

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL  
BOVINA (DVB) Y SU RELACIÓN CON LOS PROBLEMAS  
REPRODUCTIVOS EN BOVINOS DE CARNE PERTENECIENTES A  
FINCA MEDIO MONTE, ESCUINTLA DURANTE EL PERÍODO DE  
MAYO A JULIO 2018**

**ANA LUCIA SANTIZO PAZ**

**MÉDICA VETERINARIA**

**GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2019**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL  
BOVINA (DVB) Y SU RELACIÓN CON LOS PROBLEMAS  
REPRODUCTIVOS EN BOVINOS DE CARNE PERTENECIENTES A  
FINCA MEDIO MONTE, ESCUINTLA DURANTE EL PERÍODO DE  
MAYO A JULIO 2018**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD**

**POR**

**ANA LUCIA SANTIZO PAZ**

Al conferírsele el título profesional de

**Médica Veterinaria**

En el grado de Licenciado

**GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2019**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**JUNTA DIRECTIVA**

DECANO: M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil  
SECRETARIO: Dr. Hugo René Pérez Noriega  
VOCAL I: M.Sc. Juan José Prem González  
VOCAL II: Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta  
VOCAL III: Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar  
VOCAL IV: Br. Yasmín Adalí Sian Gamboa  
VOCAL V: Br. Maria Fernanda Amézquita Estévez

**ASESORES**

**MSc. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ GUERRERO**

**M.V. SERGIO FERNANDO VÉLIZ LEMUS**

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

### **DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) Y SU RELACIÓN CON LOS PROBLEMAS REPRODUCTIVOS EN BOVINOS DE CARNE PERTENECIENTES A FINCA MEDIO MONTE, ESCUINTLA DURANTE EL PERÍODO DE MAYO A JULIO 2018**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

### **MÉDICA VETERINARIA**

## **ACTO QUE DEDICO A:**

### **A DIOS:**

Porque ha sido El quien ha sustentado mis pasos y direccionado mi camino. Recordando que el temor a Jehová es el principio de la sabiduría. Prov. 1:7 Todo ha sido, es y será gracias a Él.

### **A MI PAPA**

#### **LUIS FELIPE:**

Por ser mi mayor ejemplo de esfuerzo y dedicación. Sus enseñanzas y consejos me han hecho lo que soy. Y su amistad bendice mi vida todos los días.

### **A MI MAMA**

#### **MARICIELO:**

Por su amor, cuidados y apoyo incondicional. Por siempre levantarse desde muy temprano conmigo, ser mi amiga y compañera de desvelos.

### **A MI HERMANO**

#### **GUILLERMO:**

Por su apoyo, paciencia, enseñanzas y sobre todo cuidarme. Por ser un ejemplo como hermano mayor.

### **A MI HERMANITA**

#### **KATIA:**

Por ser mi mejor compañía y alegrar todos mis días.

### **A ALEJANDRO:**

Por su cariño y amistad que han venido a sumarle tanto a mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MIS PADRES:**

**LUIS Y MARICIELO**

Hoy los honro por ser unos padres trabajadores, ejemplares, y darme siempre su apoyo incondicional.

### **A MI ABUELITA**

**MAIKY**

Por su amor y cuidado. Sus oraciones que han sido el respaldo de nuestra vida.

### **A MIS AMIGOS:**

**JOANA Y DERICK**

Por que sin duda alguna Dios puso su valiosa amistad en mi camino.

### **A MIS ASESORES:**

**DR. FREDY GONZALEZ**

**Y DR. SERGIO VELIZ**

Por su tiempo y disposición para compartir su conocimiento y experiencia en la realización de este estudio. Pero sobre todo su cariño y amistad hacia mí y hacia mi familia.

**A:**

Todos ustedes acá presentes, por su amable presencia, y su muestra de cariño.

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. OBJETIVOS.....	2
2.1 General.....	2
2.2 Específicos .....	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3.1 Diarrea Viral Bovina.....	3
3.1.1 Etiología .....	4
3.1.2 Epidemiología .....	5
3.1.2.1 Prevalencia y distribución geográfica.....	5
3.1.2.2 Hospederos .....	5
3.1.2.3 Fuente de infección.....	6
3.1.2.4 Transmisión .....	6
3.1.3 Patogenia.....	7
3.1.4 Manifestaciones clínicas .....	7
3.1.5 Diagnóstico .....	11
3.1.5.1 Serología .....	11
3.1.5.2 Detección del virus o componentes virales.....	12
3.1.5.2.1 Aislamiento viral.....	12
3.1.5.2.2 ELISA .....	13
3.1.5.2.3 Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica.....	14
3.1.5.2.4 Detección del ácido nucleico viral – PCR .....	14
3.1.6 Prevención .....	14
3.1.6.1 Control sanitario.....	15
3.1.6.2 Animales Persistentemente Infectados.....	15
3.1.6.3 Vacunación .....	16
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
4.1 Materiales .....	17
4.1.1 Recurso Humano .....	17

4.1.2	Recursos de campo .....	17
4.1.3	Recursos de laboratorio .....	17
4.1.4	Recursos biológicos .....	17
4.1.5	Recursos de escritorio.....	18
4.2	Metodología .....	18
4.2.1	Área de estudio .....	18
4.2.2	Diseño del estudio.....	18
4.2.3	Tamaño de la muestra .....	18
4.2.4	Criterio de inclusión.....	19
4.2.5	Análisis estadístico.....	19
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	20
VI.	CONCLUSIONES .....	22
VII.	RECOMENDACIONES .....	23
VIII.	RESUMEN .....	24
	SUMMARY.....	25
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

