico en la población (Dubovi, 1994, pp. 503 – 514). El efecto que el virus puede causar en el feto dependerá del período gestacional en el que la vaca se encuentre y del biotipo de virus infectante, pudiendo así alterar la función ovárica y reducir la fertilidad (Shimizu et al., 1989, pp. 13 – 21).

El impacto que causa el virus de la DVB durante la preñez está dividido en períodos, que se basan en las manifestaciones clínicas que produce la infección en cada período:

Etapa embrionaria: (0 – 45 días), las infecciones de hembras susceptibles en la ocasionan muerte embrionaria y repeticiones de servicio hasta que desarrollen respuesta inmune, el virus no tiene efecto sobre el embrión hasta el día 8 o 9, en este momento pierde la zona pelúcida y se vuelve susceptible (Lértora, 2003, p. 42).

Primera etapa: del día 45 al día 125 de gestación, es el período en el que finaliza la etapa embrionaria y el feto adquiere competencia inmunológica frente al virus de la DVB, si el feto se infecta antes de adquirir la competencia

inmunológica con biotipos NCP, nacerá un ternero persistentemente infectado e inmunotolerante; durante este período también se puede producir muerte fetal con momificación o aborto meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis (Moenning y Liess, 1995, pp. 477 – 487).

Segunda etapa: del día 125 al 175 día de gestación, es el período en el que comienza la inmunocompetencia fetal, con el desarrollo de órganos, en esta etapa, la infección con el virus de la DVB puede provocar alteraciones del desarrollo y malformaciones como hipoplasia cerebelar, microencefalia, hipomielogénesis, hidranencefalia, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, degeneración de retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis, retraso general del crecimiento y deformidades esqueléticas, todo esto debido al daño celular que causa el virus y por la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal (Lértora, 2003, p. 46).

Tercera etapa: a partir del día 175 de gestación en adelante, el feto se encuentra en un período de crecimiento general y es inmunológicamente competente, pudiendo responder con los anticuerpos neutralizantes, como consecuencia, las infecciones en esta etapa dan como resultado el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles; puede haber en ocasiones abortos pero no son muy comunes (Moenning y Liess, 1995, pp. 477 – 487).

2.6.3 Infección persistente

La mayoría de terneros con infección persistente nacen de vacas normales susceptibles que fueron infectadas con el biotipo NCP antes de que el feto adquiriera inmunocompetencia, la otra parte de los terneros que nacen con una infección persistente son el resultado de vacas persistentemente infectadas, estos terneros que nacen con infección persistente son caracterizados por el aspecto prematuro, son pequeños al nacimiento, tienen escaso desarrollo y ganancia de peso, son débiles y son vulnerables a procesos respiratorios y

entéricos; el 50% de estos animales por lo general mueren durante su primer año de vida, pero algunos pueden ser de apariencia totalmente normal y llegar a edad reproductiva (Rivera, 1993, p. 4).

Como ya se mencionó estos animales son los principales reservorios y diseminadores del virus de la DVB durante toda su vida y no producen anticuerpos contra la cepa que les originó inmunotolerancia (Ames y Baker, 1990, pp. 15 – 24).

En un animal persistentemente infectado es posible aislar el virus en sangre o tejidos, se lo puede realizar 2 veces con un intervalo no menor a dos semanas (Kelling, 1996, pp. 862 – 863).

2.6.4 Enfermedad de las mucosas (EM)

La enfermedad de las mucosas, es la forma fatal y no muy frecuente de DVB, solo ocurre en animales inmunotolerantes y PI que sufren sobreinfección con biotipos CP homólogos, se da usualmente entre 6 meses y 2 años de edad, es una forma esporádica, de curso agudo o crónico y se caracteriza por presentar severa leucopenia, diarrea profusa, erosiones y ulceraciones en el sistema digestivo (Obando y Rodríguez, 2005, p. 319; Ames, 1986, pp. 848 – 869).

2.6.5 Diarrea Viral Bovina crónica

Esta forma de la enfermedad puede ser una secuela de la enfermedad de las mucosas o de la forma aguda de DVB, caracterizada por diarreas intermitentes, ulceraciones en la cavidad buco nasal y en los espacios interdigitales, debilitamiento y muerte del animal, después de semanas o meses de sufrir la enfermedad (Baker, 1987, pp. 1449 – 1458).

2.7 Diagnóstico

2.7.1 Diagnóstico clínico

El diagnóstico se basa en las manifestaciones clínicas y lesiones que presentan los animales, entre las cuales se observa: fiebre, pérdida del apetito, diarrea acuosa o sanguinolenta y depresión general; hay exceso de salivación y secreción nasal seromucosa, en las membranas mucosas visibles se presentan erosiones. En un 10% de los casos se observa opacidad corneal. En algunos casos se presenta laminitis (Figuroa, 1984, pp. 346 - 355).

A nivel de tracto digestivo se pueden encontrar lesiones como: morro, lengua, carrillos, paladar duro y blando, lengua, boca hiperémicos y edematosos, ganglios linfáticos agrandados, a nivel de esófago erosiones prominentes y necróticas recubiertas de fibrina; cuando la erosión se presenta en el rumen tiene tendencia a ser hemorrágica, en el abomaso son numerosas en las regiones fúndica y pilórica con diámetros de 1 a 1.5 mm, con bordes elevados y rodeadas por un anillo de pequeñas hemorragias. En el intestino delgado se encuentran erosiones en las placas de Peyer a lo largo del colon (Chamizo, 1995, pp. 97 - 100).

2.7.2 Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico se puede dividir en dos métodos: directo e indirecto, el primero se basa en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico, el segundo determina la respuesta inmune de tipo humoral del huésped frente a la acción del agente (Reinhardt, Carrasco, Tadich y Riedemann, 2001, pp. 5 – 7). El diagnóstico es realizado con la finalidad de detectar los bovinos persistentemente infectados, que son quienes diseminan la enfermedad.

2.7.2.1 Aislamiento Viral

El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Sin embargo, es económicamente un límite para ser usado en el diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación. El cultivo celular se ha optimizado con el sistema microtitre multi-well, donde células cultivadas en placas con múltiples pocillos son inoculadas con 10 a 50 µl de suero problema e incubadas por 4 días; la presencia de biotipos NCP se detecta con el empleo de anticuerpos anti-vDVB marcados con peroxidasa o fluorocromos (Sandvik, 1999, pp. 123 – 124).

2.7.2.2 Detección de antígenos mediante enzimo-inmunoensayo (ELISA)

La prueba de ELISA toma a los anticuerpos monoclonales o policlonales para atrapar a los antígenos del virus de DVB en muestras de sangre. Es un método rápido y económico a diferencia del aislamiento viral, por lo cual es usado para la detección de animales PI en grandes explotaciones. Los sistemas ELISA basados en anticuerpos policlonales dirigidos contra varias proteínas y glicoproteínas de cepas antigénicamente diferentes, son capaces de detectar una amplia variedad de virus de DVB. Su cuantificación se basa en la reacción enzima-sustrato que produce un cambio en la coloración que es evaluado a través de un espectrofotómetro lo que evita resultados subjetivos, con lo cual existe una disminución de errores en esta técnica, debido a que las variables han sido estandarizadas de modo que los parámetros medidos no sean alterados. Este sistema, comparado con el aislamiento viral, ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad (97,9 % y 99,7 % respectivamente) y es comparable a los sistemas ELISA que utilizan un pool de anticuerpos monoclonales. Por otra parte, los sistemas ELISA basados en un anticuerpo monoclonal epítipo específico son cuestionables, debido a que su estrecho rango de especificidad puede fallar en detectar algunas cepas del virus de DVB (Dubovi, 1994, pp. 507-510).

2.7.2.3 Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (IHQ)

Este método diagnóstico es más conveniente para la detección del virus de DVB en fetos, se realiza en tejido fijado en formalina y embebido en parafina; es más conveniente que otras técnicas debido a la facilidad en el envío de las muestras, permite la asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histológicas (Brodersen, White y Smith, 1998, p. 240).

Se obtiene un significativo número de resultados falsos positivos y falsos negativos con la inmunofluorescencia (sensibilidad: 77 %, especificidad: 83 %), y significativo número de falsos negativos con el aislamiento viral (sensibilidad: 83 %, especificidad: 100 %), mientras que la IHQ posee el mejor desempeño: especificidad: 97 % y sensibilidad: 97 %. En casos de fetos con avanzada autólisis, la IHQ de cerebro fijado en formalina se recomienda sobre el aislamiento viral y la detección de antígeno por ELISA. La presencia del antígeno del virus de DVB en queratinocitos de la epidermis y células epiteliales de folículos pilosos de bovinos PI clínicamente normales ha originado el desarrollo de la técnica inmunohistoquímica en biopsias de piel para el diagnóstico de estos animales (Haines, Clark, Dubovi, 1992, pp. 27 – 32).

En comparación con el aislamiento viral, esta técnica ha demostrado ser eficaz, rápida, económica, sencilla y fácilmente implementable en cualquier laboratorio de histopatología. La recolección y posterior envío de las muestras al laboratorio es fácil. 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 et al., 1998, p. 246).

2.7.2.4 Detección del ácido nucleico viral

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido, sensible, que detecta diversos virus y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo (Ward y Misra, 1991, pp. 1231 – 1236). Su sensibilidad permite detectar el virus en pool de muestras de sangre y leche de tanque. Sin embargo, su elevada sensibilidad puede originar resultados falsos positivos (Laamanen, Neuvonen, Yliviuhkola y Veijalainen, 1997, p. 199). El principio de esta técnica es que moléculas de ácido nucleico marcadas, se unen directamente a las secuencias complementarias del ácido nucleico del virus DVB; se deberán tomar las respectivas precauciones para evitar la contaminación del ADN viral.

El diagnóstico por PCR del virus de DVB, se hace sobre órganos homogeneizados o suero. El RNA vírico debe ser purificado y transcrito a ADN complementario, mediante una enzima transcriptasa reversa (Pellerin, Vandenhurk, Lecomte y Tijssen, 1994, pp. 260 - 268; Van Oirschot, Brusckhe y Van Rijn, 1999, pp.169 – 183).

2.7.2.5 Neutralización Viral (VN)

La prueba de VN es una de las más usadas para la detección de anticuerpos contra el virus de DVB (Edwards, 1990, pp. 115 - 130). Para realizar un diagnóstico adecuado se debe realizar la prueba con muestras pareadas de suero, de intervalo no menor de 3 – 4 semanas entre ellas. Al presentarse un título mayor a dos diluciones entre la primera y la segunda será considerado como una respuesta a la fase aguda de la enfermedad (Valera, 2007, pp. 448 – 449). Mediante esta prueba se puede detectar y titular anticuerpos y comprobar la capacidad del virus de infectar a las células in vivo o in vitro (Rivera, 1993, pp. 1 – 9).

2.7.2.6 Detección de anticuerpos mediante enzimo–inmunoensayo (ELISA)

El ELISA indirecto detecta anticuerpos en una muestra, los pocillos se encuentran tapizados con un antígeno específico, se agrega la muestra problema con la mezcla de anticuerpos, se une el anticuerpo específico al antígeno ya tapizado, se lava para eliminar el exceso no unido. Se adiciona el anticuerpo secundario marcado con la enzima, que es un anti-anticuerpo, el que reaccionará con el anticuerpo que reaccionó junto al antígeno previamente fijado; se lava el pocillo para eliminar el exceso de enzima no adherida y finalmente se agrega un sustrato específico para la enzima, el cual se unirá a esta para obtener la coloración, que se observará a simple vista o se podrá cuantificar por medio de un espectrofotómetro (Berg, Tymoczko y Stryer, 2008, pp. 87 - 90).

Es una prueba útil para conocer la situación sanitaria del hato frente a una infección, ya que es sensible para detectar bajos niveles de anticuerpos y específica para los anticuerpos que se buscan, además es un instrumento muy importante para el diagnóstico de enfermedades y para programas de seguimiento epidemiológico ya que hace posible la detección de animales en estadios tempranos de la infección, portadores, casos de infección sin necesidad del estímulo de la respuesta humoral. Se puede utilizar como herramienta para el control y seguimiento, por análisis repetidos, de explotaciones negativas a la infección o la confirmación de las positivas (Gómez-Lucia et al., 2006, pp. 324 - 328).

2.7.3 Diagnóstico Diferencial

El diagnóstico del cuadro de enfermedad de las mucosas es muy importante dado la importancia que tiene esta enfermedad dentro del diagnóstico diferencial de fiebre aftosa, así como también desde el punto de vista clínico es de gran complejidad establecer diferencias entre enfermedades que producen erosiones en la mucosa bucal ya que se puede confundir con estomatitis

erosiva, peste bovina, fiebre catarral maligna, lengua azul (Gasque, 2008, p. 120 – 127).

2.8 Tratamiento

Al igual que otras enfermedades virales, no existe un tratamiento específico, pero se pueden tratar los signos para disminuir las pérdidas y lograr que el animal resista más el período de convalecencia, mediante terapia de sostén a base de astringentes digestivos y de soluciones parenterales a base de electrolitos (Gasque, 2008, p. 127).

También se pueden usar antibióticos de amplio espectro como las oxitetraciclinas de larga acción para prevenir y controlar las infecciones bacterianas secundarias asociadas a la inmunosupresión que causa este virus (Campos, 2005, p. 25).

2.9 Prevención y control

Las estrategias de erradicación dependerán de la seroprevalencia, el uso de vacunas, la densidad poblacional y las prácticas de manejo (Valera, 2007, p. 450).

Los avances recientes acerca del conocimiento de la patogénesis y epidemiología de la DVB indican que es poco factible mantener hatos libres del virus de la DVB, por lo que se debería enfocar a lo que es la prevención y control de este virus a través de tres aspectos fundamentales:

- 1.- Buen control sanitario, evitando el ingreso del virus al hato, para esto se debería evitar factores como: uso múltiple de la aguja hipodérmica, contacto con otros rumiantes que pueden ser portadores del virus, uso de germoplasma de dudosa procedencia, uso de vacunas a virus vivo modificado, el libre ingreso

de animales al hato sin previo análisis, el estrés, entre otros (Brownlie et al., 2000, pp. 176 – 187).

2.- Identificación y remoción de los animales persistentemente infectados, esta es una de las medidas de enorme trascendencia ya que los animales con infección persistente son los principales diseminadores del virus, un punto que se debe recalcar es que estos animales no superan al 2%, pero en algunos casos, en hatos se puede alcanzar porcentajes superiores (Ridpath y Bolin, 1991, pp. 291 – 298).

