

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



**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL DIAGNÓSTICO DE TERNERAS
PERSISTENTEMENTE INFECTADAS (PI) POR DIARREA VIRAL
BOVINA EN UN HATO DE GANADO BOVINO LECHERO CON
TRASTORNOS REPRODUCTIVOS EN UNA FINCA DE TECPÁN
GUATEMALA, CHIMALTENANGO**

CARLOS ALBERTO PIMENTEL ARRIOLA

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MARZO DE 2015

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



**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL DIAGNÓSTICO DE TERNERAS
PERSISTENTEMENTE INFECTADAS (PI) POR DIARREA VIRAL
BOVINA EN UN HATO DE GANADO BOVINO LECHERO CON
TRASTORNOS REPRODUCTIVOS EN UNA FINCA DE TECPÁN
GUATEMALA, CHIMALTENANGO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

CARLOS ALBERTO PIMENTEL ARRIOLA

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MARZO DE 2015

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

DECANO:	M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez.
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo.
VOCAL I:	Lic. Sergio Amilcar Dávila Hidalgo.
VOCAL II:	M.Sc. Dennis Sigfried Guerra Centeno.
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco.
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez.
VOCAL V:	Br. Andrea Analy García López

ASESORES

M.Sc. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ GUERRERO

DRA. M.V. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ

MA. REMBER RAFAEL ARRIOLA MOLINA

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:

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL DIAGNÓSTICO DE TERNERAS PERSISTENTEMENTE INFECTADAS (PI) POR DIARREA VIRAL BOVINA EN UN HATO DE GANADO BOVINO LECHERO CON TRASTORNOS REPRODUCTIVOS EN UNA FINCA DE TECPÁN GUATEMALA, CHIMALTENANGO

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

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO A:

A: Dios Padre Eterno Señor nuestro, a Jesucristo mi Salvador y al Espíritu Santo mi guiador, sean la gloria y la honra por honrarme con su presencia siempre a donde quiera que este y permitirme alcanzar esta meta.

A mis Padres: Leopoldo Pimentel González y Argentina Arriola de Pimentel, por su amor y apoyo incondicional en todo momento, por los valiosos consejos que me guiaron hasta acá, siendo ustedes parte de los seres importantes que tengo en la vida y el ejemplo a seguir.

A mi esposa: Por el apoyo, el amor y la fuerza para seguir adelante durante estos años de lucha por nuestras metas, por nuestro amor, te amo.

A mis Hermanos: Leopoldo Pimentel Arriola, Sandra Patricia Pimentel de Caballero, Luis Alberto Pimentel Arriola, Sergio Pablo Pimentel Arriola, Marcial Caballero, mis amigos de sangre gracias por hacer mi vida más feliz con su amor, comprensión y compañía.

A mis Abuelitos: Leopoldo Pimentel García, Herlinda González Gramajo de Pimentel, Augusto Rafael Arriola Ligorria, Juana Juárez Ordoñez de Arriola que están disfrutando de la presencia del Señor.

A mis Sobrinos: Pablo Leopoldo Pimentel Marroquín, Linda Victoria Pimentel Marroquín, Diego Rafael Pimentel Marroquín, Hugo Caballero Pimentel, Anael Caballero Marroquín.

A mi Familia: Tíos, primos por su cariño y apoyo.

A mis amigos y Hermanos en la Fé: por todos los buenos momentos vividos y la amistad tan sincera que siempre me han mostrado, especialmente al Dr. Víctor Gongora, a mis Hermanos de Iglesia Dr. Byron Sierra y Esposa "Corona De Gloria" Ministerios Palabra MIEL.

A mis compañeros de Universidad: De la carrera de Medicina Veterinaria por su apoyo alegría y cariño, especialmente a Felipe Gutiérrez, Jairo Estrada, Alfonso Montufar, Javier Vásquez, Pablo Lucero, Judith Colindres, Álvaro Puac, André Depaz, Fernando Castillo.

A mis padrinos de graduación: Quienes se merecen mis muestras de agradecimiento y lealtad, por la fé puesta en mi persona.