# I. INTRODUCCIÓN

Diarrea viral bovina (DVB) es una enfermedad complicada y puede causar una amplia variedad de problemas en un hato de bovinos. En hembras gestantes, las infecciones pueden llevar a la muerte embrionaria, abortos o bien los terneros pueden nacer con defectos congénitos. Las infecciones por DVB también tienen un efecto inmunosupresor y puede causar que los bovinos sean más susceptibles a otros agentes infecciosos. Los terneros expuestos a este virus pueden presentar diarrea severa, aunque la enfermedad respiratoria son los brotes más comunes. El efecto inmunosupresor de este virus también hace que los terneros sean más susceptibles a otros agentes infecciosos.

La prevención de enfermedades es de suma importancia para la producción y salud de un hato. Al igual que una nutrición adecuada, desparasitación estratégica y saneamiento. El primer paso para diseñar o evaluar un programa de vacunación es conocer las enfermedades presentes o que pueda llegar afectar el hato.

Finca Medio Monte propiedad de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia utilizada con fines docentes, consta de un hato de ganado de carne del cual se desconoce su estado sanitario actual. Por lo que, para poder determinar un programa de vacunación específico para el hato, es necesario obtener información sobre su estado sanitario.

Esta investigación busca aportar información necesaria, mediante la determinación de la prevalencia de Diarrea Viral Bovina y su relación con problemas reproductivos que pudieran estar afectando, a tomar en cuenta al realizar un programa de vacunación.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 General**

Contribuir al estudio de la situación de Diarrea Viral Bovina en hato de carne perteneciente a la Finca Medio Monte.

### **2.2 Específicos**

Determinar la existencia de anticuerpos contra Diarrea Viral Bovina en el hato de carne perteneciente a la Finca Medio Monte.

Establecer si existe relación entre los problemas reproductivos y los resultados de la prueba serológica.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Diarrea Viral Bovina

Diarrea viral bovina (DVB) es una enfermedad viral económicamente importante en muchos países, que afecta tanto a rumiantes domésticos como a salvajes. El virus posee tropismo por las células del sistema inmune y células epiteliales de los tractos reproductivo, entérico y respiratorio ocasionando la replicación en estas células y un conjunto de patologías que no observa en otros agentes infecciosos. (Obando & Rodríguez, 2005)

Esta enfermedad es causada por un pestivirus que puede causar una amplia variedad de problemas en un hato de bovinos. Presenta varias formas clínicas desde casos subclínicos a casos agudos que pueden provocar abortos, infertilidad, inmunosupresión y la enfermedad de las mucosas que es mortal.

La infección por DVB está muy extendida y provoca pérdidas económicas que a menudo se subestiman porque no siempre se pueden atribuir de forma clara a esta enfermedad.

Los animales infectados de forma persistente son una fuente de pérdidas por sí mismos. Estos animales no suelen alcanzar todo su potencial genético y en general presentan una menor ganancia de peso, una mayor sensibilidad a las enfermedades y una disminución de la fertilidad. Excreta el virus continuamente durante toda su vida, lo que provoca pérdidas relacionadas con la reproducción en los animales del rebaño que no están inmunizados. Por esta razón, los animales persistentemente infectados, deberían identificarse y eliminarse del rebaño.

Las infecciones por DVB también tienen consecuencias desfavorables para la fertilidad puesto que provocan un mayor riesgo de muerte fetal y embrionaria, lo que

se traduce en tasas de concepción y gestación menores, así como en una disminución del rendimiento reproductivo (Zoetis, 2013).

### **3.1.1 Etiología**

El virus de la Diarrea Viral Bovina fue reconocido por primera vez en Estados Unidos en hatos con síndrome agudo. Se describió como una enfermedad esporádica caracterizada por diarrea profusa, emaciación, ulceraciones en la mucosa del tracto alimenticio y una mortalidad alta. (Obando & Rodríguez, 2005)

La Diarrea Viral Bovina es producida por un virus ARN clasificado en el género pestivirus y pertenece a la familia *Flaviviridae*. El genoma es un ARN con polaridad positiva, no segmentado y de banda sencilla, posee una longitud de 12.5 kilobases de forma esférica con un diámetro entre 40 a 60nm. Está constituido por una cápside icosaédrica, rodeado de una envoltura lipoprotéica tomada de la membrana citoplasmática (Deregt & Loewen, 1995).

Existen dos biotipos de DVB, basado en el efecto de ellas sobre los cultivos celulares: cito patogénico (CP) y no patogénico (NCP), aceptándose que el 90% de las infecciones por DVB en los bovinos se deben a cepas NCP (Obando & Rodríguez, 2005).

El biotipo citopático induce destrucción masiva celular mediante la formación de vacuolas citoplasmáticas lo que ocasiona la muerte de las células pocos días después de la infección, mientras que el biotipo no citopático no induce ningún efecto aparente en cultivo. Esto no implica que los biotipos no citopáticos sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar infección persistente (Obando & Rodríguez, 2005).

El biotipo citopático se aísla únicamente de animales con enfermedad de las mucosas y se originan por mutación a partir del biotipo no citopático; ya sea por

depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral ( Vargás & Góngora, 2012).