Esta medida se debe tomar cuando existen sospechas de tener la infección en el hato, se debe empezar muestreando a todos los animales mayores a 6 meses, si en el hato hay la presencia de animales PI, la prevalencia debe ser alta y los negativos deben ser considerados sospechosos y eliminados del hato, si el porcentaje de estos animales es mínimo (Rivera, 1993, p. 10).

La otra posibilidad de encontrar a estos animales es después de vacunar con vacuna a virus muerto a todos los animales mayores a 6 meses, incluyendo la segunda dosis al tiempo recomendado, posteriormente se realizará 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 hacer el seguimiento de aquellos animales que no fueron muestreados (terneros menores a 6 meses) (Bolin y Ridpath, 1992, pp. 2157 – 2163).

Algo importante que se debe tomar en cuenta es que al eliminar los animales persistentemente infectados del hato, también se está eliminando la fuente endógena de infección, ya que los animales PI, al diseminar el virus en el ambiente, pueden actuar estimulando la inmunidad en el hato o en un porcentaje de animales, y debido a esto se considera que el porcentaje de seronegativos en riesgo aumenta, por tal motivo se debe establecer programas

de inmunización en el hato (Gogorza, Morán, Larghi, Iglesias y Pérez, 2001, p. 5).

3.- Vacunación, Se dice que la prevención y control de la DVB se basa en la vacunación, que es el método más utilizado desde que se reportó por primera vez la DVB en el mundo, aunque la variabilidad de las cepas se ha convertido en un problema, se prefiere las vacunas inactivadas ya que las vacunas a virus vivo se ha comprobado que producen signos clínicos de la enfermedad extremos y pueden provocar disminución de la fertilidad en hembras ya que alcanzan los ovarios (Obando y Rodríguez, 2005, p. 319),

2.9.1 Vacunación

Los virus presentan varias estrategias para escapar a la respuesta inmune, y en especial el virus de la DVB por ser un virus ARN, tiene una alta capacidad de mutar y presenta genotipos y biotipos con diferencias antigénicas entre ellos por esta razón, lograr una correcta inmunización requiere de la aplicación de vacunas que estimulen distintos mecanismos para enfrentar esta evasión y variabilidad viral, además este agente presenta tropismo hacia las células linfoides, generando distintos grados de inmunosupresión, que pueden llegar a la tolerancia, impidiendo así que la inmunidad ejerza mecanismos efectores para su control (Fenner et al., 1992, p. 145).

La inmunización implica que después de ser aplicada la vacuna, el animal desarrolle una respuesta inmune que le proteja contra la invasión del patógeno, para que la vacuna surta efecto se debe tomar en cuenta que se debe seleccionar el antígeno correcto, que se libere de manera óptima y en el tiempo correcto logrando una respuesta que pueda proteger al animal, en otras palabras una respuesta inmune es exitosa cuando produce la misma respuesta humoral y celular de una infección natural, y que cause mínimos efectos adversos para la salud del animal (Valera, 2007, p. 450).

La vacunación es efectiva en poblaciones bovinas con alta prevalencia de la enfermedad y cuando se incorpora a un plan sanitario, vacunar cuando se han detectado ya abortos o la enfermedad de las mucosas no solucionará el problema, la vacuna no eliminará el virus del hato, su finalidad es proveer protección contra infecciones transplacentarias para que no den origen a terneros PI, se debe tener en cuenta que se debe revacunar anualmente y se debe implementar un plan de vacunación a vacas y vaquillonas (Valera, 2007, p. 450; Odeón, 2006, pp. 24 - 30).

Por las limitantes que tiene el uso de vacunas para el control efectivo de la DVB, se han desarrollado programas sistemáticos para la erradicación de esta enfermedad sin vacunación, pero estos programas funcionan siempre y cuando la prevalencia de la enfermedad en esta zona sea baja al igual que la densidad poblacional, estos programas se fundamentan en: identificación y separación de rebaños infectados, descarte de bovinos PI y monitoreo y certificación de rebaños no infectados (Bitsch y Ronsholt, 1995, pp. 627 - 640)

Existen dos tipos de vacunas contra este virus; a virus vivo modificado y a virus muerto o inactivado.

2.9.1.1 Vacuna a virus vivo modificado

La vacuna a virus vivo modificado, usualmente contiene un solo biotipo del virus de la DVB citopatogénico (Valera, 2007, p. 450).

Esta vacuna tiene como ventaja que produce altos niveles de anticuerpos sin necesidad de aplicar una segunda dosis, por esta razón esta vacuna sería la indicada para ganado que se mantiene en un tipo de explotación extensivo, pero en cambio como desventaja tiene que produce inmunosupresión predisponiendo al animal a otras infecciones, no se puede usar en animales gestantes ya que el virus puede atravesar la placenta infectando al feto (Valera, 2007, p. 450).

2.9.1.2 Vacuna a virus muerto

La vacuna a virus muerto tiene como desventaja que requiere de una segunda dosis para lograr inducir los anticuerpos a niveles que protejan al animal, y esta inmunidad inducida es de corta duración, pero en comparación con la que se habló arriba, esta no es inmunosupresora y se puede utilizar en vacas gestantes, esta vacuna es recomendada en el manejo de bovinos mantenidos en sistema intensivo (Ames y Baker, 1990, pp. 15 – 24).

Considerando lo mencionado, las vacunas inactivadas contra el virus de la DVB son de elección en el control de esta enfermedad, pero deben utilizarse en forma estratégica en rebaños infectados (Obando y Rodríguez, 2005, p. 321):

- Si se observa mortalidad elevada de becerros, sería recomendable vacunar al final de la gestación, para mejorar la inmunidad conferida por el calostro.
- Las novillas deberían ser vacunadas y revacunadas un mes antes de entrar a servicio, esto ayudaría 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 lo indicado para las novillas.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del lugar de estudio

Los seis hatos ganaderos están ubicados en la parroquia Canuto, cantón Chone, provincia de Manabí, ubicándose en la zona noroccidental de la región costa ecuatoriana; se encuentran aproximadamente entre 100 y 700 msnm, y a una temperatura ambiental entre 23 y 35 grados centígrados, la zona se dedica a actividades comerciales de tipo agrícola y pecuario siendo la explotación ganadera una de las más importantes (Municipio de Chone, 2012).

Las seis haciendas antes mencionadas son: Las Vainillas, San Fernando, Haydee, La Ponderosa, Santa Elena y Don Pocho, fueron seleccionadas por la factibilidad en cuanto a la disposición de los animales para realizar el estudio y por el interés de los ganaderos al no tener conocimiento de la enfermedad.

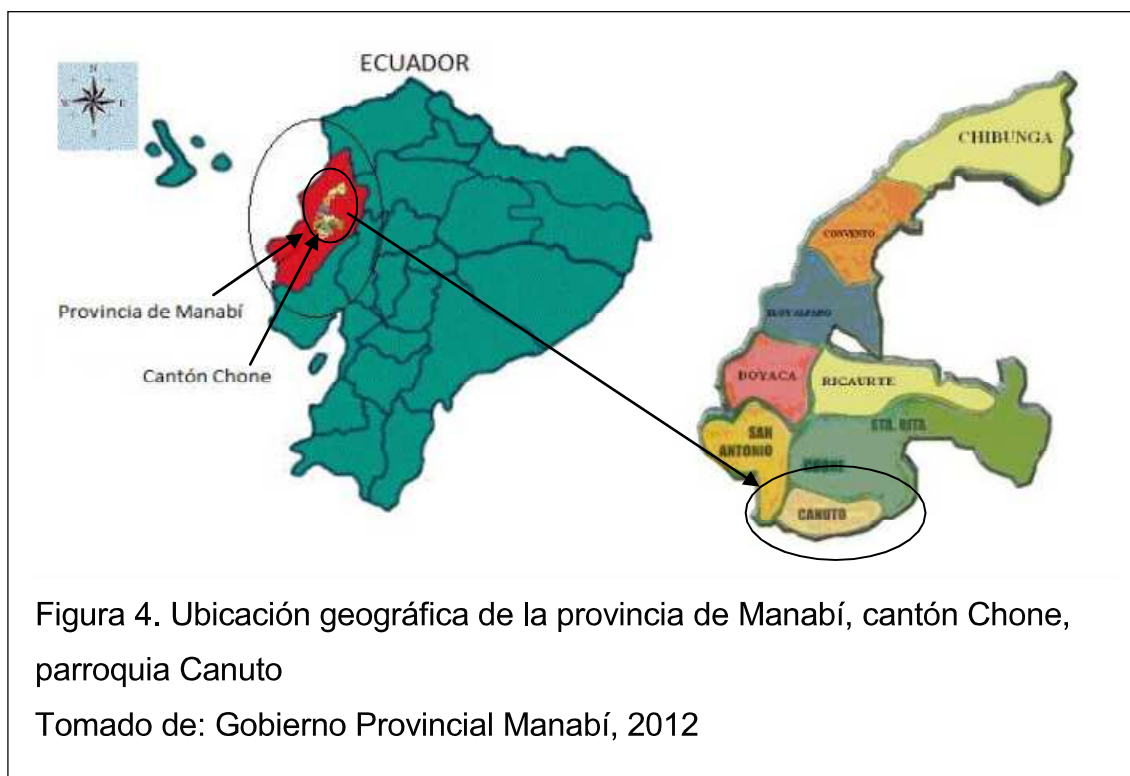
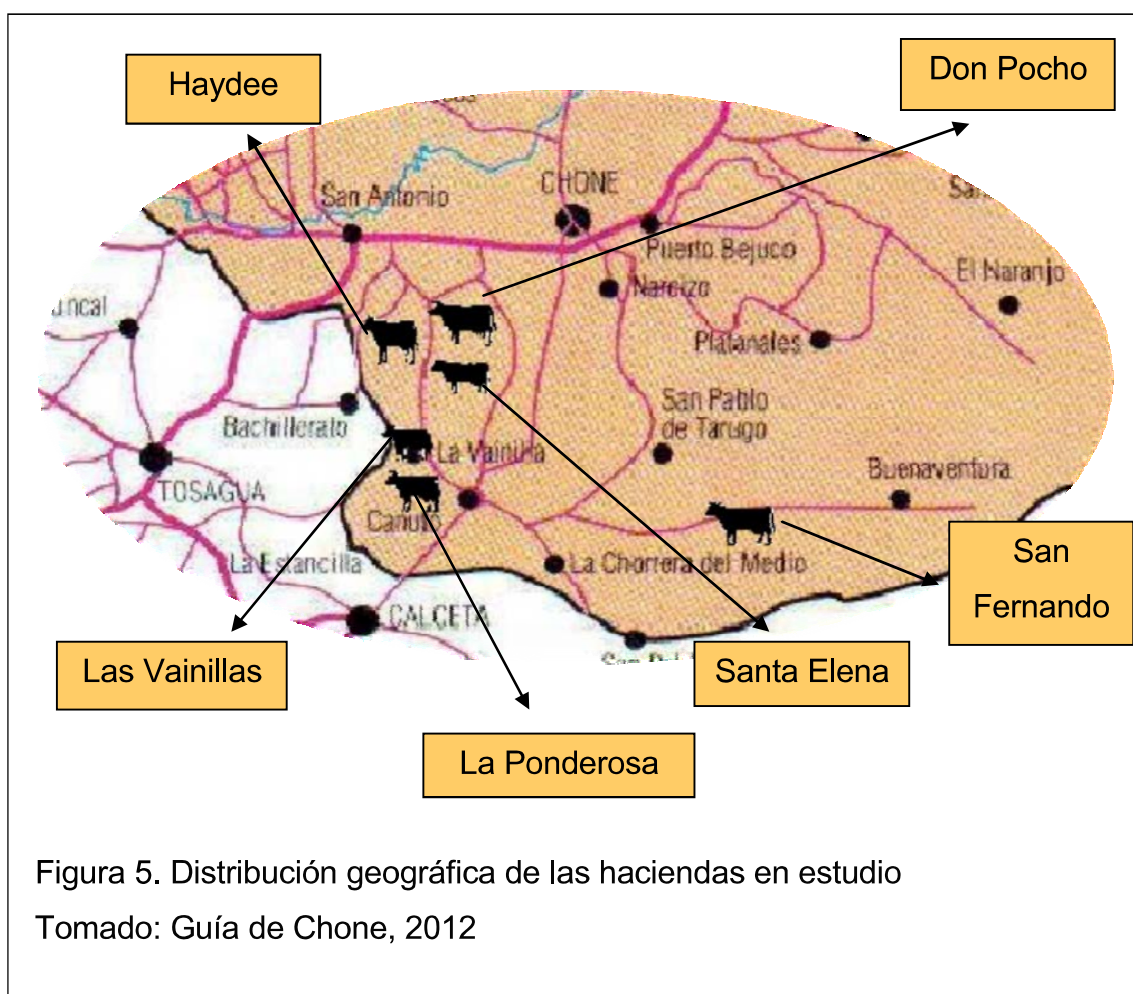


Figura 4. Ubicación geográfica de la provincia de Manabí, cantón Chone, parroquia Canuto

Tomado de: Gobierno Provincial Manabí, 2012

Las haciendas están ubicadas respectivamente en los sitios: Las Vainillas, Chata, Copetón, La Piñuela, Hueso de Vaca y Guare, la distancia entre cada hacienda es variada, entre las haciendas: Las Vainillas, Haydee, La Ponderosa, Santa Elena y Don Pocho la distancia promedio entre cada una es de 5 kilómetros, las cuales se encuentran en la zona baja de la parroquia y la hacienda San Fernando se encuentra a 10 kilómetros de la cabecera parroquial en dirección a la zona montañosa; entre esta última y las demás existen 15 Km de distancia.



En la siguiente tabla se detalla información importante de cada hacienda:

Tabla 1. Información básica de las haciendas en estudio

Hacienda	Propietario	Coordenadas	Altitud (msnm)	Extensión (hectáreas)	Población bovina
Las Vainillas	Sr. Lizardo Mendoza	0° 47' 8" S y 80° 9' 5" O	42	110	212
San Fernando	Sr. Fernando Vivas	0° 50' 51" S y 80° 03' 45.34" O	788	200	400
Haydee	Sr. Miguel Darquea	0° 46' 25" S y 80° 9' 16" O	46	200	200
La Ponderosa	Sr. Iván Mendoza	0° 47' 37" S y 80° 9' 25" O	42	400	760
Santa Elena	Sra. Elena Andrade	0° 46' 57" S y 80° 9' 21" O	42	42	69
Don Pocho	Dr. Euclides de la Torre	0° 44' 54" S y 80° 7' 18" O	154	72	32

Por otra parte, el análisis de las muestras se realizó en los laboratorios de Agrocalidad (Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro), en el sector denominado La Granja, ubicado en la parroquia Tumbaco al Sur Este de la ciudad de Quito provincia de Pichincha, a una altitud de 2348 m.s.n.m, cuyas coordenadas geográficas son: latitud 00° 13' 0", longitud 78° 24' 0" (Proaño, 2008, pp. 45 - 46).