AGRADECIMIENTOS:

- A la universidad de San Carlos: Por haberme dado la oportunidad de formarme en la carrera de Medicina Veterinaria.
- A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia: Excelente unidad académica que me dio las herramientas para poder desempeñarme como profesional.
- A mis catedráticos: Quienes de manera muy especial me impartieron sin celo sus conocimientos. En especial a: Dr. Sergio Fernando Véliz, Dr. Rafael Arriola, Dr. Fredy González, Dr. Yery Véliz.
- A mis asesores de Tesis: Dr. Fredy González, Dra. Jaqueline Escobar, Dr. Rember Rafael Arriola Molina por su amistad y apoyo.
- A: Mi evaluador de tesis Dr. Juan José Prem González.
- A: Centro Montecristo de aldea Pacoc, Chimaltenango por haberme permitido realizar mi Ejercicio Profesional Supervisado.
- A: Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala por brindarme lo necesario para la elaboración de mi trabajo de Tesis.
- A: Todos los presentes que de alguna manera me apoyaron para culminar con mi carrera.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
3.1 Objetivo General.....	3
3.2 Objetivo Específico.....	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 Diarrea viral bovina.....	4
4.1.1 Definición.....	4
4.1.2 Agente etiológico.....	5
4.1.2.1 Virus biotipos.....	5
4.1.2.2 Variabilidad.....	6
4.1.2.3 Clasificación.....	7
4.1.2.4 Genotipificación.....	7
4.1.3 Prevalencia y distribución geográfica.....	7
4.1.4 Epidemiología.....	8
4.1.4.1 Prevalencia de la infección.....	8
4.1.4.2 Hospedador.....	9
4.1.4.3 Fuente de infección.....	9
4.1.4.4 Modo de transmisión.....	9
4.1.4.5 Transmisión entre rebaños.....	10
4.1.4.6 Transmisión dentro del rebaño.....	10
4.1.5 Patogenia.....	11
4.1.5.1 Patogénesis de la presentación aguda.....	11
4.1.5.2 Infección neonatal.....	12
4.1.5.3 Infección venérea.....	12
4.1.5.4 Infección transplacentaria.....	13
4.1.5.5 Infección persistente.....	14
4.1.5.6 Malformaciones.....	15

4.1.5.7	Enfermedad de las mucosas.....	16
4.1.5.8	Diarrea viral bovina crónica.....	17
4.1.5.9	El virus BVD y el complejo respiratorio bovino.....	17
4.1.6	Inmunopatología.....	18
4.1.7	Signos clínicos.....	18
4.1.8	Diagnóstico.....	19
4.1.8.1	Detección de anticuerpos contra el virus BVD (Diagnóstico serológico).....	20
4.1.8.2	Detección de antígenos mediante enzimo-inmuno- ensayo (ELISA).....	22
4.1.9	Prevención y control.....	24
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5.1	Área de estudio.....	26
5.2	Materiales.....	26
5.2.1	Recursos humanos.....	26
5.2.2	Recursos de campo.....	26
5.2.3	Recursos de laboratorio.....	27
5.2.4	Recursos biológicos.....	27
5.2.5	Recursos de escritorio.....	28
5.2.6	Centro de referencia.....	28
5.3	Metodología.....	28
5.3.1	Muestreo.....	29
5.3.2	Línea de investigación.....	29
5.4	Técnica de diagnóstico.....	29
5.5	Método estadístico.....	29
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
VII.	CONCLUSIONES.....	35
VIII.	RECOMENDACIONES.....	36
IX.	RESUMEN.....	37
	SUMMARY.....	38

X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
XI.	ANEXOS.....	42

INDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1

Materiales utilizados en la prueba de ELISA.....27

Cuadro No. 2

Determinación de la presencia de anticuerpos contra VDVB mediante
ELISA a 40 terneras por vacunación.....31

Cuadro No. 3

Determinación de la presencia de anticuerpos contra VDVB mediante
ELISA a 40 terneras 21 días post vacunación.....32

Cuadro No. 4

Resultados.....32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1	
Virus diarrea viral bovina.....	6
Figura No. 2	
Distribución geográfica diarrea viral bovina.....	8
Figura No. 3	
Catarata.....	14
Figura No.4	
Deformación congénita (deformidad craneana y braquignatismo).....	16
Figura No. 5	
Enfermedad de las mucosas.....	17
Figura No. 6	
Resultados de la determinación de la presencia de anticuerpos contra El VDVB a 40 terneras (2 semanas de edad), mediante ELISA.....	31
Figura No.7	
Determinación de la presencia de anticuerpos contra VDVB mediante ELISA a 40 terneras 2 meses 21 días de edad.....	32
Figura No. 8	
Infección de gestación tardía.....	43
Figura No. 9	
Necrosis del epitelio.....	43
Figura No. 10	
Destrucción de tejido linfoide.....	43
Figura No. 11	
Placas de Peyer activadas.....	44
Figura No. 12	
Hiperemia intestino.....	44

Figura No. 13

Úlceras en lengua.....44

I. INTRODUCCIÓN

La producción de ganado lechero en nuestro medio se ve afectada por un gran número de agentes infectocontagiosos que ocasionan un serio problema en el desarrollo físico y productivo del hato lechero, llegando a ocasionar pérdidas económicas en la producción.