Los avances en secuenciación genética permitieron establecer dos genotipos: el 1 y 2, caracterizados por diferencias en la región que codifica para la proteína E2 principalmente. El genotipo 2, el cual surgió en Norte América y Canadá se correlaciona con sintomatología hemorrágica y alta mortalidad. De esta manera, en la naturaleza existen 2 biotipos y 2 genotipos. Adicionalmente, cada genotipo presenta sub-genotipos los cuales muestran una homología entre sí del 80 al 85% (Berkow, Beers, & Fletcher, 1997; Obando & Rodríguez, 2005).

### **3.1.2 Epidemiología**

#### **3.1.2.1 Prevalencia y distribución geográfica**

Esta enfermedad tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas (Lértora, 2003).

La prevalencia de seropositivos, en los países donde ha sido evaluada, varía entre 50 y 90%. Los títulos de anticuerpos generados por los bovinos, infectados naturalmente con DVB, disminuyen lentamente y por lo común permanecen toda la vida del animal (Deregt & Loewen, 1995).

#### **3.1.2.2 Hospederos**

Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctilo.

Los Pestivirus rumiantes infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres. Estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los Pestivirus cruzan la barrera de especie (Lértora, 2003).

### **3.1.2.3 Fuente de infección**

La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos persistentemente infectados. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos (Lértora, 2003).

### **3.1.2.4 Transmisión**

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

- Transmisión vertical

La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente 49. Pese a la eleva tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen. Hembras PI siempre dan terneros PI. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Lértora, 2003).

- Trasmisión horizontal

El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz–nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales 38. El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus (Lértora, 2003).

### **3.1.3 Patogenia**

Después del contacto con membranas mucosas de la boca o nariz, la replicación ocurre en células epiteliales con una predilección por las tonsilas palatinas, especialmente células epiteliales de la cripta. El virus presenta tropismo por células mitóticamente activas como: linfocitos, fagocitos mononucleares y células epiteliales. Se ha especulado que el biotipo cp. se replica en la mucosa nasal en títulos más altos que el biotipo ncp, resultando en una eficiente diseminación en animales susceptibles. La replicación comienza con la adhesión a la membrana plasmática y penetración en la célula, parece ser que el receptor específico es una proteína de superficie de 50kD de las células, por mediación de la proteína de envoltura E2 (Rondón, 2006).

Además, ocurre fusión de la envoltura con la membrana endosomal - dependiente de pH, y el virus ingresa al citoplasma mediante endocitosis mediada por receptor y libera su genoma en el citosol. La diseminación ocurre a través del virus libre en el suero o leucocitos infectados con el virus, particularmente linfocitos, monocitos, linfoblastos circulantes y células precursoras de macrófagos. Por otra parte, se ha determinado un bajo nivel de expresión de moléculas de alfa y beta tubulina, indicando aberraciones potenciales en la división celular, al igual que bajos niveles de expresión de los genes que codifican proteínas involucradas en la producción de energía y en la iniciación de la transducción de proteínas dependientes (Rondón, 2006).

### **3.1.4 Manifestaciones clínicas**

El virus de DVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes (Deregt & Loewen, 1995; Berkow, et al., 1997).

La diarrea viral bovina aguda es una infección post natal aguda, de severidad variable, en bovinos seronegativos e inmunocompetentes (Deregt & Loewen, 1995).

- **Infección subclínica**

La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad. Se desarrollan anticuerpos neutralizantes entre los 14 a 28 días post infección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida (Rivera, 1993).

- **Complejo diarrea neonatal bovina**

Cuando fracasa la transferencia pasiva de anticuerpos, el virus participa en el complejo diarrea neonatal de los terneros. Infecciones concurrentes con enteropatógenos resultan en manifestaciones clínicas más severas, debido al efecto inmunodepresivo del virus de DVB o simplemente a una sumatoria de efecto (Lértora, 2003).

- **Infección aguda severa**

Inicialmente se prestaba poco interés a las infecciones agudas, dada su baja mortalidad. Sin embargo, cada vez son más frecuentes los informes de infección aguda severa de elevada morbilidad y mortalidad, asociada con virus de alta patogenicidad, caracterizada por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, tormenta de abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita. En otros casos, la exposición a cepas de alta virulencia ocasiona una enfermedad con signos clínicos y lesiones anatomopatológicas similares a la forma enfermedad mucosa (Lértora, 2003).

- **Enfermedad de las mucosas**

La enfermedad de las mucosas es una forma de la BVD no muy frecuente y se presenta usualmente en animales de 6 meses a 2 años de edad. La forma severa se caracteriza por diarrea sanguinolenta, mucus, deshidratación, severa leucopenia y muerte dentro de los pocos días de presentar los signos clínicos. Las lesiones macroscópicas más notorias en este caso son las úlceras y erosiones de la mucosa del tracto digestivo. La mortalidad puede alcanzar al 50% (Rivera, 1993).

- **Síndrome Hemorrágico**

Inmunodepresión. El virus de DVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos infectantes. Tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos. En el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. Estas células elaboran citoquinas esenciales para el normal desarrollo y maduración de linfocitos, lo que sugiere que la necrosis linfoide es secundaria al trastorno del microambiente que proveen las células intersticiales y no a la acción directa del virus sobre los linfocitos (Berkow, et al., 1997; Léтора,2003).