Los laboratorios cuentan con nivel de seguridad biológica de 2 (NSB 2) y un área de mayor contención donde se maneja el diagnóstico de enfermedades vesiculares, además son utilizados para diagnósticos de inocuidad de alimentos, control de calidad de insumos y productos agrícolas, sanidad animal y sanidad vegetal. En estos laboratorios se genera información esencial para la planificación de acciones de prevención, control y erradicación de enfermedades, así como para la formulación y gestión de los planes y programas sanitarios nacionales y regionales (Agrocalidad, 2013).

3.2 Diseño del estudio

El tipo de estudio que se realizó en esta investigación es primariamente un estudio transversal ya que se determinó la prevalencia de la enfermedad, a través de muestras previamente extraídas de la población, sin tomar en cuenta la exposición a un determinado factor y si hay o no la presencia de la enfermedad.

Posteriormente se realizó un estudio de cohorte longitudinal para detectar la incidencia semestral de la enfermedad entre los meses de mayo del 2012 y noviembre del 2012, el cual consiste en el seguimiento de los animales negativos y sospechosos, a través del tiempo para ver si estos llegan a adquirir contacto con el virus, a estos animales se los considera que están expuestos al virus.

La presente investigación pretende complementar el estudio realizado para la determinación de prevalencia de IBR en seis fincas ganaderas, que se detallaron con anterioridad, para lo cual se muestrearon 430 animales de los cuales se obtuvieron los sueros correspondientes, estos se procesaron y analizaron en el laboratorio de Sanidad Animal de Agrocalidad ubicado en Tumbaco, para la determinación de la prevalencia aparente de la DVB, y transcurridos seis meses se procedió a muestrear a los animales negativos y sospechosos resultantes a la primera prueba, las muestras fueron recolectadas en campo y procesadas en el mismo laboratorio antes mencionado.

Complementariamente, se aplicó una encuesta a los ganaderos o trabajadores que manejan los seis hatos (Anexo 3), para recopilar información y así poder asociar el manejo, sanidad y bioseguridad con los factores de riesgo de la presencia de esta enfermedad.

3.3 Población de estudio

La población en estudio son 430 animales, y consta de dos etapas, la primera es referente al estudio realizado en IBR, en la que se muestrearon los 430 animales, y la segunda parte, que corresponde a la población en estudio para el cálculo de la incidencia semestral de DVB, en la que se muestrearon 249 animales de los 430 animales, es decir se muestreo el 57,90 % de los 430 animales.

3.3.1 Población de estudio IBR

La población total de bovinos muestreados fue de 430 animales, en las haciendas ya mencionadas y está repartido de la siguiente manera; Don Pocho (n=33), Haydee (n=96), Santa Elena (n=66), Las Vainillas (n=84), La Ponderosa (n=51) y San Fernando (n=100)

Cabe recalcar que para la recolección de estas muestras para el estudio de IBR, no se usó ninguna fórmula para el cálculo del tamaño de la muestra, es decir no se usó porcentaje de confiabilidad, probabilidad de que exista la enfermedad que por lo general se trabaja con el 50% de probabilidad de que haya la enfermedad y 50% de probabilidad de que no haya la enfermedad, y tampoco se usó el 5% de error que es lo aceptable, simplemente se tomaron y muestrearon los animales disponibles el día del muestreo, en los seis hatos se procedió al muestreo de bovinos con edades superiores a 6 meses, para así poder abarcar los períodos de la enfermedad IBR, el estudio fue realizado en animales que nacieron antes de la temporada invernal, se realizó un muestreo de tipo aleatorio simple, en el que se incluyó a todos los animales de estas haciendas en variedad de edad y sexo; la selección de los animales se realizó al azar sin tomar en cuenta la raza (De la Torre, 2012, p. 37).

En estos hatos existe una gran variedad de razas que serán enumeradas en la Tabla 2, lo cual se debe a la diversidad de cruces que se han realizado en cada

hacienda, para lograr objetivos de producción y obtener una rusticidad adecuada, para que los animales puedan resistir los climas extremos de la costa ecuatoriana (De la Torre, 2012, p. 42).

Tabla 2. Distribución de los animales estudiados por razas

Raza	Número	%
Brahman Mestizo	1	0,23
Brahman-Brown Swiss	3	0,69
Brahman-Nelore	5	1,16
Brown Swiss	13	3,02
Brown Swiss – Mestizo	117	27,20
Brown Swiss – Nelore	3	0,69
Brown Swiss – Holstein	2	0,46
Gyr	2	0,46
Gyr Mestizo	44	10,23
Gyr-Holstein mestizo	40	9,30
Holstein - Brown Swiss	3	0,69
Holstein Gyr	1	0,23
Holstein Mestizo	100	23,25
Holstein Nelore	1	0,23
Holstein-Brahman	2	0,46
Jersey-Holstein	1	0,23
Mestizo	51	11,86
Nelore Mestizo	1	0,23
SRD	40	9,30
Total	430	100

Se debe indicar que de los 430 bovinos muestreados, existen únicamente 168 registros de edad proporcionados por parte de las haciendas en estudio, la mayoría de animales muestreados son hembras bovinas como se muestra en la Tabla 3, esto debido al descarte de los terneros en la propiedad.

Tabla 3. Distribución por sexo de los animales estudiados

Hacienda	Hembras		Machos		Total
	Número	%	Número	%	
Las Vainillas	60	71,42	24	28,58	84
San Fernando	97	97,00	3	3,00	100
Haydee	91	94,79	5	5,21	96
La Ponderosa	46	90,19	5	9,81	51
Santa Elena	59	89,39	7	10,61	66
Don Pocho	28	84,84	5	15,16	33
Población total	381	88,60	49	11,40	430

Adaptado de: De la Torre, 2012

3.3.2 Población de estudio DVB

De los 430 animales, se procedió a muestrear a los negativos y sospechosos resultantes a la primera prueba para la determinación de la prevalencia aparente de DVB, obteniendo así una población total de 249 animales, los cuáles se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Número de bovinos muestreados

Hacienda	Población	Animales negativos y sospechosos muestreados
Las Vainillas	84	37
San Fernando	100	24
Haydee	96	85
La Ponderosa	51	49
Santa Elena	66	46
Don Pocho	33	8
Total	430	249

La mayoría de animales muestreados son hembras bovinas (Ver Tabla 5), debido a que en estos hatos predomina la producción lechera, por ende la mayoría de machos son descartados de la propiedad.

Tabla 5. Distribución por sexo de animales muestreados

Hacienda	Hembras		Machos		Total
	Número	%	Número	%	
Las Vainillas	36	97,29	1	2,71	37
San Fernando	23	95,83	1	4,17	24
Haydee	85	100,00	0	0,00	85
La Ponderosa	45	91,83	4	8,17	49
Santa Elena	43	93,47	3	6,52	46
Don Pocho	8	100,00	0	0,00	8
Población total	240	96,38	9	3,61	249

Las razas en porcentaje de muestreo se muestran en la Tabla 6, como se observa estos animales se encuentran distribuidos sin raza definida, siendo Brown Swiss, Brahman, Holstein y Gyr, las razas de preferencia para estos cruces, esto debido a la capacidad que tiene estas para adaptarse a climas extremos, por la alta rusticidad que poseen.

Tabla 6. Distribución por razas de los animales del estudio

Raza	Número	%
Gyr Mestizo	24	9,63
Gyr – Holstein Mestizo	13	5,22
Holstein - Mestizo	23	9,23
Holstein – Gyr	1	0,40
Holstein – Brown Swiss	2	0,80
Holstein – Brahman	2	0,80
Brown Swiss – Mestizo	97	38,95
Mestiza	49	19,67
SRD	24	9,63
Brahman – Mestizo	1	0,40
Brahman – Nelore	1	0,40
Jersey – Holstein	1	0,40
Brown Swiss	8	3,21
Brown Swiss – Nelore	2	0,80
Brown Swiss – Holstein	1	0,40
Total	249	100,00

Las haciendas en estudio, mantienen a sus animales dentro de un sistema de manejo de tipo extensivo, en el que los animales se alimentan de pasto y residuos de cosechas en su mayoría, los bovinos se encuentran en contacto frecuente con otras especies como: equinos, aves, caninos, felinos, porcinos, entre otros, los cuáles muchas veces se alimentan de las heces y secreciones de los bovinos, en cuanto al manejo reproductivo, en estos hatos se maneja monta natural e inseminación artificial en su mayoría, y no se llevan registros adecuados de nacimiento, partos, entre otros. En cuanto al manejo sanitario, se realizan desparasitaciones periódicamente y planes de vacunaciones contra fiebre aftosa, triple bovina y se quiere implementar un plan de vacunación contra IBR y DVB.

3.4 Materiales

Para la presente investigación se utilizaron distintos materiales, tomando en cuenta las medidas de bioseguridad necesarias, con el fin de cumplir con las exigencias para el correcto manejo de muestras biológicas, los cuales se enumeran en las Tablas 7, 8 y 9.

Tabla 7. Materiales de campo

Material	Cantidad
Botas de caucho	2 pares
Registros de Bovinos a ser muestreados	6 impresiones
Encuesta de factores de riesgo	6 impresiones
Caja para el transporte de materiales	1
Guantes de nitrilo	1 caja
Alcohol	1 frasco
Algodón	1 funda
Agujas toma múltiple #20	500
Cápsulas de extracción de sangre	5
Vacutainers de 10ml.	500
Caja Térmica	1
Gradillas	5
Pipetas	500
Tubos eppendorf	500
Sustituto de hielo	14
Botella para desechos corto punzantes	2
Fundas para desechos infecciosos	6

Tabla 8. Materiales de Laboratorio

Material	Cantidad
Puntas para las pipetas	1000
Pipetas multicanal	2
Pipetas de precisión	2
Muestras de suero	700
Cronómetro	2
Agua destilada	2 litros
Lavador de placas automático	1
Lector microelisa	1
Vortex	1
Adhesivo para cubrir las placas	10
Kit comercial ELISA Indirecto, IDEXX BVDV Total Ab Test. Código: 99 – 44000. Elaboración: Nov 2012, Vencimiento: Oct 2013. Procedencia: Europa, Lote: A361	2

Tabla 9. Reactivos

Material/Reactivo	Cantidad
Placas tapizadas con antígeno BVDV	10
Control positivo	2 ml
Control negativo	2 ml
Conjugado	120 ml
Diluyente de la muestra	120 ml
Substrato TMB n.º12	120 ml
Solución de frenado n.º3	120 ml
Solución de lavado concentrada (10x)	960 ml

Adaptado de: IDEXX, 2013, p. 23

3.5 Métodos

3.5.1 Encuesta

Al iniciar el muestreo, se realizó una encuesta elaborada previamente que contenía 13 preguntas (Ver Anexo 3), a cada propietario o persona que maneja la hacienda, con el fin de determinar factores de riesgo de la enfermedad, se les explicó que la información obtenida será confidencial y con fines de investigación.

3.5.2 Muestreo

Como ya se mencionó con anterioridad los sueros que se pudieron recolectar fueron 249 por motivos de descarte y falta de registros, entre otros.

Dicho muestreo se realizó en los meses de noviembre y diciembre del 2012, previamente se realizó una presentación en el área comunal de la parroquia Canuto, en la que se explicó a los ganaderos, lo que se va a realizar, los objetivos y temática de la investigación, además se les entregó a cada propietario de cada hacienda los resultados del primer análisis de laboratorio realizado a principios del mes de noviembre del 2012, en el que se detalla los animales negativos, sospechosos y positivos a la prueba, con el cálculo de la prevalencia de la enfermedad en cada hato, este mismo día se explicó a cada ganadero que los animales que deben ser muestreados nuevamente, son los que resultaron negativos y sospechosos a la prueba.

Se inició con la visita a cada propietario para coordinar la fecha de muestreo, al momento de la llegada al hato, se procedió a la toma de datos del propietario y de la hacienda, mediante un registro elaborado previamente (Ver Anexo 2), conjuntamente se procedió a llenar el registro de bovinos elaborado con anterioridad (Ver Anexo 1), con los datos de cada animal a ser muestreado.

Antes de proceder con la toma de la muestra se organizaron los materiales a ser utilizados, teniendo en cuenta que las muestras sanguíneas obtenidas

debían estar dentro de una caja térmica y evitar el movimiento exagerado de esta, para que el suero se separe, así que esta se la colocó en un lugar estable.

Se procedió a confinar a los animales a ser muestreados con la ayuda del personal de la hacienda, el agrupamiento de estos, se lo realizó de acuerdo a las facilidades que ofrecía cada hacienda, en algunos hatos, los animales fueron confinados en mangas para minimizar riesgos y facilitar el manejo, en otros simplemente se procedió a la sujeción del animal en troncos destinados para éste propósito, o a tumbarlos para su debido manejo, tomando las medidas de seguridad adecuadas, y posteriormente se limpió y desinfectó el área de la cola o cuello del animal con agua y alcohol.

La muestra se obtuvo mediante punción de la vena coccígea y en algunos casos por punción de la vena yugular del bovino, se recolectó aproximadamente de 8 a 10 ml de sangre por cada animal, se utilizó agujas de toma múltiple #20, una aguja por cada animal, la sangre obtenida fue depositada en tubos vacutainer al vacío, sin anticoagulante, cada uno con su respectiva identificación, como ya se mencionó, los tubos vacutainer fueron mantenidos dentro de una caja térmica, en un lugar estable, por motivos de comportamiento del virus, permanecieron durante aproximadamente 3 horas en un cuarto oscuro, proporcionado por cada hacienda.

Una vez separado el suero, con la ayuda de pipetas, se procedió a pasar cada suero a un tubo eppendorf, con el adecuado manejo sanitario e identificación correspondiente a cada animal, se verificó que cada tubo eppendorf esté perfectamente cerrado para evitar derrames, estos tubos fueron transportados al lugar de hospedaje en una caja térmica con hielo químico, para mantener la cadena de frío, aquí se procedió a almacenarlos en un congelador a -20°C , debidamente separados por hacienda.

Finalmente las 249 muestras de suero obtenidas, fueron transportadas a la ciudad de Quito de igual manera en una caja térmica con hielo químico, para mantener la cadena de frío y se las volvió a almacenar en un congelador a -20°C. (Ver fotos en Anexo 4)

El material corto punzante e infeccioso que fue utilizado durante el muestreo, fue depositado en botellas y fundas plásticas especiales para este propósito; estos fueron almacenados y al finalizar el muestreo fueron llevados al Hospital Napoleón Dávila Córdova de Chone, en donde se les dio el tratamiento adecuado (Ver fotos en Anexo 4).