Dentro de estos agentes se encuentran los virus de los cuales el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), el cual ocasiona grandes pérdidas debido a los problemas reproductivos tales como: reabsorción embrionaria, momificación abortos en el último tercio de la gestación, terneras que nacen con deficiencias inmunológicas y un desarrollo físico normal.

Generalmente, el impacto económico que ocasiona esta enfermedad vírica ha llevado a realizar estudios inmunológicos, fisiopatológicos y/o epidemiológicos.

Actualmente, la importancia del recurso de pruebas de laboratorio han llegado a ser una herramienta de gran importancia para el médico veterinario, una de ellas es la técnica de ELISA, la cual es una prueba que se está empleando para la detección de animales seropositivos a VDVB facilitando de esta manera medir los niveles de anticuerpos o antígenos presentes en los animales sospechosos a la enfermedad.

Con el presente estudio, se pretende determinar la presencia de diarrea viral bovina y la presencia de hembras persistentemente infectadas con el virus en un hato lechero de una finca del municipio de Tecpán, Guatemala. A la vez se determinara el efecto pre y post vacunación en terneras de remplazo por medio de la prueba de ELISA, con la finalidad de dar a conocer el estado inmunológico y epidemiológico del hato lechero presente en esta localidad del país.

II. HIPÓTESIS

Existe correlación positiva entre la serología a Diarrea Viral Bovina de la madre con la de hija.

III. OBJETIVOS

3.1 General

Contribuir al diagnóstico de enfermedades de tipo reproductivo en ganado bovino lechero.

3.2 Específicos

Determinar la presencia de anticuerpos al nacimiento, pre y post vacunación contra Diarrea Viral Bovina en terneras de remplazo por medio de la prueba de ELISA.

Comparar el historial de vacunación y la serología de diarrea viral bovina en las madres, comparando con los resultados de la serología de las hijas, para identificar las terneras PI.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Diarrea viral bovina

4.1.1 Definición

Enfermedad viral infecciosa de curso agudo, que se caracteriza por producir hemorragias y erosiones en las mucosas oral, gástrica e intestinal, además de diarrea. La diarrea viral bovina ocurre más a menudo en ganado joven principalmente entre los 6 a 24 meses de vida, y generalmente se acompaña de lesiones mucosas típicas y con una mortalidad alrededor de 4-8%. (3, 4, 11,16)

El virus BVD (Bovine Virus Disease), causante de la enfermedad de la Diarrea Viral Bovina, es uno de los patógenos más comunes de los bovinos en el mundo, asociado a varias formas clínicas, que van desde una infección inaparente hasta una fatal denominada Enfermedad de las Mucosas. (14,16)

Para comprender el mecanismo de la enfermedad es esencial dos conceptos: el primero, existen dos biotipos del virus BVD, el biotipo citopatogénico (CP) y el no citopatogénico (NCP); el segundo concepto, existen dos poblaciones de bovinos, los bovinos infectados persistentemente y, los bovinos "normales" libres de la infección. (14,16)

Ambos biotipos del virus se diferencian a nivel molecular y en el laboratorio por su característica en los cultivos celulares. Los dos biotipos producen la enfermedad de la Diarrea Viral Bovina en sus diversas formas clínicas, pero, el biotipo NCP es el que induce la infección persistente, con la condición que el virus pase al feto a través de la placenta durante los primeros 4 meses de gestación; cuando esto ocurre, el feto nace infectado con el virus NCP y quedará infectado de por vida. (14,16)