- **Enfermedades Respiratorias**

El virus de DVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios. Además, se ha demostrado que ciertos virus de la diarrea viral bovina actúan como agentes primarios de neumonías (Lértora, 2003).

- **Trastornos reproductivos**

El mayor impacto económico de la infección con el virus es el ocasionado por los trastornos reproductivos. Los efectos de la infección antes y durante la gestación se discuten en orden cronológico (Lértora, 2003).

La infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad. El virus de DVB causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Además, las infecciones agudas ocasionan un retraso en el desarrollo de los folículos pre-ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos, reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular y disminución o ausencia de las oleadas de hormona luteinizante pre-ovulatoria o retraso en el tiempo del pico de hormona luteinizante pre-ovulatoria. (Dubovi, 1994; Grahn & Fahning, 1984)

No está claro de qué manera el Virus de DVB altera la función ovárica, aunque es posible que actúe por uno o más de los siguientes mecanismos:

1) Inadecuado soporte gonadotrófico por infección de la glándula pituitaria; 2) La leucopenia que acompaña a la infección aguda puede ser el reflejo de una deficiencia en la población de leucocitos ováricos, células vitales para la dinámica folicular normal; 3) la necrosis de las células de la granulosa de los folículos pre-ovulatorios, afecta negativamente la secreción de estradiol y, consecuentemente, suprime la liberación de hormona luteinizante y retrasa o impide la ovulación; 4) la disfunción ovárica puede ser el resultado de la ooforitis y de los cambios en la concentración de citoquinas ováricas; 5) la reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular pueden perjudicar el comportamiento estral, impedir la ovulación o reducir el número y calidad de oocitos liberados. (Grahn & Fahning , 1984)

### **3.1.5 Diagnóstico**

En cuanto al diagnóstico de esta enfermedad se basa únicamente en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico. El objetivo principal del diagnóstico es la detección y remoción de bovinos posiblemente infectados, principal fuente de infección y reservorio del virus. (Dubovi, 1994)

#### **3.1.5.1 Serología**

La distribución de anticuerpos en los distintos grupos de edades de rebaños con animales PI y sin animales PI, determina que existan 5 fases en el ciclo de infección:

- Fase A: Rebaños con infección aguda sin animales PI. Solo un pequeño porcentaje del rebaño será seropositivo.
- Fase B: Rebaños infectados con animales PI menores de 3–4 meses de edad. La mayoría de los animales están bajo una infección aguda, a una velocidad variable dependiendo del sistema de producción.
- Fase C: Rebaños infectados con animales PI mayores de 3–4 meses de edad. Usualmente, más del 90% del rebaño es seropositivo.
- Fase D: Rebaños previamente infectados, donde los animales PI han sido removidos recientemente. Los animales jóvenes serán seronegativos cuando pierdan sus anticuerpos calostrales a los 6–8 meses de edad. Los animales adultos permanecen seropositivos.
- Fase E: Rebaño previamente infectado, donde los animales PI han sido removidos hace varios años. Todos los animales jóvenes serán seronegativos (excepto algunos terneros con anticuerpos calostrales). Eventualmente el rebaño se volverá seronegativo (Lértora, 2003).

Estos estudios epidemiológicos han permitido desarrollar diferentes métodos serológicos para la detección de rebaños con infección activa (con bovinos PI) de manera simple, eficaz y económica (Dubovi, 1994).

El análisis serológico de una pequeña muestra de sangre tomada al azar de terneros de 6 a 12 meses de edad permite distinguir rebaños con infección activa, de rebaños sin bovinos PI, con un alto grado de seguridad. Se pueden cometer errores de clasificación cuando los rebaños poseen animales PI muy jóvenes, que no han tenido tiempo de infectar a los animales seronegativos remanentes, cuando los sistemas de explotación y la virulencia de la cepa permitan una diseminación lenta, o si se toma la muestra de animales menores de 6 meses de edad, los cuales tendrán anticuerpos calostrales. Estos problemas se solucionan repitiendo el examen unos meses después (Lértora, 2003; Del Mar Blanco, Doménech, & Gómez, 2007).

Medir el nivel de anticuerpos en leche almacenada en tanques también permite determinar el estatus infeccioso del rebaño y es ampliamente empleado en países que están controlando la enfermedad. Sin embargo, este método no distingue entre rebaños con animales PI y rebaños donde dichos animales han sido recientemente eliminados, debido a que los títulos de anticuerpos en la leche declinan lentamente. Se recomienda el uso de este método en las fases finales de un programa de erradicación y en la vigilancia de rebaños libres (Lértora, 2003).

### **3.1.5.2 Detección del virus o componentes virales**

Detección del virus o componentes virales. Una vez identificados los rebaños con infección activa, se debe testear individualmente a los animales para detectar a los bovinos PI. Para ello contamos con cuatro métodos diferentes (Lértora, 2003; Del Mar Blanco, et al., 2007).

#### **3.1.5.2.1 Aislamiento viral**

El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Sin embargo, es económicamente prohibitivo para ser usado en el diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación (Lértora, 2003).

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). Las muestras se cultivan en células de riñón fetal, pulmón o cornete nasal bovino.

### **3.1.5.2.2 Detección de antígenos mediante enzimo inmunoensayo - ELISA**

Es una prueba de unión primaria que detecta el enlace específico antígeno anticuerpo y cuantifica los inmunocomplejos formados mediante un marcador enzimático que actúa con un sustrato cromógeno apropiado. El grado de transformación del sustrato incoloro a un producto coloreado se cuantifica objetivamente por espectrofotometría y es proporcional a la cantidad de inmunocomplejos formados (Del Mar Blanco, et al., 2007).