3.5.3 Análisis de Laboratorio

Para el análisis serológico de las muestras se utilizó el test de ELISA indirecto (I-ELISA), en este caso se utilizó un kit de ELISA Indirecto que detecta anticuerpos.

Las muestras de suero sanguíneo fueron transportadas hasta el laboratorio de Sanidad Animal de Agrocalidad en Tumbaco de manera adecuada, en una caja térmica, con hielo químico para mantener la cadena de frío, donde se inició con el procesamiento y análisis de las mismas.

El procesamiento y análisis de las muestras contó con la colaboración y supervisión de personal especializado en esta área y se lo realizó en 2 etapas entre los meses de noviembre 2012 y enero 2013, la primera etapa tuvo una duración de 2 días en los cuales el primer día se procesó y se obtuvo resultados de la prevalencia aparente de la enfermedad y en el segundo día se realizó los análisis confirmatorios. En la segunda etapa se realizó el mismo protocolo anteriormente descrito pero con el fin de determinar la incidencia semestral de DVB.

3.5.3.1 Fundamento del test

El ELISA está basado en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, para que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoadsorbente), la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmobilizada y, será fácilmente revelada adicionándole un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color que se puede observar a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro (Gómez-Lucia, Del Mar Blanco y Doménech, 2006, pp. 324 – 328).

El ELISA indirecto, es una prueba útil para conocer la situación sanitaria del hato frente a una infección, mediante un sondeo serológico, ya que es sensible para detectar bajos niveles de anticuerpos y específica para los anticuerpos que se buscan, además es un instrumento muy importante para el diagnóstico de enfermedades y para programas de seguimiento epidemiológico ya que hace posible la detección de animales en estadios tempranos de la infección, portadores, casos de infección sin necesidad del estímulo de la respuesta humoral. Se puede utilizar como herramienta para el control y seguimiento, por análisis repetidos, de explotaciones negativas a la infección o la confirmación de las positivas (Gómez-Lucia et al., 2006, pp. 324 - 328).

Tiene como características que es un test versátil, robusto, confiable, de procedimiento simple y económico con respecto a otras pruebas de laboratorio, en esta investigación se decidió usar este tipo de ELISA por las características mencionadas anteriormente y debido a que ya fue probado en otra tesis realizada anteriormente, en la misma área.

3.5.3.2 Descripción del Kit

Se utilizó un kit de la marca IDEXX (IDEXX BVDV Total Ab, código 99 – 44000). Este kit es un ensayo inmuno-enzimático indirecto, creado para la detección de anticuerpos frente al virus de la DVB en muestras individuales de suero, plasma y leche.

El ensayo consiste en una técnica ELISA indirecta, en el que se utilizan placas de microaglutinación tapizadas con antígenos del virus de la DVB, los anticuerpos presentes frente al virus de la DVB en la muestra, se unen al antígeno de la placa, el material no ligado se elimina mediante un lavado. El complejo antígeno – anticuerpo se detecta mediante un conjugado peroxidasa de rábano, el resto del conjugado se elimina lavando de nuevo la placa y se añade una solución de sustrato / cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato reacciona con el cromógeno generando una coloración azul, al añadir 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 del color, o sea la intensificación del color indica un resultado positivo o sea que hay presencia de anticuerpos frente a virus de la DVB (IDEXX, 2013, p. 22).

3.5.3.3 Protocolo del Test

Todos los reactivos deben alcanzar los 18 – 26°C antes de utilizarse, los reactivos deben mezclarse mediante un agitado o utilizando un vortex, y se debe usar una punta de pipeta diferente para cada muestra (IDEXX, 2013, pp. 24 – 27).

Tabla 10. Protocolo del test

Paso	Acción
Preparación y distribución de las muestras	Tomar las placas tapizadas y marque la posición de las muestras en una hoja de trabajo. Añadir 100 µl de diluyente de la muestra a cada pocillo con una pipeta multicanal. Añadir 25 µl de control negativo en los pocillos apropiados. Añadir 25 µl de control positivo en los pocillos apropiados. Añadir 25 µl de las muestras en los pocillos restantes
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 bien selladas para evitar evaporaciones o incubadas en una cámara húmeda.
Lavado de la placa	Aspirar los contenidos líquidos de los pocillos en un recipiente apropiado. Lavar cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 5 veces, aspirar los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado, y después de la aspiración final eliminar el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola firmemente sobre material absorbente.
Dilución del conjugado	Añadir 100 µl de conjugado en cada pocillo.
Incubación del conjugado	Incubar durante 30 minutos a 18 - 26°C.
Repetir la etapa número 3.	
Distribución del sustrato	Añadir 100 µ de sustrato TMB n. °12 en cada pocillo.
Incubación del sustrato	Incubar por 10 minutos a 18 – 26°C en oscuridad y comenzar a cronometrar después de llenar el primer pocillo.
Frenado de la reacción	Añadir 100 µl de la solución de frenado n. °3 en cada pocillo para frenar la reacción, añadir esta solución en el mismo orden que la solución de sustrato en el paso número 7.
Medición de la placa	Calibrar el espectrofotómetro con aire, 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 y proceder a calcular los resultados.
Interpretación (M/P)	Negativo: < 0,20 Sospechoso: ≥ 0,20 a < 0,30 Positivo: > 0,30

Adaptado de: IDEXX, 2013, p.27

3.5.3.4 Lectura de resultados

Para que el ensayo sea válido, la diferencia (M-N) entre la medida del control positivo (CPx) y la medida del control negativo (CNx), debe ser mayor o igual a 0,150 de densidad óptica (DO), además, la medida del control negativo debe ser menor o igual a 0,250 DO.

La presencia o ausencia de anticuerpos frente al virus de la DVB en la muestra de debe determinar mediante el cociente M/P de cada muestra

3.5.3.4.1 Interpretación de resultados

Para el cálculo de los valores medios y porcentajes, se utilizó un programa llamado XCHECK de la misma empresa IDEXX, a continuación se describen las fórmulas que se deben utilizar en el caso de no disponer de un programa que calcule automáticamente los valores.

Cálculo de la medida del control negativo (CNx):

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

Cálculo de la medida del control positivo (CPx):

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

Cálculo del resultado de la muestra analizada:

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

3.5.4 Análisis estadístico de resultados

Las variables de estudio fueron: raza, sexo, edad y asociación con resultados de IBR. El análisis de los resultados fue mediante la utilización de herramientas de análisis estadístico descriptivo como la determinación de medidas de tendencia central: moda, media y mediana, así como medidas de dispersión: rango, varianza de la muestra, desviación estándar, intervalo de confianza de las variables en estudio.

Con los resultados de laboratorio, se procedió a su análisis mediante el cálculo de la prevalencia aparente, prevalencia real e incidencia de la enfermedad. Complementariamente, se determinaron los valores predictivos positivo y negativo.

La prevalencia aparente de una enfermedad es el número de casos dados en una población o muestra determinada, nos indica la presencia o no de la enfermedad, sin describir casos nuevos o antiguos, la incidencia es la velocidad de propagación de la enfermedad en el tiempo y en la población, es el número de casos nuevos que aparecen en una población susceptible, para esto se necesita especificar el tiempo de exposición, mide el flujo de individuos que pasan desde el estado libre de enfermedad, al de enfermo en una población (Thrusfield, 1990, pp. 42 – 43).

La prevalencia aparente e incidencia de la enfermedad fue calculada mediante las siguientes fórmulas:

$$P = \frac{\text{Número de casos con la enfermedad en un momento dado}}{\text{Total de población en ese momento}}$$

$$I = \frac{\text{Número de casos nuevos}}{\text{Población total a riesgo}}$$

3.5.4.1 Análisis de factores de riesgo

La determinación de los factores de riesgo de DVB se realizó a través de aplicación de una encuesta (Ver Anexo 3). Mediante la cual se pudo determinar factores de manejo, individuales de los animales y alimentación, para relacionarlos con los resultados del examen de laboratorio.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La población total de estudio fue de 430 animales, de los cuáles se obtuvo una muestra de suero sanguíneo por animal, las mismas fueron analizadas y se procedió a calcular la prevalencia aparente de DVB y posteriormente se procedió a muestrear a los animales negativos y sospechosos a este primer análisis, obteniendo así 249 muestras de suero sanguíneo bovino, que fueron de igual manera analizadas, esta población de estudio se encuentra repartida en 6 fincas como se muestra en la Tabla 11.

4.1 Resultado del análisis de laboratorio

Todas las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Sanidad Animal de Agrocalidad en Tumbaco como ya se mencionó con anterioridad, en la Tabla 11, se muestra la distribución de los resultados en general y por hacienda de los análisis de laboratorio.

Como ya se describió, se realizaron 2 análisis, el primero con el fin de determinar la prevalencia aparente de DVB de las 430 muestras obtenidas y el segundo con el fin de determinar la incidencia semestral de DVB de 249 muestras recolectadas nuevamente de los animales negativos y sospechosos resultantes al primer análisis de las 430 muestras, al primer análisis se obtuvo un total de 33 muestras positivas y 10 muestras sospechosas, las cuales fueron confirmadas repitiendo el test de ELISA, como se observa en la Tabla 11.

En total, se obtuvo 38 muestras positivas y 5 sospechosas, que corresponden al 8,83 % (IC95% = 6,29 – 11,37) y 1,16%, respectivamente. En el segundo análisis de laboratorio, se obtuvo un total de 37 muestras positivas, no hubo sospechosas, ya que de las 5 sospechosas se muestrearon 2, resultando ser negativas, obteniendo así un total de 14,85 % (IC95% = 10,44 – 19,26) de

muestras positivas. Se calculó la prevalencia real utilizando una sensibilidad del 96,3% y una especificidad del 99,5% para la prueba utilizada, obteniendo así para el primer muestreo una prevalencia real del 8,60% y para el segundo muestreo 14,97%, estos resultados disminuyeron y aumentaron, respectivamente, en relación a la prevalencia aparente, debido a que la prueba no es 100% sensible ni específica, y estos valores se tomaron en cuenta en la fórmula para calcular este valor.

Como se puede observar en la Tabla 11, el porcentaje de positivos aumentó en el segundo análisis, obteniendo una incidencia de 37 casos nuevos en el lapso de 6 meses, esto refleja un aumento de anticuerpos y por ende una posible exposición de los animales al virus de campo (Aguilar et al., 2006, p. 151), puede estar atribuido al deficiente manejo de animales en estas fincas, dentro de los cuales se encuentra el inadecuado manejo sanitario y reproductivo que poseen, como por ejemplo los animales comparten el mismo potrero, por lo general estas haciendas disponen de un solo macho, el cual se lo utiliza para la monta natural en todas las hembras, se utilizan los mismos utensillos en todos los animales, esto se puede evidenciar en la encuesta realizada, otro factor que cabe mencionar es que el manejo de registros en estas fincas es inapropiado o algunas carecen totalmente de estos, por esta razón se dificultó el muestreo, y de los 392 animales que se debió muestrear, solo se logró obtener el suero de 249 animales; otros motivos para que no se hayan podido obtener todos los sueros, fue el descarte de estos bovinos en las propiedades por motivos de producción, raza, falta de pastos por la época del año y por mortalidad.

Por otra parte en estas fincas, el manejo de vacunas es deficiente, y no existe conocimiento de la DVB, ni de la vacunación contra IBR y DVB. Por lo tanto otro factor que puede influenciar este aumento de prevalencia puede ser la compra y venta de bovinos regularmente, sin un adecuado análisis clínico y confirmación en laboratorio, cuarentena y control al momento de la movilización de estos (Quispe, Cama, Rivera, y Arainga, 2008, p. 180), por lo que el ingreso del virus pudo deberse a la entrada de animales nuevos infectados aunque de

aparición saludable al hato, ya que el 70% o más de bovinos infectados con el virus de la DVB desarrollan la enfermedad subclínica (Houe, 1995, pp. 521 - 547), y como menciona Cárdenas, Rivera, Araínga, Ramírez y De Paz (2011, p. 262), estos animales eliminan al virus mediante secreciones, por esta razón un animal con la enfermedad subclínica de la DVB puede ser transportado de un lugar a otro, logrando así ingresar al hato con fines de crianza y mejora. Por otra parte, Huamán y otros. (2007, p. 146), menciona que otro factor importante, para que el virus se disemine puede ser la cercanía entre hatos y la falta de bioseguridad en estos.

En el estudio realizado para la determinación de la presencia de la DVB, en las islas San Cristóbal y Santa Cruz del Archipiélago de Galápagos por Cabezas (2012, pp. 62 – 80), obtuvo una prevalencia del 11,33% y 4,20% para Santa Cruz y San Cristóbal respectivamente, esto lo atribuye a que Santa Cruz posee la mayor cantidad de animales y principalmente a la falta de conocimiento de los ganaderos de estas islas acerca de la DVB, al transporte de los animales sin un adecuado análisis, cuarentena y control al momento de la movilización de estos, a las malas prácticas reproductivas que indican una deficiente bioseguridad y a la edad, ya que los animales se estresan por producción y reproducción.

En dos estudios realizados en Perú, uno en Arequipa y otro en el valle de Lima, en ganado lechero, se encontraron prevalencias del 42,7% y 56%, respectivamente (Huamán et al., 2007, pp. 141 – 149; Aguilar et al., 2006, pp. 148 – 176); esto indicaría que las prevalencias obtenidas en el presente estudio son bajas en comparación a las encontradas en Perú, esto puede estar atribuido a distintos factores, como menciona Lindberg y Alenius (1999, p. 221), esto indicaría la falta de fuentes de infección en la zona, como serían los animales PI y con infección aguda, los animales con infecciones agudas se recuperan rápidamente, desarrollando inmunidad humoral en 1 a 3 semanas post infección, alcanzando niveles altos de anticuerpos en 10 a 12 semanas, estos descienden de forma lenta persistiendo por largo tiempo (Fredriksen,

Sandvik, Loken y Odegaard, 1999, pp. 111 – 114), en este caso estos anticuerpos fueron los encontrados.

De igual manera en el estudio realizado por Odeón y otros. (2001, pp. 216 - 220), seroprevalencia de la DVB, *Herpesvirus* bovino y Virus Sincitial Respiratorio en Argentina, se encontró una prevalencia del 41,9% para el virus de la DVB, y se menciona que el virus de la DVB tiene mayor oportunidad para infectar a los animales susceptibles en poblaciones donde se maneja un tipo de crianza intensiva, que en uno donde se maneja un tipo de crianza extensiva; esto puede relacionarse con la prevalencia baja en relación a este estudio, debido a que en estas haciendas se maneja un tipo de crianza extensiva.