4.1.2 Agente etiológico

Es una enfermedad viral producida por el virus BVD miembro del género pestivirus conjuntamente con los virus del cólera porcino y de la Enfermedad de la Frontera (BD) que afectan al porcino y ovino respectivamente. Hasta hace poco, el género pestivirus fue uno de la Familia Togaviridae, pero a la luz de los conocimientos en lo referente a la estructura molecular y modo de replicación de su genoma semejante a los virus de la familia Flaviridae, fue propuesto ante el Comité Internacional para la Nomenclatura de los Virus para ser reubicado dentro de la familia Flaviridae. (10,16)

Recientemente ha sido aceptada la propuesta y el género pestivirus ahora pertenece a la Familia Flaviridae. (4, 14)

La clasificación del virus de la diarrea viral bovina se menciona de la siguiente manera:

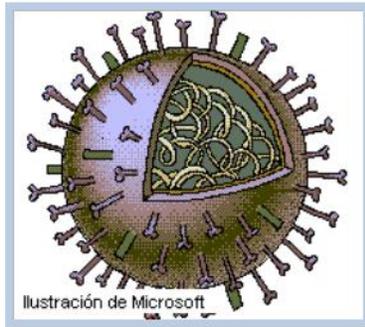
- Familia Flaviviridae
- Género Pestivirus
- Especies: Virus de la Peste Porcina Clásica (VPPC)
- Virus de la enfermedad de la frontera (VEF)
- Virus de la Diarrea Viral Bovina genotipo 1 (VDVB-1)
- Virus de la Diarrea Viral Bovina genotipo 2 (VDVB-2). (2)

4.1.2.1 Virus y biotipos

Es un pequeño virus envuelto, con un genoma que consiste en una banda simple de RNA. Presenta 2 biotipos citopático y no citopático. El virus de DVB nc no causa efecto citopático en los cultivos celulares, mientras que el biotipo de virus de DVB C, sí lo causa. El virus de DVB no citopático persiste en la

población bovina (principalmente en los terneros PI) y da lugar luego al virus de DVB biotipo C, a través de varios fenómenos de mutación. El virus de DVB biotipo citopátogenico también puede originarse a través de la recombinación con otras cepas de virus de DVB por ejemplo cepas vacunales vivas atenuadas. (1, 2,16)

Figura 1. Virus diarrea viral bovina.



Fuente: (2)

4.1.2.2 Variabilidad

La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. La característica principal de un virus ARN es su plasticidad y ésta se debe a la falta de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia (1 error por cada 10.000 nucleótidos polimerizados). El vDVB usa esta estrategia para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a 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. Sin embargo, el virus DVB aislado de cerdos y ovejas tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino. (7)

Otra posible causa para la variabilidad es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados periodos de replicación en animales persistentemente in-

fectados. Sin embargo, esta última posibilidad no parece suceder con el vDVB Bolin y Ridpath (1992) demostraron que nuevas variantes antigénicas se originan durante el pasaje del virus en bovinos susceptibles que desarrollan una infección aguda. (7)

4.1.2.3 Clasificación

La clasificación del vDVB es difícil, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género Pestivirus (virus de la peste porcina clásica y virus de la enfermedad de la frontera del ovino). Los hospedadores en que eran aislados los Pestivirus fueron las bases iniciales para su subdivisión. Así, los Pestivirus que eran aislados del cerdo, ovino y bovino se los clasificaba como virus de la peste porcina clásica, virus de la enfermedad de la frontera y vDVB, respectivamente. Sin embargo, este criterio de clasificación es poco fiable debido a que los Pestivirus cruzan fácilmente la barrera de especie. (7,16)

4.1.2.4 Genotipificación

Es el método aceptado para clasificar a los Pestivirus. Bajo este sistema de clasificación el vDVB se agrupa en 2 genotipos: Genotipo 1 y Genotipo 2. El genotipo I del vDVB puede ser dividido en al menos 11 genogrupos. (7)

4.1.3 Prevalencia y distribución geográfica

Las infecciones por VDVB tienen una amplia distribución en el mundo, aunque el grado de difusión varía entre regiones y países. 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 el

VDVB, disminuyen lentamente y por lo común permanecen toda la vida del animal.
(11)