Las ventajas de la técnica ELISA son numerosas; es un método muy sensible, de placas de 96 pocillos, es capaz de realizar un gran número de determinaciones en un corto periodo de tiempo, hecho de especial importancia en veterinaria en el diagnóstico de grande colectivos. Esta técnica suele ofrecer un buen equilibrio entre sensibilidad y especificidad hasta un 97-99%, además de una buena repetibilidad en los resultados (Shannon, Richards , Kirkland , & Moyle , 1991).

- Fundamento de la prueba de ELISA

La prueba de ELISA está compuesta de microplacas de 96 pocillos sensibilizados con antígenos. Normalmente estas placas están fabricadas en poliestireno. La superficie de los pozos es tratada especialmente para optimizar la adhesión de la proteína o antígenos a los pozos. Los pozos en la microplaca sirven como el

fundamento de la prueba de ELISA. Cuando el suero de prueba que contiene los anticuerpos reconoce el antígeno agregado, estos anticuerpos se adhieren a los pozos recubiertos de antígeno (Sandvik,1999; Del Mar Blanco, et al., 2007).

#### **3.1.5.2.3 Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica**

Las técnicas inmunoenzimáticas también se emplean habitualmente para identificar la presencia de antígenos específicos en cortes de tejidos o en frotis. Esta técnica microscópica es muy sensible y ofrece la ventaja de observar la distribución de los antígenos, incluso en los compartimentos celulares, respetando la estructura celular (Del Mar Blanco, et al., 2007).

El anticuerpo específico se conjuga con una enzima que reacciona con un sustrato y produce un producto insoluble coloreado que precipita en el lugar donde se forma es decir donde se encuentra el inmunocomplejo, y se puede observar con el microscopio óptico.

La inmunohistoquímica de tejidos fijados en formalina es el método diagnóstico más conveniente para la detección del virus de DVB en fetos (Lértora, 2003).

#### **3.1.5.2.4 Detección del ácido nucleico viral – PCR**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido, sensible, que detecta diversos virus de DVB y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo (Ward & Misra , 1991). 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 (Dubovi, 1994).

### **3.1.6 Prevención**

Para establecer un programa de control es fundamental entender la enfermedad y conocer sus factores de riesgo. Este programa debe estar claramente definido y debe apuntar a obtener un hato saludable y a la vez aumentar la prolificidad de este,

además de disminuir las pérdidas económicas asociadas al virus (Brownlie, Clarke, & Howard, 1989).

El objetivo debe ser la prevención y control a través de 3 aspectos fundamentales:

#### **3.1.6.1 Control sanitario**

La finalidad es evitar el ingreso del virus al hato. Con este propósito deben evitarse una serie de factores: el uso múltiple de la aguja hipodérmica, contacto con otros rumiantes que pueden ser portadores del virus, el uso de germoplasma de dudosa procedencia, el uso de vacunas de virus vivo modificado, el libre ingreso de animales al hato sin previo análisis, entre otros (Brownlie, et al., 1998; Dubovi, 1994).

#### **3.1.6.2 Animales Persistentemente Infectados**

Esta es una de las medidas de enorme trascendencia puesto que los animales con infección persistente (inmunotolerantes) son los principales diseminadores del virus (Rivera, 1993).

Este procedimiento debe hacerse cuando existen sospechas de tener la infección en el hato; por ejemplo: incremento de la frecuencia de abortos, nacen terneros débiles o con malformaciones congénitas, incremento en el número de vacas que repiten el celo. En tal situación, debe muestrearse todos los animales mayores a 6 meses (Rivera, 1993).

Si en el hato hay DVB, 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).

La otra posibilidad de encontrar a estos animales es después de la vacunación con vacuna a virus muerto a todos los animales mayores a 6 meses, incluyendo la segunda dosis al tiempo recomendado, y posteriormente se realiza el análisis serológico a todos los animales vacunados, aquellos que no responden a la vacunación serán eliminados del hato lo más pronto posible. Esta medida será

repetida periódicamente para el chequeo de aquellos animales que no fueron muestreados (terneros menores a 6 meses) (Rivera, 1993).

### **3.1.6.3 Vacunación**

En la actualidad existen dos tipos de vacunas: a virus vivo modificado y a virus muerto o inactivado (Rivera, 1993).

- **Vacuna de virus vivo modificado**

La vacuna a virus vivo modificado tiene la ventaja de producir altos niveles de anticuerpos sin la necesidad de una segunda dosis, por esta razón es adecuada para el ganado de crianza extensiva, pero, tiene la desventaja de producir inmunosupresión predisponiendo al animal a otras infecciones (Rivera, 1993).

- **Vacuna de virus muerto**

La vacuna a virus muerto tiene la desventaja de requerir una segunda dosis para inducir los anticuerpos a niveles protectivos, pero es segura, no es inmunosupresora y puede usarse en vacas gestantes. Por las facilidades del manejo esta vacuna es recomendada en bovinos de explotación intensiva (Rivera, 1993; Sandvik, 1999)

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Materiales**

#### **4.1.1 Recurso Humano**

- Estudiante investigador
- Asesores de tesis
- Personal de la finca donde se realizará la investigación.
- Personal del laboratorio de Microbiología de la FMVZ, USAC.