Según los resultados obtenidos, se puede decir que no existe la presencia de animales PI en las 6 fincas, esto debido a que estos son incapaces de resultar positivos a la detección de anticuerpos, ya que poseen inmunotolerancia contra el virus de la DVB presente en su organismo, resultando así seronegativos, pero estos eliminan el virus durante toda su vida y en cantidades altas a través de secreciones infectando así a grandes poblaciones bovinas, por esta razón se dice que si existieran animales PI en el hato la prevalencia se elevaría en un 40 a 70% (Houe, 1995, pp. 521 – 54; Schreiber et al., 1999, pp. 28 - 32; Houe, 2003, pp. 137 - 143).

Así mismo como se puede observar, en el primer análisis la hacienda Don Pocho es la que presenta el mayor porcentaje de seropositividad, con el 18,18%, esto puede estar atribuido a la práctica de monta natural que se realiza en esta hacienda, ya que el macho utilizado para esto, procede de la Hacienda Santa Elena, que también tiene un 6,06% de positividad, en el segundo análisis la Hacienda San Fernando posee un 75% de seropositividad, siendo así el porcentaje más elevado, que puede estar atribuido al constante movimiento de ganado que se realiza en esta propiedad. El propietario mencionó que en verano por falta de pasto, se realiza un intercambio de animales, y algunos bovinos son llevados al sector de Flavio Alfaro, donde hay

potreros con suficiente pasto y al terminar esta época algunos animales regresan a la hacienda, también en esta hacienda se compra y vende ganado con mucha frecuencia y sin realizar antes el adecuado análisis clínico ni cuarentena; así mismo, en esta propiedad, no se maneja registros de ningún tipo, y en general la alta seropositividad de estas dos haciendas en los dos muestreos respectivamente, puede estar relacionado también con el número reducido de animales muestreados en estas haciendas en comparación a las demás. Por otra parte la Hacienda La Ponderosa presenta un 0 % de positividad en los 2 muestreos, esto puede estar atribuido al mejor manejo sanitario y reproductivo practicado en este hato.

Tabla 11. Resultados del diagnóstico de DVB de los dos muestreos realizados, utilizando el test de ELISA

Hacienda	Resultados							
	Primer muestreo				Segundo muestreo			
	n	P	%	S	%	n	P	%
Las vainillas	84	11	13,09	4	4,76	37	1	2,70
San Fernando	100	16	16,00	1	1,00	24	18	75,00
Haydeé	96	1	1,04	0	0,00	85	1	1,17
La Ponderosa	51	0	0,00	0	0,00	49	0	0,00
Santa Elena	66	4	6,06	0	0,00	46	16	34,78
Don Pocho	33	6	18,18	0	0,00	8	1	12,50
Total	430	38	8,83	5	1,16	249	37	14,85

P= Positivos, S= Sospechosos

Tabla 12. Valores calculados para el primero y segundo muestreo

Muestreo	VP+ (%)	VP- (%)	PA (%)	PR (%)
Primero	94,90	99,60	8,83	8,60
Segundo	97,10	99,30	14,85	14,97

VP+= Valor predictivo positivo, VP- = Valor predictivo negativo, PA= Prevalencia aparente, PR= prevalencia real

4.1.1 Resultados del análisis de DVB distribuidos por raza

En estos hatos existe una gran variedad de razas mestizas, con el fin de obtener rusticidad para lograr la adaptación de estos animales al clima de la costa ecuatoriana. Como se puede apreciar en la Tabla 13, en el primer análisis, las mezclas entre Brahman – Brown Swiss y Brown Swiss – Nelore poseen el mayor porcentaje de positividad, siendo 33,33 % para ambos, seguidos de Brahman - Nelore con el 20%, en el segundo análisis, se observa un porcentaje elevado de positividad para la raza Holstein – Gyr con el 100%, seguida de Holstein – Mestizo con el 73,91%.

Según Betancur y otros. (2007, p. 13), en su estudio para la determinación de la seroepidemiología de la DVB en Montería, Colombia, analizaron el factor raza o mezcla de 170 muestras distribuidas en 32 hatos donde el 48,8% correspondían a animales Mestizos, el 47, 1% a la raza Cebuína y el resto fue de tipo Europeo y se obtuvo como resultado que el grado de asociación entre DVB con respecto a la raza no fue significativo estadísticamente, concluyendo así que la presencia de esta enfermedad, no depende o no está influenciada por la raza o mezcla del animal.

En otro estudio realizado por Quispe y otros. (2008, p. 180), en donde identificó el virus de la DVB en bovinos criollos de la provincia de Melgar, Perú, se encontró una prevalencia del 48,7% y comparándolo con estudios realizados en bovinos de la misma raza en Ayacucho (Rivera, Valdivia y Benito, 2001, pp. 117 - 122) y en El Cusco (Álvarez, Rivera, Pezo y García, 2002, pp. 46 - 51; Cabello, Quipe y Rivera, 2006, pp. 167 - 172), se encontró prevalencias superiores al 70%, con lo que se concluyó que al parecer los animales criollos son altamente susceptibles, esto podría deberse al estrés por deficiencias nutricionales e infecciones parasitarias, pero los efectos del virus podrían pasar desapercibidos o ser confundidos con otros problemas sanitarios.

Tabla 13. Resultados obtenidos por raza para el diagnóstico de DVB

Raza	Primer muestreo					Segundo muestreo		
	N	P	%	S	%	n	P	%
Brahman-Brown Swiss	3	1	33,33	0	0,00	-	-	-
Brahman-Nelore	5	1	20,00	0	0,00	1	0	0,00
Brown Swiss	13	0	0,00	0	0,00	8	2	25,00
Brown Swiss-Mestizo	117	3	2,56	0	0,00	97	7	7,21
Brown Swiss – Nelore	3	1	33,33	0	0,00	2	0	0,00
Gyr Mestizo	44	6	13,63	4	9,09	24	0	0,00
Gyr-Holstein Mestizo	40	5	12,50	0	0,00	13	1	7,69
Holstein – Gyr	1	0	0,00	0	0,00	1	1	100,00
Holstein – Mestizo	100	16	16,00	1	1,00	23	17	73,91
Holstein – Brown Swiss	3	0	0,00	0	0,00	2	1	50,00
SRD	40	5	12,50	0	0,00	24	8	33,33

P= Positivos; S= Sospechosos

4.1.2 Resultados del análisis de DVB distribuidos por sexo

Con respecto al sexo como se observa en la Tabla 14, no se puede establecer una comparación entre la predisposición a la enfermedad debido a que el porcentaje de los machos es pequeño en relación al porcentaje de hembras que han sido muestreadas, siendo estas la mayoría en todas las haciendas en estudio.

En la Tabla 14 se observa que al primer muestreo el porcentaje de machos seropositivos en la hacienda Las Vainillas fue de 2,38%, mientras que el de la hacienda San Fernando fue del 1%; al segundo muestreo (249 animales), se reportó que en la hacienda Las Vainillas el porcentaje de machos seropositivos fue del 2,70%, para la hacienda Santa Elena fue del 2,17%, mientras que el de la hacienda San Fernando fue del 4,16%.

El mayor porcentaje de hembras reportadas como seropositivas al primer muestreo fue de 18,18 % en la hacienda Don Pocho, seguido por el 15,00 % en la hacienda San Fernando. Para el segundo muestreo se encontró que la

hacienda San Fernando tiene un porcentaje alto de seropositividad siendo este el 70,83%, seguido de las haciendas Santa Elena y Don Pocho con el 32,60 % y 12,50%, respectivamente.

El manejo en cuanto a reproducción dentro de los hatos ganaderos es en base a monta natural e inseminación artificial, algunas haciendas poseen reproductores que han sido comprados en varias regiones del país, los cuales se prestan a otras fincas cercanas, también se realiza la inseminación artificial con pajuelas de distinto origen, datos obtenidos a través de las encuestas aplicadas en cada una de las haciendas.

Draghi de Benítez (2002, p.3 - 8), atribuye que el semen es una fuente de contagio y diseminación de la enfermedad produciendo además disminución de la calidad espermática, lo cual se asocia a problemas que se han presentado esporádicamente en algunas haciendas, ya que los ganaderos desconocen la causa específica. Para el caso de estos machos seropositivos se puede asociar el problema, según Voges, Horner, Rowe, y Wellenberg (1998, pp. 165 – 168), concluye que el diagnóstico de DVB en un toro reproductor debe ser mediante la búsqueda del virus en suero o semen y no debe basarse solamente en la detección de anticuerpos.

Odeón (2006, p. 2), manifiesta que en el caso de la inseminación artificial, el virus resiste la temperatura de congelación, el semen contaminado resulta ser una fuente de infección y diseminación de la enfermedad a otros animales, por lo cual se evidencia que puede ser un factor de riesgo para la predisposición de la enfermedad en estos hatos, ya que utilizan inseminación artificial sin tener datos ni certificados del semen que se está utilizando, únicamente compran la pajuela sin pedir un certificado de estar libres de enfermedades infecciosas.

En el caso de las hembras seropositivas según Pedrera y otros. (2007, pp. 56 – 57), dice que en ocasiones los trastornos reproductivos son los únicos síntomas que se observan en una explotación infectada. Para McGowan, Kafi,

y Young (2003, pp.1051 – 1053), en el caso de la hembra, todos los órganos del sistema reproductivo están expuestos al virus de DVB, pero las estructuras que puede llegar a ser las más afectadas son los ovarios, pudiéndose alterar la función ovárica e impidiendo una dinámica folicular normal, lo que produce un estado de infertilidad temporal, en el caso de las haciendas en estudio se observó que ciertas hembras, en su minoría, han presentado problemas de infertilidad, por lo cual no se descarta esta posibilidad. Karhs (2006, pp. 123), manifiesta que no existe una distribución particular de la infección por el virus de la DVB o de sus manifestaciones clínicas con relación al sexo.

Tabla 14. Resultados obtenidos por sexo para el diagnóstico de DVB

Hacienda	Primer muestreo								Segundo muestreo			
	Machos				Hembras				Machos		Hembras	
	P	%	S	%	P	%	S	%	P	%	P	%
Las Vainillas	2	2,38	0	0,00	9	10,71	4	4,76	1	2,70	0	0,00
San Fernando	1	1,00	0	0,00	15	15,00	1	1,00	1	4,16	17	70,83
Haydeé	0	0,00	0	0,00	1	1,04	0	0,00	0	0,00	1	1,17
La Ponderosa	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00		0,00		0,00
									0		0	
Santa Elena	0	0,00	0	0,00	4	6,06	0	0,00	1	2,17	15	32,60
Don Pocho	0	0,00	0	0,00	6	18,18	0	0,00	0	0,00	1	12,50
Total	3	0,69	0	0,00	35	8,13	5	1,16	3	1,20	34	13,65

P= positivos; S= sospechosos

4.1.3 Resultados del análisis de DVB distribuidos por edad

Como podemos observar en la Tabla 15, se agrupó a los animales por edad en las cuatro categorías, no se realizó el muestreo de animales menores a seis meses ya que los animales estuvieron ya designados por el estudio realizado en IBR, pero esto contribuyó ya que según Ames y Baker (1990, pp. 15 - 24), dicen que el virus raramente causa enfermedad en animales menores a 6 meses de edad, Jara (2007, pp. 30), indica que la respuesta inmune más común es la que el ternero obtiene por medio del calostro, aquí el animal adquiere niveles de anticuerpos capaces de proteger contra la infección, pero

esos anticuerpos van desapareciendo conforme desarrollan los animales, hasta llegar a los 6 a 12 meses de edad. Por otra parte, Saa y otros. (2008, p. 646), en su estudio realizado en animales no vacunados, en las provincias de Azuay, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, menciona que no se muestrearon animales menores a 6 meses de edad debido a que podía existir interferencia de anticuerpos maternos y para evitar resultados falsos positivos.

Morales y Siever (2002, pp. 45 - 46), manifiestan que experimentalmente se ha demostrado que en terneros que tomaron tarde el calostro, la infección resultante fue una enfermedad clínica benigna con rápido restablecimiento. Los resultados obtenidos a partir de esta investigación indican que para la primera etapa de muestreo se presentó mayor seropositividad el 17,14 % en animales con edades de 8 años en adelante, seguido por animales en los rangos de 4 - 8 años, con el 10,47%. Para la segunda etapa se encontró que la seroprevalencia se encuentra mayormente en animales de 8 años en adelante con un 25,00 %, seguido del rango de 2 – 4 años con el 20,83%; sin embargo, al análisis estadístico a través del uso de la prueba de Chi cuadrado (X^2) no identificó una diferencia significativa entre las 4 categorías, siendo este para el primer muestreo ($X^2 = 4.62$), y para el segundo ($X^2 = 6,036$).

Odeón y otros. (2001, pp. 5), demostró en su estudio realizado en Argentina que existe una alta prevalencia de anticuerpos en vacas adultas, y que un porcentaje alto de bovinos menores de 12 meses están expuestos tempranamente al virus DVB. Quispe y otros. (2008, p. 178), encontró en su estudio realizado en Perú, que los animales mayores de 2 años poseen mayor predisposición a infectarse con el virus de la DVB, esto debido a la persistencia del anticuerpo en el animal y a la posibilidad de que el animal sufra reinfecciones con el virus de la DVB. Por otra parte Betancur y otros. (2007, p. 13), en su estudio realizado en Montería – Colombia, en el que se muestrearon animales distribuidos en 3 categorías: animales entre 3 y 4 años, 5 y 6 años y mayores de 7 años, obteniendo prevalencias de 16%, 17% y 11%,

respectivamente; se obtuvo que los animales entre los 5 y 6 años presentan una prevalencia mayor, debido a que se encuentran en la edad reproductiva, pasando ya por varios partos, esto podría causar estados de inmunodepresión, logrando así que tengan más posibilidades de infectarse, pero se demostró estadísticamente que esta enfermedad se puede presentar en cualquier edad reproductiva del animal.

Cabezas (2012, p. 78), en su estudio realizado en Galápagos, concluye que la edad si es un factor de riesgo para la presentación de esta enfermedad, ya que animales entre los 2 a 8 años de edad presentaron el mayor porcentaje de seropositividad y menciona que esto puede estar debido al estrés y a los múltiples estados inmuno-depresivos que se pueden presentar en esta etapa debido a las prácticas reproductivas y productivas aumentadas en esta etapa; sin embargo, no se realizó el cálculo de la diferencia significativa entre los grupos de edad. Por otro lado, Jara (2007, pp. 64), en su estudio realizado en la provincia de Loja, concluye que la edad no es un factor determinante en la presentación de esta enfermedad, debido al muestreo aleatorio realizado para este estudio.