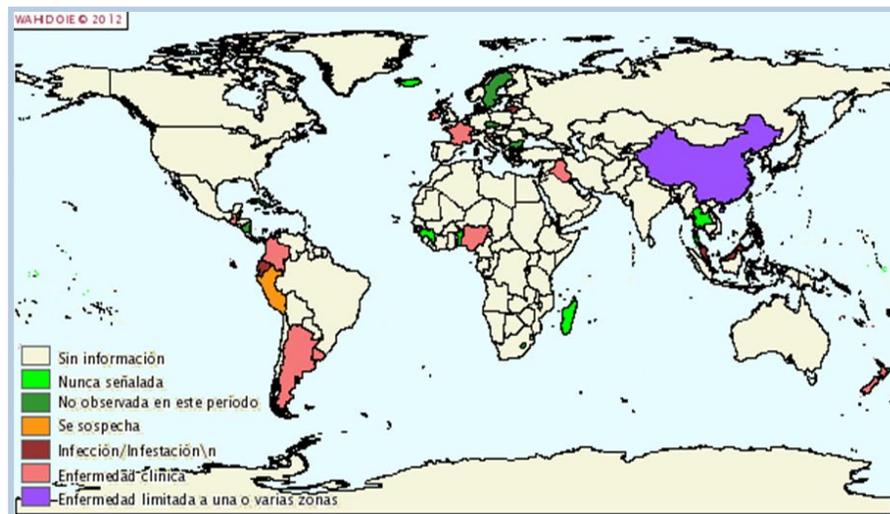
4.1.4 Epidemiología

4.1.4.1 Prevalencia de la infección

Esta enfermedad tiene una distribución mundial, en América del sur los mas afectados son: Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Perú y Uruguay. En América Central: Guatemala, Costa Rica, Panamá. En Europa hay países con control sin vacuna: Suecia, Noruega, Finlandia y Dinamarca y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. La mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovinos seropositivos. (2, 8, 9)

A continuación se presenta el mapa publicado por la OIE de acuerdo a la distribución de la enfermedad de la diarrea viral bovina a nivel mundial.

Figura 2. Distribución geográfica diarrea viral bovina.



Fuente: (9)

4.1.4.2 Hospedador

Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. 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. (7,16)

4.1.4.3 Fuente de infección

La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos PI. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos. (7,16)

4.1.4.4 Modo de transmisión

Generalmente, la transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto. (7,16)

- **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. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen. Hembras PI siempre dan terneros PI. La transmisión

vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el receptor es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión. (7,16)

Generalmente, el lavado embrionario o como también se le conoce como producción de embriones en vivo, se define como el procedimiento en la cual la vaca es inducida a una ovulación múltiple, acompañada de una serie de inseminaciones, para luego realizar un lavado intrauterino que permite la recuperación de los embriones producidos dentro del útero de la hembra. Estos embriones son lavados, valorados, identificados y clasificados para ser congelados y/o transferidos en fresco a receptoras ya sincronizadas y aptas para recibir el embrión. (5, 12,16)

- **Transmisión horizontal**

El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz–nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus. (7,16)

4.1.4.5 Transmisión entre rebaños

Generalmente, la principal forma de introducir el virus a un rebaño susceptible es a través de la adquisición de bovinos PI o hembras que transportan fetos PI. Otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con ovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda. (7)

4.1.4.6 Transmisión dentro del rebaño

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

misión a animales susceptibles ocurre rápidamente a la mayoría de los animales del rebaño. Por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje del rebaño antes que la transmisión cese. El sistema de producción y la virulencia de la cepa también participan en la tasa de transmisión. La diseminación es más eficiente en sistemas de producción que permiten un estrecho contacto entre animales y con cepas virulentas. (7)

4.1.5 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. (14, 15)

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. Además ocurre fusión de la envoltura con la membrana endosomal - dependiente de pH, 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. (14, 15)

4.1.5.1 Patogénesis de la presentación aguda

La forma aguda se presenta en animales seronegativos, en especial animales

entre 6 y 24 meses de edad y es causada, en su mayoría, por virus DVB no citopático. Puede afectar el sistema respiratorio y digestivo, resultado de la difusión activa del virus. La infección secundaria o mixta con otros patógenos es de presentación común. Se ha demostrado que el subtipo Id (VDVB genotipo I subtipo d) induce enfermedad respiratoria primaria. Se le ha atribuido un efecto sinérgico con el virus sincitial respiratorio bovino. Clínicamente los animales que desarrollan la forma aguda presentan: fiebre de 41 - 42 °C, aumentada leucopenia, descarga nasal y ocular, erosiones en la mucosa oral y a veces diarrea. (14, 15)