#### **4.1.2 Recursos de campo**

- Vehículo
- Hielera
- Cámara Fotográfica
- Botas de Hule
- Agujas Vacutainer<sup>R</sup>
- Tubos sin anticoagulante
- Algodón
- Alcohol
- Marcador para animales

#### **4.1.3 Recursos de laboratorio**

Kit de ELISA (microplaca de 96 pozos)

#### **4.1.4 Recursos biológicos**

Suero de muestra de sangre de bovinos de carne de Finca Medio Monte, Palín, Escuintla.

#### **4.1.5 Recursos de escritorio**

- Computadora
- Libreta
- Lapicero

## **4.2 Metodología**

### **4.2.1 Área de estudio**

El estudio se realizó en una explotación de 115 bovinos hembra de carne pertenecientes a finca medio monte. La finca se encuentra ubicada en el municipio de palín del departamento de Escuintla, a una distancia de 47 kilómetros de la capital. Cuenta con una extensión de 2.5 caballerías. La zona ecológica corresponde a la faja subtropical húmeda según Holdridge; y según Thornthwaite cálido, sin estación fría definida, muy húmedo, con invierno seco. A 710 metros sobre el nivel del mar. Con temperaturas de 34.2°C máxima, 18.2°C mínima.

### **4.2.2 Diseño del estudio**

El estudio es descriptivo de corte transversal.

### **4.2.3 Tamaño de la muestra**

Se utilizó una muestra mínima de 17 bovinos de carne en edad reproductiva de 30 meses o más las cuales serán seleccionadas al azar de un hato de 115 bovinos, tomando una muestra de sangre sin anticoagulante.

Estas serán debidamente identificadas con los datos respectivos de cada animal y anotadas en una hoja de registro. Las muestras serán transportadas con hielo al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina y Veterinaria, de la

Universidad San Carlos de Guatemala; en donde serán analizadas por el método de ELISA indirecto de anticuerpos o de captura de antígenos. Una vez obtenidos los resultados de las muestras se procederá a hacer el análisis.

La población a muestrear se obtuvo utilizando la siguiente formula:

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

En donde:

n= tamaño de la muestra

N= población total

Z = 1.96 para el 95% de confianza

p = prevalencia estimada (10%)

q= complemento de p (90%)

(Cannon, 2001)

- Fórmula cálculo de la prevalencia:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de animales positivos} \times 100}{\text{Total, de animales muestreados}}$$

#### 4.2.4 Criterio de inclusión

- Hembras sanas que no han presentado problemas reproductivos.
- Hembras que han presentado problemas reproductivos.

#### 4.2.5 Análisis estadístico

Se analizo con base a la diferencia de proporciones y la prueba de Chi<sup>2</sup> para determinar posibles asociaciones.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 100% de las muestras resultaron negativas a la presencia de anticuerpos de Diarrea Viral Bovina mediante la prueba serológica de ELISA indirecto.

No se pudo determinar si existe relación entre la presencia de anticuerpos contra el virus de Diarrea Viral Bovina y la presentación de problemas reproductivos en bovinos de carne.

Los registros sanitarios del hato de carne en la finca medio monte muestran la presencia de problemas reproductivos que de acuerdo con investigaciones recientes coinciden con los efectos producidos por el virus de DVB. Sin embargo, debido a la ausencia de anticuerpos en la prueba realizada, no se puede confirmar dicho diagnóstico. Por otra parte, vale la pena resaltar que se ha realizado un buen control y descarte de las hembras que han presentado problemas reproductivos, así como se cuenta con un adecuado control de ingreso de los animales al hato.

Es importante mencionar que los problemas reproductivos en bovinos pueden tener causas muy diversas sean agentes infecciosos o no. Entre los agentes infecciosos están neosporosis bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina, brucelosis, enteritis hemorrágicas causadas por bacterias del género clostridium, salmonellas y enterobacterias. Entre las causas no infecciosas están desnutrición, manejo inadecuado, tóxicos o enfermedades genéticas.

Deregt & Loewen (1995) sostienen que los títulos de anticuerpos de bovinos infectados naturalmente con DVB, disminuyen lentamente por lo que permanecen toda la vida del animal. Con base a lo anterior, se puede afirmar que si el grupo muestreado no presento anticuerpo a DVB es debido a la ausencia de la infección.

Sin embargo, Del Mar Blanco, Doménech, & Gómez (2007) menciona que podría haber caso de infección con mínima respuesta humoral, estadios muy tempranos de la infección, presencia de anticuerpos incompletos o bloqueantes.

Es importante recordar que las características de sensibilidad y especificidad son necesarias para validar una prueba de diagnóstico. Respecto a la prueba de diagnóstico utilizada, Shannon A. (1991) menciona que ELISA indirecta que es un método altamente específico y sensible hasta un 97 - 99% por lo que es poco probable la presencia de falsos negativos en los resultados obtenidos (Del Mar Blanco, et al., 2007).

En el país no se cuenta con otro tipo de prueba específica para esta enfermedad, por lo tanto es el método de elección para la detección de anticuerpos frente al VDVB. Actualmente existen estudios en Guatemala el diagnóstico de Diarrea Viral Bovina en ovejas de pelo en los cuales también se obtuvieron resultados negativos (Pineda Alvizuris, 2018).