Tabla 15. Distribución por categorías de edad de los resultados del análisis de DVB

Categoría	Primer muestreo				Segundo muestreo					
	n	P	%	IC 95%	S	%	n	P	%	IC 95%
6 – 24m	191	12	6,28	(2,84 – 9,72)	1	0,52	118	11	9,32	(4,07 – 14,56)
24 – 48m	99	9	9,09	(3,42 – 14,75)	-	-	72	15	20,83	(11,45 – 30,21)
48 – 96m	105	11	10,47	(4,61 – 16,32)	4	3,80	47	8	17,02	(6,28 – 27,76)
> 96m	35	6	17,14	(4,66 – 29,62)	-	-	12	3	25,00	(0,50 – 49,50)
Total	430	38	8,83	(6,29 – 11,37)	5	1,16	249	37	14,85	(10,44 – 19,26)

m= meses; P= positivos; S= sospechosos; IC= intervalo de confianza

Tabla 16. Resultados de las medidas de dispersión y tendencia central, calculados de la variable edad

Análisis	Primer muestreo	Segundo muestreo
Varianza	1204.03	959.7
Desviación Estándar	35.16	31.4
Media	33.83	32.26
Mediana	49	36
Moda	24	36

4.1.4 Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al primer muestreo

Se realizó el análisis de 430 muestras para el diagnóstico de IBR y DVB, como se observa en la Tabla 17, con lo cual se obtuvo que IBR se encuentra en un 31,39 % dentro de la población, mientras que DVB en el primer muestreo se encuentra en un 8,83% dentro de la población, y los animales que comparten ambas enfermedades se encuentran en un 2,50%.

Dentro de los predios que han sido elegidos para esta investigación se encuentran circulando dentro del hato los virus de DVB e IBR, una mínima parte de la población comparte el virus, pero el resto de animales lo tienen por separado. En ningún hato se realiza vacunación para DVB e IBR, según Jara (2007, pp. 78 – 79) menciona que este podría ser un factor de riesgo para la predisposición de la enfermedad. No existe un manejo sanitario adecuado, ni manejan registros, por lo cual no se realizan descartes de animales enfermos, pudiendo asumirse así que son focos de infección.

Los propietarios de los predios indicaron que hubo una pequeña tasa de mortalidad, no se realizaron necropsias, pero según Rebhun (1995, pp. 105 – 106), las muertes rara vez son consecuencias de IBR, sino que en asociación con el virus sincitial respiratorio bovino o con el virus de DVB, causan inmunosupresión especialmente en el caso de infección concomitante con el virus de la DVB. Obando y Rodríguez (2005, pp. 317 - 321), manifiesta que a los virus de IBR y DVB se los asocia a la producción de alteraciones

respiratorias, entéricas y reproductivas, capaces de comprometer la productividad de los hatos infectados.

Tabla 17. Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al primer muestreo, utilizando un ELISA

Hacienda	Resultados									
	IBR				DVB				Positivos IBR - DVB	
	P	%	S	%	P	%	S	%	n	%
Las Vainillas	36	42,85	5	5,95	11	13,09	4	4,76	4	4,76
San Fernando	25	25,00	5	5,00	16	16,00	1	1,00	4	4,00
Haydeé	17	17,70	4	4,16	1	2,08	0	0,00	0	0,00
La Ponderosa	31	60,78	5	9,80	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Santa Elena	14	21,21	1	1,51	4	6,06	0	0,00	0	0,00
Don Pocho	12	36,36	0	0,00	6	18,18	0	0,00	3	9,09
Total	135	31,39	20	4,65	38	8,83	5	1,16	11	2,50

P= positivos; S= sospechosos

4.1.5 Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al segundo muestreo

En las Tablas 17 y 18, se puede observar que existe una prevalencia del 31,39% de positividad para IBR en el primer muestreo, y de 30,12 en el segundo, la razón de la baja de la prevalencia de esta enfermedad se debe a que se tomaron únicamente los 249 animales para el segundo muestreo, más no los 430 iniciales.

En el caso de la DVB, se obtuvo una prevalencia del 8,83% en el primer muestreo, y 14,85% en el segundo, siendo muestreados en este último únicamente los animales negativos y sospechosos, por esto se puede asumir que la enfermedad se encuentra en libre circulación dentro del hato.

Al establecer una relación entre ambas enfermedades se determinó que los animales seropositivos a estas, se encuentran en 2,50% al primer muestreo, y

6,02 en el segundo muestreo, el incremento de estas cifras se podría asociar a que existe una infección mixta, y al estado inmunológico del animal al presentarse IBR, siendo concomitante a la segunda infección.

Tabla 18. Resultados del diagnóstico de IBR y DVB al segundo muestreo utilizando un ELISA

Resultados								
Hacienda	IBR				DVB II		P IBR – DVB	
	P	%	S	%	P	%	n	%
Las Vainillas	8	21,62	0	0,00	1	2,70	0	0,00
San Fernando	7	29,16	1	4,16	18	75,00	7	29,16
Haydeé	14	16,47	2	2,35	1	1,17	0	0,00
La Ponderosa	30	61,26	5	10,20	0	0,00	0	0,00
Santa Elena	13	28,26	1	2,17	16	34,78	8	17,39
Don Pocho	3	37,5	0	0,00	1	12,50	0	0,00
Total	75	30,12	9	3,61	37	14,85	15	6,02

P= positivos; S= sospechosos

4.2 Resultado de la encuesta

La encuesta tuvo como objetivo identificar algunos factores de riesgo que podrían predisponer a la presencia de DVB tales como: determinar el propósito y tipo de explotación, manejo de animales, aspectos reproductivos como montas e inseminaciones, abortos, días abiertos, conocimiento de la enfermedad por parte de los ganaderos; para así poder relacionarlos con los resultados obtenidos y de esta manera establecer los posibles factores de riesgo para la presentación de esta enfermedad.

4.2.1 Propósito y tipo de explotación

El 67% de las 6 fincas son de doble propósito, y el 33% se dedican solo a la producción de leche. En el estudio que realizó Betancur y otros. (2007, p. 14), se observó una mayor frecuencia de presentación de la DVB en explotaciones

de doble propósito (64.3%), pero se demostró estadísticamente que el objetivo de explotación no es significativo para la presentación de la DVB, como lo menciona Otte y otros. (1984, p. 382), que la transmisión de la DVB vía genital es predominantemente en las ganaderías extensivas independientemente del tipo de explotación.

En el presente estudio se puede observar que el 6,51% de seropositivos en el primer muestreo y 4,65% en el segundo muestreo pertenecen a las ganaderías de doble propósito, mientras que el porcentaje de seropositivos para las ganaderías de leche es de 2,32% en el primer muestreo y de 0,46% en el segundo; con estos resultados podemos determinar que existe un mayor porcentaje de animales seropositivos en las fincas de doble propósito, mientras que la minoría se encuentra en las que se dedican únicamente a la producción de leche.

Por otro lado el 100% de las haciendas poseen un tipo de explotación de tipo extensiva, en la que los animales son movilizados de un potrero a otro, de acuerdo al consumo de pasto, así mismo, las vacas lecheras son llevadas a potreros designados solo para el ordeño, que por lo general se lo realiza en la mañana. En este estudio, no se puede establecer una relación entre el tipo de crianza, ya que las fincas realizan un manejo únicamente de tipo extensivo.

Cuando el virus ingresa a un hato de crianza de tipo extensiva o semi-extensiva conformado por pocos animales, generalmente se infectan todos, con la presencia o no de signos clínicos característicos de esta enfermedad, pero son categorizados como animales seropositivos y muchos permanecen protegidos a contraer nuevas infecciones, siendo la infección en estos casos autolimitante (Stahl, Lindberg, Rivera, Ortiz y Moreno-López, 2008, pp. 285 – 296); a diferencia del sistema de crianza de tipo intensivo como menciona Aguilar y otros. (2006, p. 152), donde el virus persiste en el hato a menos que se realice un adecuado sistema de control, en donde se mantenga al hato cerrado para disminuir la oportunidad de ingreso del virus y se implanten medidas de

bioseguridad. Jara (2007, p. 60), concluye que el manejo de los hatos ganaderos de una forma extensiva, es el factor más importante para que se disemine la enfermedad en una región ya que los animales recorren y pastan en grandes extensiones de terreno.

En este estudio realizado en la parroquia Canuto se observó que las condiciones climatológicas no son las más favorables, ya que los animales son manejados de forma extensiva, y muchas veces soportan inviernos y veranos muy fuertes, existen haciendas que aplican medidas de bioseguridad, pero otras no lo hacen; no existe el descarte de animales enfermos, los cuales constituyen una fuente importante de contaminación.

4.2.2 Conocimiento de la DVB

La mayoría de los ganaderos no tiene conocimiento alguno de la enfermedad (83%), y solamente el 17% que corresponde a una hacienda, mencionó que si conoce de la enfermedad, pero no de los signos clínicos que esta produce en los animales, concluyendo así que en el 100% de las haciendas se desconoce sobre la enfermedad y el impacto que tiene esta, tanto a nivel productivo como económico. Valle y otros. (1999, pp. 165 – 167), menciona que una de las principales causas para que ingrese el virus a un hato es la falta de información de los ganaderos acerca de la enfermedad asociado a la introducción de animales sin un análisis clínico y confirmación en laboratorio.

4.2.3 Manejo de animales

En lo concerniente a vacunación , el 100% de los ganaderos desconoce acerca de la vacuna que existe contra IBR y DVB, por esta razón nunca se han realizado planes de vacunación en estos hatos; en la actualidad, los ganaderos de estas 6 haciendas tienen conocimiento acerca del virus de IBR, ya que como se mencionó con anterioridad en estas mismas haciendas, se realizó un estudio para determinar la prevalencia de IBR, dando como resultado una

prevalencia del 31,39%, por esta razón el 50% de los ganaderos mencionaron que desean implementar un plan de vacunación contra estas dos enfermedades, ya que por lo general estas se encuentran juntas, como menciona Brownlie y otros. (2000, pp. 176 – 187), las dos enfermedades inmuno-deprimen al hospedador provocando así que ingrese con facilidad el virus de la DVB o IBR respectivamente. Se debería establecer un plan adecuado de vacunación y revacunación anual contra estas dos enfermedades, para el cuál los ganaderos lleven un registro correcto de la aplicación de vacunas realizadas.

Como menciona Cárdenas y otros. (2011, p. 265), los anticuerpos detectados contra el virus de la DVB, fueron inducidos por el virus de la DVB de campo, hay que señalar que ninguno de los ganaderos en estas haciendas vacuna para prevenir esta enfermedad, posiblemente debido al desconocimiento de la enfermedad.

Valera (2007, p. 450) y Odeón (2006, pp. 24 – 30), dicen que la vacunación solamente es efectiva en poblaciones bovinas con alta prevalencia de la enfermedad y cuando se incorpora a un plan sanitario, mencionan de igual manera que la vacuna no eliminará el virus del hato, y que su finalidad es proveer protección contra infecciones transplacentarias para que no den origen a terneros PI.

En estas fincas, no se realiza un plan de vacunación definido contra enfermedades infecciosas, las únicas vacunas que se aplican en el 100% de las haciendas es contra la fiebre aftosa cada 6 meses, con vacunas proporcionadas por parte del gobierno, y la triple bovina cada año, el 17% que corresponde a una hacienda mencionó que vacuna contra neumoenteritis en recién nacidos y el 33% ha vacunado alguna vez contra brucelosis.

En cuanto al manejo de animales, en estas haciendas, una práctica común es la compra y venta de animales, el 67% de los ganaderos menciona que ante la

llegada de nuevos animales la único que se realiza es una desparasitación, y el 33% dijo que no se realiza ninguna práctica, el 100% de los ganaderos no realizan actividades como cuarentena, análisis clínico y confirmación en laboratorio, ante la llegada de estos.

El 67% de los ganaderos, compran bovinos de todas las edades y reproductores en ferias ganaderas y en haciendas dedicadas a la venta de bovinos ubicadas en Santo Domingo de los Tsáchilas, Chone y Guayaquil, siendo esta una importante causa para que el virus se disemine, como menciona Huamán y otros. (2007, p. 146), la amplia distribución del virus de la DVB, puede deberse a factores como, la cercanía de los potreros en donde pastan los animales y a la introducción al hato de animales nuevos sin un análisis clínico y de laboratorio, por otra parte Quispe y otros. (2008, pp. 178 – 180), dice que el movimiento de animales dentro de una zona y las ferias ganaderas a las cuales concurren animales de todo tipo, edad y condición sanitaria, constituye una fuente de contagio potencial; ya que estos animales son llevados a las respectivas zonas de crianza constituyendo un riesgo para los demás animales del hato.

El manejo de registros en estas haciendas es deficiente, el 100% de las haciendas no los maneja correctamente, cuentan con registros elaborados, pero no se da uso de estos, como menciona Jara (2007, p. 60 - 61), el manejo de hatos ganaderos de una forma extensiva sumado a la falta de registros e identificación adecuada de los animales, que limitan el control sobre cada animal, son factores de riesgo que permiten que las enfermedades se propaguen con mayor facilidad.

En lo referente a la alimentación los animales consumen en 40% pastos, 20% concentrado, 27% suplementos y 13% residuos de cosechas. Como ya se mencionó solo el 27% de los ganaderos dan a sus animales suplementos alimenticios tales como: sal mineral y melaza, y únicamente se les proporciona estos en verano, cuando hay escases de forrajes, en el 33% de las haciendas,

los animales únicamente se alimentan de pasto disponible, esto quiere decir que en la época de verano no se les proporciona ningún alimento, ni suplemento extra.

En su estudio realizado en Loja, Jara (2007, p. 62), dice que la falta de alimento y agua, sumado al mal manejo, dan como resultado animales propensos a la inmunodepresión y estrés con facilidad, siendo estas causas importantes para que el virus ingrese al organismo del animal y cause enfermedad. En este estudio se puede observar que solo el 33,33 % de las haciendas disponen de un sistema de riego para la época de verano, por lo cual en otras fincas existe escases de pastura. En el 50% de las fincas el agua que ingieren los animales proviene de esteros y ríos en el invierno, 33,33% maneja pozos para el verano, y el 16,66 % tiene un pozo para invierno y verano, en muchos casos no se dispone de bebederos específicos. Cárdenas y otros. (2011, p. 266), sugiere que la difusión del virus de la DVB en una región determinada, puede ser debido a similares prácticas de manejo, como pasturas y fuentes de agua comunes y compra y venta de animales en la misma región, así como utilización del mismo macho reproductor en las mismas haciendas.