4.1.5.2 Infección neonatal

El ternero puede infectarse en la etapa perinatal, es decir en el último período de la gestación o después de nacer, desarrollando luego una severa enteritis a veces fatal; por lo tanto, es posible que BVD juegue un rol en la presentación de la enfermedad entérica en terneros recién nacidos. Los anticuerpos que el ternero recibe de la madre a través del calostro y leche se agotan entre los 105 a 230 días de edad, después del cual el incremento del título de anticuerpos puede ser debido a una infección natural o a la vacunación. (14, 16)

4.1.5.3 Infección venérea

El semen del toro infectado durante la etapa fetal o de toros con infección aguda, contiene virus BVD. En este caso, los espermatozoides tienen una motilidad disminuida y puede también presentar anomalías morfológicas. Sin embargo, el virus afecta la fertilización y no a la concepción, caracterizándose por repeticiones de celo e incrementando entonces el número de servicios por concepción. Este problema puede ser pasajero y eliminarse cuando la vaca adquiere inmunidad contra el virus. (14)

La comercialización de germoplasma y la transferencia de embriones fueron en sus inicios potenciales medios de transmisión de BVD pero actualmente estos riesgos son mínimos si el germoplasma proviene de industrias con buen control sanitario. (14)

4.1.5.4 Infección transplacentaria

El impacto económico de la infección fetal por el virus BVD es de gran significancia en el ganado lechero. Si una vaca preñada susceptible es infectada por el virus BVD, puede desarrollar la forma subclínica o la aguda, existiendo la gran posibilidad que el virus atraviese la placenta e infecte al feto. El efecto del virus en el feto depende del período gestacional y del biotipo de virus infectante. Los efectos del virus en el feto pueden ser:

1. Reabsorción embrionaria, si la infección ocurre antes de los 45 días aproximadamente. (14,16)
2. Si la infección es entre los 50 a 100 días de vida puede ocurrir muerte fetal seguida por aborto o momificación fetal y la expulsión del feto es frecuentemente semanas o meses después. (14,16)
3. Si la infección es entre los 100 a 150 días de vida fetal ocurren los defectos congénitos debido a que en este período de vida fetal está completándose el desarrollo del sistema nervioso central y la capacidad de la respuesta inmunológica del feto; algunas de las lesiones teratogénicas son microftalmia, catarata, hidrocefalo, hipoplasia del cerebelo, aplasia del timo, hipoplasia pulmonar, alopecia, etc. (14,16)

Figura 3. Catarata.



Fuente: Elaboración propia

4. Inmunotolerancia al virus BVD (ausencia de respuesta inmune del feto), esta condición ocurre cuando el feto es infectado dentro de los 125 días de la gestación, es decir, antes del completo desarrollo del sistema inmunológico. La inmunotolerancia, al virus BVD conlleva a una infección persistente y está asociada a la infección con el biotipo NCP. (14)
5. Una infección con el virus BVD puede también dar lugar a terneros con crecimiento retardado que se manifiesta por debilidad y falta de desarrollo corporal. (14)
6. La infección con el virus BVD en el último período de la gestación puede no causar daño al feto, ya que entonces es inmunocompetente y puede responder con los anticuerpos neutralizantes. El ternero entonces, es normal y tiene anticuerpos contra el virus BVD al momento de nacer. (14)

4.1.5.5 Infección persistente

La mayoría de los terneros con infección persistente nacen de vacas normales susceptibles que fueron infectadas con el biotipo NCP durante los 4 primeros meses de gestación (120-125 días), pero también las vacas con infección persistente dan crías con la misma condición; pudiendo generarse en un hato clones de animales persistentemente infectados. Un ternero que nace con infección persistente se caracteriza por el aspecto prematuro; estos terneros son

vulnerables por los procesos respiratorios y entéricos, y el 50% usualmente mueren durante el primer año de vida. Sin embargo, algunos pueden tener apariencia normal y llegar hasta la edad reproductiva. Estos animales son los reservorios y diseminadores del virus y son particularmente susceptibles a desarrollar la forma clínica de Enfermedad de las Mucosas, de carácter fatal. Afortunadamente la ocurrencia de estos terneros no es muy frecuente; en USA por ejemplo, es de 1 a 2%, aunque puede ser mayor en algunos hatos. (14)

Los animales con infección persistente pueden ser identificados mediante pruebas serológicas y por aislamiento del virus a partir de leucocitos y/o suero sanguíneo colectados a intervalos de 3 ó más semanas. (14)