## VI. CONCLUSIONES

- No se detectó la presencia de anticuerpos frente al virus de Diarrea Viral Bovina en el hato de carne perteneciente a Finca Medio Monte.
- No se pudo establecer si existe relación entre los problemas reproductivos y la presencia de anticuerpos contra Diarrea Viral Bovina siendo los resultados negativos debido a que se ha realizado un adecuado descarte reproductivo y se cuenta con un buen control reproductivo del hato. Por lo que no se debe aplicar vacuna contra esta enfermedad.

## VII. RECOMENDACIONES

- Conocer el estado sanitario y realizar una adecuada cuarentena a los animales de nuevo ingreso.
- Continuar y realizar otras pruebas diagnósticas a los bovinos con problemas reproductivos para determinar la causa.
- Desarrollar un sistema de manejo reproductivo de la explotación llevando el registro e historial de cada uno de los animales. Identificando al ganado y actualizando los registros del hato con regularidad.
- Conocer el estatus sanitario de explotaciones de animales cercanas a Finca Medio Monte.
- Mejorar las condiciones sanitarias del hato implementando más medidas de bioseguridad, no se recomienda vacunar contra esta enfermedad.

## VIII. RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la existencia de anticuerpos contra Diarrea Viral Bovina en una muestra de 20 bovinos en edad reproductiva con y sin problemas reproductivos y así establecer si existía relación entre los problemas reproductivos y los resultados de la prueba serológica en bovinos de carne de Finca Medio Monte, Escuintla.

Las muestras obtenidas se analizaron a través de la prueba serológica de ELISA indirecto para detectar anticuerpos contra el virus de Diarrea Viral Bovina, resultandos negativos el 100% de las muestras. Por lo tanto, se descartó que el virus de Diarrea Viral Bovina sea el causante de los problemas reproductivos del hato de bovinos de carne de Finca Medio Monte.

Investigaciones recientes indican que la Diarrea Viral Bovina puede ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas, siendo los problemas reproductivos los de mayor impacto. Sin embargo, no se pudo determinar si existe relación entre la presentación de los problemas reproductivos y la presencia de anticuerpos contra el virus de Diarrea Viral Bovina siendo los resultados de las muestras en estudio negativas, ese le atribuyo a que se ha realizado un adecuado descarte reproductivo y se cuenta con un buen control reproductivo del hato.

Actualmente existen estudios recientes en Guatemala del diagnóstico de Diarrea Viral Bovina en ovejas de pelo en los cuales también se obtuvieron resultados negativos.

## **SUMMARY**

The present study was conducted with the objective of determining the existence of antibodies against Bovine Viral Diarrhea in a blood sample from 20 bovines' animals of reproductive age with and without reproductive problems. And thus, establish whether there is a relationship between reproductive problems and the results of the serological test in the herd of beef cattle of Finca Medio Monte, Escuintla.

The samples obtained were analyzed through the serological test of indirect ELISA to detect antibodies against Bovine Viral Diarrhea virus, resulting 100% of the samples negative. Therefore, it was ruled out that the Bovine Diarrhea virus is the cause of the reproductive problems of the herd of beef cattle of Finca Medio Monte.

Recent research indicates that Bovine Viral Diarrhea can cause a wide range of clinical manifestations, being the reproductive problems being the greatest impact.

However, it was not possible to determine if there is a relationship between the presentation of the reproductive problems and the presence of antibodies against Bovine Diarrhea virus, being the results of the study samples negative, which can attribute to the fact that they have an adequate reproductive discard of animals and a good reproductive control of the herd.