En cuanto al manejo reproductivo de las fincas en estudio se determinó que realizan en 50% la monta natural e inseminación artificial, el 50% restante únicamente utiliza la monta natural, en los cuales no se les ha entregado un certificado de ser libres de enfermedades infecciosas; por esta razón se puede pensar que el virus se haya diseminado por esta vía.

Celedon y otros. (1998, pp. 125 - 132), en el estudio realizado en hatos ganaderos de Chile, menciona que existe alta prevalencia de seropositivos al virus de DVB, lo cual podría explicarse por el hecho de que el 76% de las muestras fueron tomadas de 28 predios de pequeños productores de una comuna de la Región Metropolitana la cual se encontraba en malas condiciones sanitarias y se producía gran intercambio de animales entre predios, uso de monta natural con un mismo toro en diferentes predios. Lo cual

hace suponer que la frecuencia animales infectados en un rebaño está fuertemente influenciada por las condiciones de manejo, puesto que el surgimiento de seropositivos está determinado por la frecuencia con la cual las hembras son infectadas al principio de la preñez.

Según la encuesta realizada en el último año se ha reportado que 16.66% de las haciendas han registrado 2 abortos, el 83,33 % registran muertes perinatales y neonatales con posibles causas como la falta de atención al momento del parto, problemas respiratorios y muerte súbita. Carman, y otros. (2005 pp. 589 – 593), dice que en ambientes como Canadá y EEUU se ha reportado la infección con el virus de DVB y el desarrollo de signos clínicos como el aborto y nacimiento de crías portadoras del virus. Como se puede observar en estos hatos existen gran cantidad de muertes neonatales debidas a distintas causas las cuales fueron mencionadas anteriormente, Hochstein-Mintzel, Reinhardt, Riedemann y Niedda (1986, pp. 53 - 56), manifiestan en su estudio realizado en Chile, que en los hatos bovinos aún existen enfermedades como la DVB e IBR, que tienen un impacto directo sobre la producción, por cuanto disminuyen la fertilidad, producen pérdidas por aborto, alargan el lapso interparto y fundamentalmente constituyen barreras sanitarias para la exportación.

4.3 Factores de riesgo

Al asociar los resultados de laboratorio y los hallazgos de la encuesta, se pudo detectar que uno de los principales factores de riesgo fue la falta de conocimiento de la enfermedad (DVB), así como de otras enfermedades infecciosas por parte de los propietarios y trabajadores de las fincas en estudio; la falta de conocimiento, causa que no se apliquen las adecuadas medidas de bioseguridad provocando así un alto contagio de enfermedades, debido a esto, esta sería una de las principales causas para que el virus de la DVB ingrese a un hato susceptible (Valle et al., 1999, pp. 165 – 167). Quispe y otros. (2008, p. 180), menciona que la presencia del virus en una zona determinada, podría

deberse a la introducción de reproductores y/o al movimiento irrestricto de los animales dentro de la zona, siendo otro factor de importancia y de riesgo las ferias ganaderas, donde concurren animales de todo tipo, raza, edad y condición sanitaria, constituyendo un potencial fuente de contagio ya que los ganaderos compran aquí sus animales y muchas veces estos son para la crianza siendo un riesgo para los demás animales susceptibles del hato.

Otros factores de riesgo encontrados en este estudio, fueron el tipo de explotación, la falta de alimento y de agua (especialmente en la época de verano), como menciona Jara (2008, p. 62), la falta de alimento sumado al mal manejo dan como resultado animales desnutridos, haciéndolos más propensos a que el virus entre con facilidad, así mismo el manejo de los hatos ganaderos de una forma extensiva sumado a la falta de registros e identificación de los animales, así como la ausencia de controles sanitarios, son factores de riesgo que permiten que las enfermedades se propaguen con mayor facilidad. Por otra parte Stahl y otros. (2008, pp. 285 - 296), dice que cuando el virus ingresa a un hato de crianza extensiva o semi-extensiva, generalmente todos se infectan y quedan protegidos contra reinfecciones.

La edad es otro factor de riesgo, se puede asumir que, a más edad mayor probabilidad de que los animales sean seropositivos, debido a que existe mayor tiempo de vida, por lo cual mayor exposición, susceptibilidad y disminución del sistema inmunológico, además de inmunosupresión en enfermedades sistémicas de origen viral, también se da un arresto o depresión de los tejidos linfoides (Chamizo, 1995, pp. 92 – 94); en el análisis realizado se encontró que los animales mayores a 8 años, son los que presentan mayormente en virus DBV, y estos se encuentran mezclados dentro del predio entre animales de todas las edades y estados reproductivos, sin embargo al análisis estadístico no se encontró diferencia significativa, asumiendo así que en este estudio no es un factor predisponente para la DVB.

En cuanto a la práctica de monta natural que se realiza en la zona de estudio, esta podría determinarse como un importante factor de riesgo, ya que los machos reproductores provienen de distintos lugares del país, estos no son seleccionados y no presentan una certificación de estar libres de enfermedades infecciosas, las cuales son diseminadas debido a la concentración del virus en las secreciones (Kirkland, Mackintosh y Moyle, 1994, pp. 527 – 529); lo que ocurre dentro de los hatos en estudio es que se utiliza un mismo reproductor para servir a muchas hembras, e inclusive este es prestado entre haciendas vecinas, razón por la cual se constituye uno de los principales focos de infección.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se determinó un aumento de casos de DVB entre el primero y segundo muestreo, no se evidenció sintomatología clínica evidente en los animales positivos; sin embargo, al diagnóstico de laboratorio mediante el test de ELISA indirecto se identificó un aumento de anticuerpos.
- Entre los factores de riesgo que se identificaron en este estudio se encuentran la falta de conocimiento de la enfermedad, tipo de explotación, manejo y edad de los animales, resultando este último no significativo al análisis estadístico, no se pudo determinar si el sexo y la raza son factores de riesgo para DVB, debido al bajo porcentaje de machos muestreados, así como la gran variedad de mezclas de razas ocasionó un muestreo heterogéneo.
- La falta o uso inadecuado de registros en las haciendas ganaderas, dificultó la toma de información y su posterior manejo de los animales así como, para una mejor correlación de los datos con posibles enfermedades infecciosas.
- Este estudio evidencia la presencia de la enfermedad y serviría de base para el establecimiento de estudios posteriores.

5.2 Recomendaciones

- Se debe establecer un programa de control de la DVB en la zona de estudio, basado en vigilancia epidemiológica, monitoreo, diagnóstico adecuado y fortalecer las medidas de bioseguridad tales como movimiento de animales, ingreso de personas y adecuado manejo de productos, así como considerar el uso de una vacuna, siempre y cuando sea necesario, para evitar la propagación de esta enfermedad.
- Se recomienda utilizar la prueba de ELISA antígenos y anticuerpos en animales no vacunados, como requisito para los que van a ser destinados a reproducción, para comprobar si existe o no la enfermedad, y así evitar que estos animales la transmitan.
- Implementar un buen manejo de registros, para así facilitar la identificación y manejo de los animales y de esta manera posibilitar la utilización de la información en estudios futuros.
- Mejorar el conocimiento de las enfermedades infecciosas como la DVB, a través de la difusión de medidas de control mediante charlas, visitas técnicas y campañas de información y difusión a las fincas, con lo cual se podría evitar el aumento de esta enfermedad así como también de otras enfermedades infecciosas del ganado bovino.
- Realizar estudios complementarios para obtener información del estado sanitario de los hatos en esta zona, en cuanto a las enfermedades infecciosas, con la finalidad de evitar la propagación de las mismas.

REFERENCIAS

Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (Agrocalidad). 2013. Laboratorio de diagnóstico animal. Recuperado el 28 de enero del 2013 de: <http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/index.php/laboratorios/areas/lab-de-diagnostico-animal>.

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.

Álvarez, S., Rivera, H., Pezo, D. y García, W. (2002). Detección de anticuerpos contra pestivirus en ruminantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. Inv. Vet., Perú.*, 13, 46 – 51.

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

Ames, T. y Baker, J. (Octubre, 1990). Management practices and vaccination program that help control BVD virus infection. En: *Symposium on BVD. Veterinary Medicine*, 15-24.

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

Baker, JC. (1990). Clinical aspects of bovine virus diarrhoea virus infection. *Revue scientifique et technique (International office of Epizotics)*, (9), 25 - 41.

Berg, J., Tymoczko, J. y Stryer, L. (2008). *Bioquímica*. Ed. Reverté, 6ta. Edición. Barcelona.

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

Biberstein, E. y Chung, Y. (2007). *Tratado de microbiología veterinaria*. Ed. Acribia. España.

Bitsch, V. y Ronsholt, L. (1995). Control of bovine viral diarrhea virus without vaccines. *Edit. Food. Anim. Prac.* 11, 627 – 640.

Bolin, S. y Ridpath, J. (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. (Mayo, 2006). Diarrea viral bovina. Cómo afecta a los animales. INIA. Divulga. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. pp. 1 - 22.

Brodersen, B., White, A. y Smith R. (1998). Immunohistochemical test on skin biopsies as a method for detection of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *Proc. Am. Assoc. Bov. Pract.* 31, 240 – 246.

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

Cabello, K., Quipe, R. y Rivera, H. (2006). Frecuencia de los virus Parainfluenza 3, respiratorio sincitial, y diarrea viral bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina de Cusco. *Rev. Inv. Vet., Perú* 17(2), 167 – 172.

Cabezas, A. (2012). *Determinación de la presencia de la Diarrea Viral Bovina (DVB), en las Islas San Cristóbal y Santa Cruz del Archipiélago de Galápagos*. Tesis Medicina Veterinaria Y Zootecnia. UDLA, 43 – 81.

Cajal, C. y Álvarez, A. (2012). Diarrea viral bovina y sus múltiples efectos en la productividad de hatos lecheros. Recuperado el 05 de enero del 2013 de: <http://www.cigal.biz/ponencias/diarrea.html>.

Campos, R. (2005). Manejo sanitario del ganado: diagnóstico y tratamiento de algunas enfermedades de los bovinos. Administración de medicamentos y recomendaciones sanitarias prácticas. MC Investigador del Programa Salud Animal, CIRNO-CECAR., 25 - 26.

Cárdenas, C., Rivera, H., Araínga, M., Ramírez, M. y De Paz, J. (2011). Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y de animales portadores del virus en bovinos en la provincia de Espinar, Cusco. *Rev. Inv. Vet. Perú* 22 (3), 261 – 267.

Carman, S., Carr, N., De Lay, J., Baxi, M., Deregt, D. y Hazlett, M. (2005). Bovine viral diarrhea virus in alpaca: abortion and persistent infection. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation.* (17), 589 – 593.

Celedon, M., Roco, L., Quinteros, G., Santibañez, M. y Berríos, P. (1997). Puesta en evidencia del VDVB en bovinos clínicamente afectados. *Arch. Med. Vet.* 29(2), 189 – 195.

Chamizo, E. (1995). *Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos*. México. Ed. Mexicali, BC.

De la Torre, E. (2012). *Determinación de la prevalencia de la enfermedad IBR (Rinotraqueítis Infecciosa Bovina) en 4 hatos ganaderos de la parroquia Canuto del cantón Chone en la provincia de Manabí*. Tesis Medicina Veterinaria y Zootecnia. UDLA, 1 – 80.

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

Deregt, D. y Loewen, G. (1995). Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease. *Veterinary Journal* (36), 371– 377.

Draghi de Benítez, M. (2002). VI Jornada Ganadera. INTA. Recuperado el 15 de febrero del 2013 de: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/38-enfermedades_de_la_reproduccion.pdf

Drake, T., Moore, D., Whitlock, R., Castro, A., Hattel, A., Reams, R. y Stoffregen, W. (1996). An outbreak of acute BVD in Pennsylvania cattle. *International Symposium Bovine Viral Diarrhea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 208.

Dubovi E. (1986). Fatal BVD virus-induced disease: role of persistently infected animals. *The Bovine Procedure*, 18.

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

Edwards, S. (1990). The diagnosis of bovine viral diarrhoea - mucosal disease in cattle. *Rev. Sci. Tech. Offint. Epiz.* 9, 115 – 130.

Fenner, F., Bachmann, P., Gibbs, P., Murphy, F., Studdert, M. y White, D. (1992). *Virología Veterinaria*. Zaragoza, España : Acribia, pp. 145.

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

Figuroa, M. (1984). *Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica*. Ed. EUNED. Costa Rica.

Fiedler, H., Cubillos, V., Paredes, E., Reinhardt, G., Riedemann, S., Niedda, M. y Aguilar, M. (1986). Enfermedad mucosa/diarrea viral bovina. Hallazgos anatomopatológicos de los primeros casos en Chile. *Arch. Med. Vet.* 18, 151 – 155.

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

Gasque, R. (2008). *Enciclopedia Bovina: Diarrea Viral Bovina*. México DF, México: FMVZ, pp. 125 – 130.

Gibbs, E. (1987). *Enfermedades víricas de los animales de abasto*. Ed. Acribia. España.

Giraudó, J. (2000). Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino, Universidad Nacional del Rosario, recuperado el 24 de diciembre del 2012 de: <http://www.fveter.unr.edu.ar/Objetos/Sueros/DVB-%20Giraudó.htm>

Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Chone. (2012). Recuperado el 11 de julio del 2012 de: <http://www.chone.gob.ec/portal/index.php/demo-content/geograf%C3%ADa>.

Gobierno Provincial de Manabí. 2012. Recuperado el 8 de septiembre del 2012 de: <http://www.manabi.gob.ec/cantones>.

Gómez-Lucia, E., Del Mar Blanco, M., y Doménech, A. (2006). *Manual de Inmunología Veterinaria*. Madrid, España: Pearson Education.

Gogorza, L., Morán, P., Larghi, J., Iglesias, M. y Pérez, A. (2001). Vacunación contra la diarrea viral bovina; fortalezas y limitaciones. *Taurus*, 3(11), 4 – 15.

Grooms, D. (1998). Role of bovine viral diarrhea virus in the bovine respiratory disease complex. *Bov. Pract.* 32, 7 – 12.

Guía de Chone. Recuperado el 8 de septiembre del 2012 de: <http://www.guiadechone.com/index.php?op=2&cver=4&foto=5>

Haines, D., Clark, E. y Dubovi, E. (1992). Monoclonal antibody–based immunohistochemical detection of bovine viral diarrhea virus in formalin fixed, paraffin embedded tissues. *Vet. Pathol.* 29, 27 – 32.