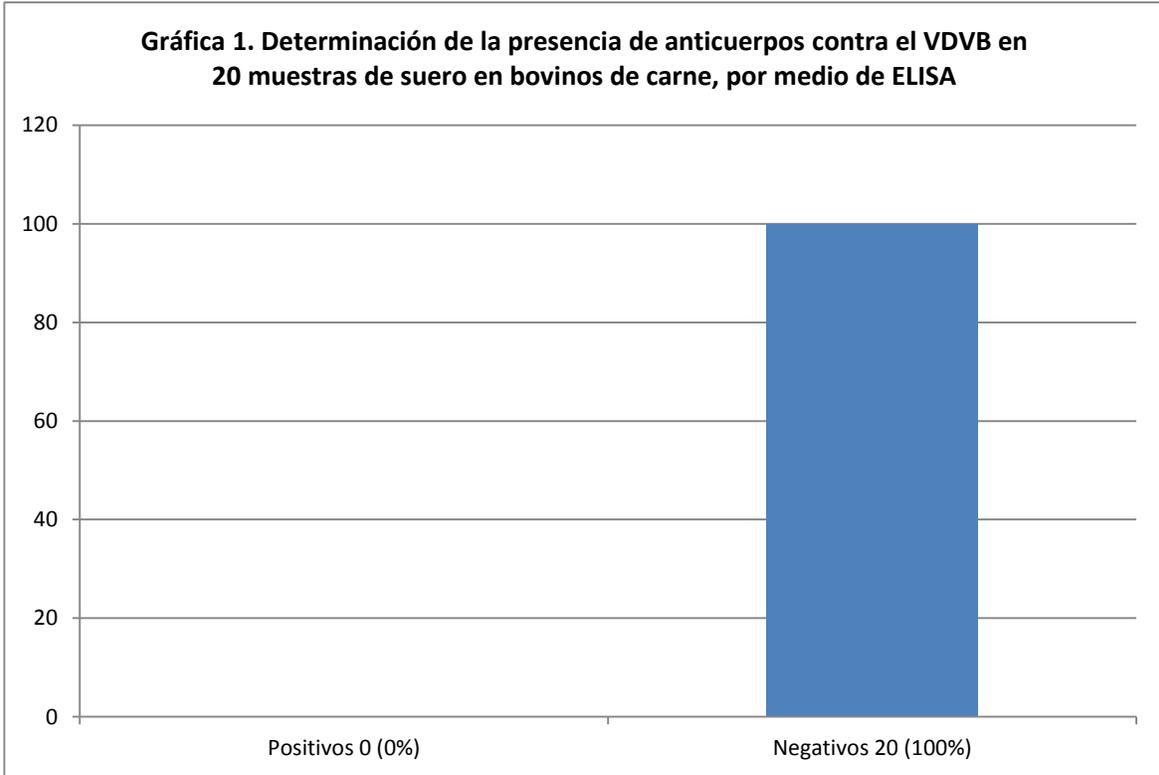
Currently there are recent studies in Guatemala of Diagnosis of Bovine Viral Diarrhea in hair sheep in which negative results were also obtained.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berkow, R., Beers, M., & Fletcher, A. (1997). *Manual de Merck*. Barcelona, España: Océano Grupo Editorial.
- Brownlie, J., Clarke, M., & Howard, C. (1989). Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea. *Science Direct*.46(3), 289-425. doi: 10.1016/S0034-5288(18)31171-8
- Cannon, R.M., (2001). Sense and sensitivity: Designing surveys based on an imperfect test. *Science Direct*. 49 (3), 141-163. doi: 10.1016/S0167-5877(01)00184-2
- Del Mar Blanco, M., Doménech, A., & Gómez, L. (2007). *Manual de Inmunología Veterinaria*. Madrid, España: PEARSON.
- Deregt, D., y Loewen, K. (1995). Bovine viral diarrhoea virus, biotypes and disease. *Canadian Veterinary Journal*, 36(6), 371–378. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686947/>
- Dubovi, E. (1994). Impact of bovine viral diarrhoea virus on. *Science Direct*. 10(3), 503-514. doi: 10.1016/S0749-0720(15)30535-1
- Grahn , T., y Fahning , M. (1984). Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*.185(4), 429-432. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6088456>
- Lértora, W. (2003). Diarrea Viral Bovina. *Revista Veterinaria*. 14(1),43-50. Recuperado de <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/684>
- Obando R, C., & Rodríguez, J. (2005). *Manual de Ganadería Doble Propósito*. Recuperado de <http://www.venezuelaganadera.com/enciclopedia-ganadera-articulos/la-diarrea-viral-bovina-en-venezuela>
- Pineda Alvizuris, V. (2018). *Diagnóstico de Diarrea Viral Bovina en Ovejas de Pelo en Finca San Julián, Patulul, Suchitepéquez* (tesis pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Rivera, H. (1993). El Virus de la Diarrea Viral Bovina. *Investigaciones Pecuarias*. 6(1), 771-783. Recuperado de [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v06\\_n1/virusd.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v06_n1/virusd.htm)

- Rondón, I. (2006). Diarrea Viral Bovina: Patogénesis e inmunopatología. *Redalyc.org*, 11(1), 695-700. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/693/69311103/>
- Sandvik , T. (1999). Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Science Direct*. 64(2-3). doi: 10.1016/S0378-1135(98)00264-8
- Shannon, A., Richards , S., Kirkland , P., y Moyle , A. (1991). An antigen-capture ELISA detects pestivirus antigens in blood and tissues of immunotolerant carrier cattle. *Science Direct*. 34(1), 1-12. doi: 10.1016/0166-0934(91)90116-H
- Vargas, D., & Góngora, A. (2012). Enfermedades virales emergentes en ganado de leche de América Latina. *Orinoquia*, 16(2), 89-93. Recuperado el 11 de Septiembre de 2017, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89626049010>
- Ward , P., & Misra , V. (1991). Detection of bovine viral diarrhoea virus, using degenerate oligonucleotide primers and the polymerase chain reaction. *Res Vet* . 52(8), 1231-1236. Recuperado de <https://europepmc.org/abstract/med/1656820>
- Zoetis. (2013). *Diarrea Viral Bovina*. Argentina. Zoetis Publishing. Recuperado de [https://ar.zoetis.com/conditions/bovinos/diarrea-viral-bovina-\\_dvh\\_.aspx](https://ar.zoetis.com/conditions/bovinos/diarrea-viral-bovina-_dvh_.aspx)

## **X. ANEXOS**



Fuente: Elaboración propia.

**Descripción de la gráfica:** Las 20 muestras en estudio (el 100%) resultaron negativas a la presencia de anticuerpos de Diarrea Viral Bovina mediante la prueba serológica de ELISA.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL  
BOVINA (DVB) Y SU RELACIÓN CON LOS PROBLEMAS  
REPRODUCTIVOS EN BOVINOS DE CARNE PERTENECIENTES A  
FINCA MEDIO MONTE, ESCUINTLA DURANTE EL AÑO 2018

f.   
Ana Lucia Santizo Paz

f.   
M.Sc. Fredy Rolando González Guerrero  
ASESOR PRINCIPAL

f.   
M.V. Sergio Fernando Véliz Lemus  
ASESOR

f.   
M.A. Ligia Anaite González Quiñonez  
EVALUADOR

IMPRIMASE

f.   
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil  
DECANO