Hartman - Bode Science Center. (2013). Consultado el 02 de enero del 2013 de: <http://www.bode-science-center.com/center/glossary/bvd-virus.html>

Hochstein-Mintzel, V., Reinhardt, G., Riedemann, S. y Niedda, M. (1986). Serología de rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) en 21 predios de la Décima Región de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria* (18). pp. 53 - 56.

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

Houe, H. (2003). Economic impact of BVDV infection in dairies. *Edit. Biologicals* 31, 137 – 143.

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.

IDEXX Laboratories. (2013). IDEXX BVDV Ab Test. *Test With Confidence.*, pp. 22 – 26.

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2000). Recuperado el 13 de julio del 2012 de: http://www.inec.gob.ec/estadisticas/index.php?option=com_remository&Itemid=&func=startdown&id=68&lang=es&TB_iframe=true&height=250&width=800.

Jara, D. (2007 – 2008). *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*. Tesis Ing. Agrop. UTPL, pp. 30 – 79.

Karhs, R. (2006). *Enfermedades víricas del Ganado vacuno*. ed. The Iowa State University press.

Kelling, C. (1996). The effects of BVDV infection on cattle. *Vet. Med.* 91, 862 – 863.

Kirkland, P., Mackintosh, S. y Moyle, A. (1994). The outcome of widespread use of semen from bull persistently infected with pestivirus. *Vet. Rec.* 135, 527 - 529.

Kobrak, A. y Wever, E. (1997). Bovine diarrhea virus: an update. *Rev. Argent. Microbiol.* 29, 47 – 61.

Laamanen, U., Neuvonen, P., Yliviuhkola, M. y Veijalainen, L. (1997). Comparison of RT-PCR assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in field samples. *Res. Vet. Sci.* 63, 199.

Larson, R., Pierce, V., Grotelueschen, D. y Wittum, T. (2002). Economic evaluation of beef cowherd screening for cattle persistently-infected with bovine viral diarrhea virus. *Bov. Pract.*, 36 (2), 106 – 112.

Lértora, W. (2003). Diarrea Viral Bovina: Actualización. *Rev. Vet. FCV UNNE*, N° 14 (1). Argentina., pp. 40 – 48.

Lindberg, A., y Alenius, A. (1999). Principles for eradication of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in cattle populations. *Vet. Microbiol.*, 64, 197 – 222.

Machado, A., García, M. y Silveira, E. (Marzo, 2010). Determinación de los factores de riesgo y adecuación de medidas de recuperación en un foco de diarrea viral bovina. *Revista electrónica de Veterinaria*, 11 (3), 1695 – 7504.

Mars, M., Brusckke, C. y Van Oirschot, J. (1999). Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet. Microbiol.*, 66, 197–207.

Martínez, P. y Riveira, I. (2008). *Antecedentes, Generalidades y Actualización en aspectos de Patogénesis, Diagnóstico y Control de la Diarrea Viral Bovina y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina*. Bogotá, Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Agrícola Veterinaria., pp. 12 – 15.

McGowan, M., Kafi, M. y Young, M. (Octubre, 2003). The effect of pestivirus on the in vitro development of bovine Morula and Blastocysts. *Archieve Razi Institute.* (57), 1051 – 1053.

Meyling, A., Hone, H. y Jensen, A. (1990). Epidemiology of BVD virus. *Rev. Sci. Tech. (France)*. 7, 75 – 93.

Moennig, V. y Liess, B. (1995). Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Food. Anim. Pract.*, 11, 477 – 487.

Morales, C. y Siever, M. (2002). *Detección de terneros con infección congénita con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. Lima*. Tesis Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos., pp. 45 – 46.

Nettleton, PF. y Entrican, G. (Diciembre, 1995). Ruminant Pestiviruses. *The British Veterinary journal*, (151), 615 – 642.

Obando, C. y Rodríguez, J. (2005). Diarrea Viral Bovina. *Manual de Ganadería de Doble Propósito*. México DF, México: FMVZ., pp. 317 – 321.

Obando, C., Ocanto, D., Hidalgo, M., Rodríguez, J. y Durán, R. (2004). Efecto de la infección con los virus de rinotraqueítis infecciosa bovina y diarrea viral bovina sobre la reproducción en bovinos no vacunados. *Revista Científica FCV Vol. XIV, (3)*, 207 – 212.

Odeón, A., Späth, E., Paloma, E., Leunda, M., Fernández, I., Pérez, S., Kaiser, G., Draghi, M., Cetrá, B. y Cano, A. (2001). Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, Herpesvirus Bovino y Virus Sincicial Respiratorio en Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria*. Vol. 82(4), 216 – 220.

Odeón, A. (2006). Diarrea Viral Bovina (DVB). *Producir XXI*. Bs.As., 14(174), 1 – 30.

Organización Mundial de la Salud Animal. 2012. Mapas de distribución mundial de la Diarrea Viral Bovina. Recuperado el 9 de mayo del 2013 de: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap

Otte, E., Navarrete, M. y Orjuela, J. (1984). Resultados de una encuesta realizada sobre producción y salud animal en Montería-Córdoba, Colombia. Proyecto Colombo Alemán ICA-GTZ. Informe técnico, 384.

Palfi, V., Houelt, M., Philipsen, J. (1993). Studies on the decline of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) maternal antibodies and detectability of BVDV in

persistently infected calves. Acta veterinaria Scandinavica. National Veterinary Laboratory, Copenhagen, Denmark. 34. (1).

Paton, D. (Abril, 1995). Pestivirus Diversity. Central Veterinary Laboratory. Journal of Comparative Pathology. (112), pp. 215 – 236.

Pedreira, M., Risalde, M., Romero, J., Da Silva, A., Alexandre, A., Núñez, A., Ruiz, E., Gómez, J., Sanchez, J. (Diciembre, 2007). Diarrea vírica bovina: etiología, formas clínicas, distribución del virus y patogenia. Real Academia de Andalucía Oriental, Anales, Vol 20 (1), 8.

Pellerin, C., Vandenhurk, J., Lecomte, J. y Tijssen, P. (1994). Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. Virology 203, 260 – 268.

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

Potgieter, L. (1986). Pathogenesis of viral infections. Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice: 16, 1049 – 1073.

Proaño, J. (2008). *Programa de fruticultura, realizado en INIAP, Granja experimental Tumbaco*. Tesis de Ingeniería Agronómica. Universidad Técnica de Cotopaxi., pp. 45 – 46.

Quispe, R., Cama, A., Rivera, H. y Arainga, 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.

Rebhun, W. (1995). Enfermedades del Ganado vacuno lechero Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Reinhardt, G., Riedemann, S., Fiedler, H., Nieddam, M., Aguilar, M. y Paredes, E. (1986). Diarrea viral bovina/enfermedad mucosa: primer aislamiento del agente causal en Chile. Archos. Med. Vet., Chile, 43, 157 – 160.

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: seroneutralización y enzimoimmunoensayo indirecto (Elisa -I). arch. med. Vet., 5 – 7.

Ridpath, J., Bendfeldt, S., Neill, J. y Liebler-Tenorio, E. (2006) Lymphocytopathogenic activity in vitro correlates with high virulence in vivo for BVDV type 2 strains: Criteria for a third biotype of BVDV. *Virus Research* (118), 62 – 65.

Ridpath, J. y Bolin, S. (1991). Antigenic and genomic comparison between non-cytopathic and cytopathic bovine viral diarrhoea virus isolated from cattle that had spontaneous mucosal disease. *J Gen Virol* (72), 725 – 729.

Ridpath, J. y Bolin, S. (1991). Hybridization analysis of genomic variability among isolates of bovine viral diarrhoea virus using cDNA probes. *Mol Cell Probes*; 5, 291 – 298.

Rivera, H. (1993). El virus de la diarrea viral bovina (DVB). *Rev. Inv. Pec. IVITA. Perú.*, 6, 1 – 9.

Rivera, H., Valdivia, L. y Benito, A. (2001). Diarrea viral en bovinos lecheros de crianza semi extensiva de la Provincia de Parinacochas, Ayacucho. *Rev. Inv. Vet., Perú* (Supl 1), 117 – 122.

Rondón, I. (2006). Diarrea Viral Bovina: patogénesis e inmunopatología. *Rev. MVZ Córdoba* 11 (1), 694 - 704.

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.

Sandvik T. 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.* 64, 123–134.

Sandvik, T. (2004). Progress of control and prevention programs for Bovine Viral Diarrhoea Virus in Europe. *Vet. Clin. Food. Anim.* 20, 151 – 169.

Schreiber, P., Dubois, E., Dreze, F., Lacroix, N., Limbourg, B. y Coppe, P. (1999). Prevalence of bovine virus diarrhoea virus infection in Belgian White Blue cattle in Southern Belgium. *Vet. Quart.* 21, 28 – 32.

Schweizer, M. y Peterhans, E. (2001). Noncytopathic bovine viral diarrhoea virus inhibits double-stranded RNA-induced apoptosis and interferon synthesis. Switzerland Bern University, Institute Veterinary Virology, Journal of Virology 10 (75), 4692 – 4698

Shimizu, M., Saton, K., Vishiota, N., Yoshino, T., Mamotani, E. y Ishikawa, Y. (1989). Serological characterization of virus isolated from experimental mucosal disease. Vet. Microbiol., 19, 13 – 21.

Sobalvarro, A. (2003). *Estudio epidemiológico de rinotraqueítis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en 10 explotaciones ganaderas de Honduras*. Tesis, Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciatura, pp. 6 – 13.

Stahl, 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 región in Peru. Prev. Vet. Med. 83., 285 – 296.

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

Thrusfield, M. (1990). *Epidemiología Veterinaria*. Londres, Inglaterra: Butterworths.

Tremblay, R. (1996). Control de la Diarrea Viral Bovina-50 años después de su aparición. Wellington, Canadá: Ontario Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs, pp. 850 - 860.

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

Valle, P., Martin, S., Tremblay, R. y Bateman, K. (1999). Factors associated with being a bovine-virus diarrhoea (BVD) seropositive dairy herd in the More and Romsdal County of Norway. Prev Vet Med 40, 165 – 177.

Van Oirschot, J., Brusckhe, M. y Van Rijn, P. (1999). Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. Vet Microbiol 64, 169 – 183.

Vanroose, G., Nauwinck, H., Van Soom, A., Vanopdenbosch, E. y De Kruif, A. (1998). Replicación OF Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viralk Diarrhea Virus in Zona – Free and Zona – Intact In Vitro – Prodeded Bovine Embryos and the Effect on Embryo Quality. *Biology of Reproduccion*. 58, 857 – 866.

Vargas, D., Jaime, J. y Vera, V. (2009). Perspectivas para el control del virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 22, 677 – 688.

Voges, H., Horner, G., Rowe, S. y Wellenberg, G. (Marzo, 1998). Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immunocompetent, non-viraemic bull. *Veterinary Microbiology*. Elsevier. (61), 165 – 175.

Walz, P., Bell, T., Wells, J. y Grooms, D. (2001). Relationship between degree of viremia and disease manifestation in calves with experimentally induced bovine viral diarrhea virus infection. *American Journal of Veterinary Research* (62), 103.

Ward, P. y Misra, V. (1991). Detection of bovine viral diarrhea virus, using degenerate oligonucleotide primers and the polymerase chain reaction. *Am. J. Vet Res*. 52: 1231 – 1236.

ANEXOS

Anexo 2. Registro de fincas

Registro de Fincas						
Propietario:			Código:			
Hacienda:			Ubicación:			
Teléfono:			Coordenadas:			
# total de bovinos:			Tipo de explotación:			
Otras especies	Cerdos		Perros		Caballos	
	Aves		Gatos		Otros	
Procedencia de Bovinos comprados:						
Manejo Sanitario						
	Tipo		Frecuencia meses:			
Desparasitaciones			3	6	12	Otros
	Oral					
	Inyectable					
	Aspersión					
			6	12	24	Otros
Vacunas	Brucelosis					
	Fiebre Aftosa					
	Triple Bovina					
	IBR-DVB					
	Otras					
Manejo Reproductivo						
Tipo de Reproducción	Inseminación Artificial			Monta Natural		
	Procedencia del semen	Marca:	Procedencia del toro	Lugar:		
		País:				
Destete:						
Alimentación:						
	Cantidad		Época del año		Tipo	
Pasto						
Concentrado						
Suplemento						
Residuos de cosechas						
Manejo de registros						
Nacimiento			Producción de leche	Ltrs/día		
Partos			Otros			

Anexo 3. Encuesta

Encuesta epidemiológica sobre Diarrea Viral Bovina (DVB)

Esta encuesta está dirigida a los ganaderos y administradores de los hatos bovinos de la parroquia Canuto, cantón Chone. Los datos obtenidos en esta encuesta son estrictamente confidenciales y solamente serán usados con fines de investigación de los factores que inciden en la presencia de la DVB.

1. Tipo de explotación que posee/maneja:

Lechera Cárnica Mixta

2. ¿Cuántas hectáreas están destinadas a la ganadería?

Total Ganadería.....

3. ¿Cuántos animales posee/maneja usted en el hato?

4. Realice una categorización de los animales de su hato (número).

Terneros (0 – 6 meses)

Fierros (6 – 13 meses)

Toretos

Toros

Terneras (0 – 6 meses)

Vaonas fierro

Vaonas

Vacas vientre

Vacas secas

Rejo

Total

5. ¿Realiza usted vacunación en el hato? SI NO

Si realiza vacunación pasar a la pregunta 6 sino pasar a la pregunta 8.

6. ¿Contra qué enfermedades realiza la vacunación en su hato y cuál fue la última fecha que vacuno contra estas?

Enfermedades	Fecha
Brucelosis
Fiebre Aftosa
Triple Bovina
IBR – DVB
Otras.....

7. ¿Ha realizado en el hato algún plan de vacunación contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina?

Sí No

Si respondió que sí, ¿qué vacuna utiliza usted y a qué edad vacuna a sus animales?

.....

8. ¿Conoce usted sobre la Diarrea Viral Bovina (DBV)? SI NO

9. ¿Conoce los signos clínicos que presenta la DVB? SI NO

10. Ha detectado en el hato posibles casos de Diarrea Viral Bovina?

Finca

Zona

No

11. ¿Ante la llegada de nuevos animales al hato, qué actividades se realizan?

Cuarentena	¿Cuántos días?.....
Desparasitación	
Vacunación	
Ninguna	

Gracias por su colaboración





Anexo 4. Fotos

Materiales



Muestreo



Manejo de desechos	
	
Procesamiento de las muestras	
	
Resultados	
Primer muestreo	Segundo muestreo