Aproximadamente entre el 1 y el 2% del ganado de una población está infectado de forma permanente; muchos terneros virémicos sobreviven hasta la madurez sexual y se retienen para reproducción. Los terneros nacidos de estas madres infectadas son siempre persistentemente virémicos, y a menudo son débiles en el momento de nacer y no se desarrollan. Los animales virémicos persistentes son una fuente continua de virus infeccioso para el resto del ganado, y por tanto se requiere su identificación rápida y su retirada de la manada. En los animales para comercio, se debe comprobar la ausencia de viremia DVB persistente. (18)

Los toros con infección persistente generalmente tienen un semen muy infeccioso de baja calidad y, en consecuencia, una fertilidad reducida. Todos los toros destinados a inseminación natural o artificial deberían ser sometidos a pruebas para detectar infección persistente de DVB. (18)

4.1.5.6 Malformaciones

El VDVB es capaz de cruzar la placenta así como barrera hematoencefá-

lica fetal, produciendo diversas lesiones en el sistema nervioso central (principalmente cerebelo); la severidad en las lesiones se incrementa con la edad del feto al momento de la infección. También se ha reportado deformación esquelética (miembros posteriores, frontales doblados, braquignatismo mandibular, alopecia y anomalías en cabeza y mandíbula) (Figura 4). (15)

Figura 4. Deformación congénita (deformidad craneana y braquignatismo)



Fuente: (15)

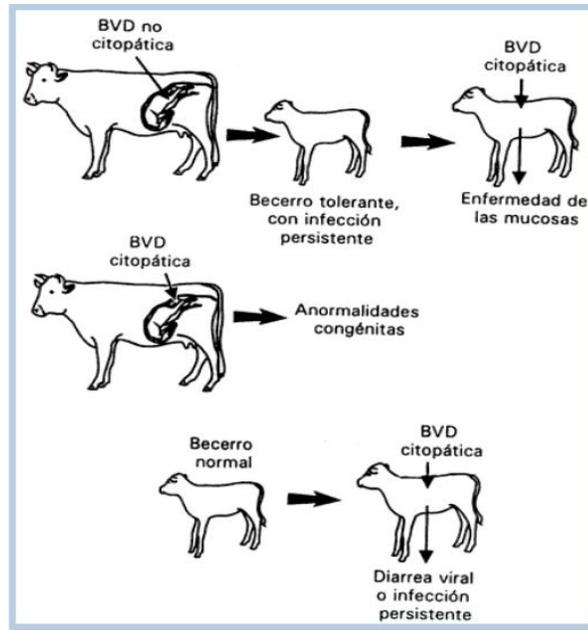
4.1.5.7 Enfermedad de las mucosas

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 y mucus, deshidratación, severa leucopenia y muerte dentro de los pocos días de presentar los signos clínicos. Las lesiones macroscópicas más saltantes en este caso son las úlceras y erosiones de la mucosa del tracto digestivo. La mortalidad puede alcanzar al 50%. (14,16)

Esta forma clínica ocurre cuando hay coinfección o superinfección con el biotipo CP. La fuente del virus CP coinfectante puede ser un virus de campo o virus vacunal o un virus que resulta por mutación del virus NCP (dentro del animal), causante de la infección persistente. Esta condición al parecer ocurre cuando el virus CP coinfectante o superinfectante y el virus NCP se combinan

perfectamente. Se debe puntualizar que no siempre las asociaciones de los biotipos NCP y CP dan como resultado la enfermedad de las mucosas, concepto que ha sido demostrado experimentalmente. (14,16)

Figura 5. Enfermedad de las mucosas.



Fuente: (15)

4.1.5.8 Diarrea viral bovina crónica

Esta forma es una secuela de la E.M. o de la forma aguda de BVD y se caracteriza porque el animal presenta una diarrea intermitente, ulceraciones en la cavidad buconasal, en los espacios interdigitales, debilitamiento y muerte, después de semanas o meses de sufrir la enfermedad. (14)

4.1.5.9 El virus BVD y el complejo respiratorio bovino

El virus BVD es parte importante del Complejo Respiratorio Bovino, por ser un agente inmunosupresor debido a la afinidad por el tejido del sistema

inmunológico. En general el virus produce atrofia del tejido linfoide, profunda 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: Pasteurella, Herpes Bovino 1 (IBR), Mycoplasma, etc. que dan lugar a un proceso respiratorio agudo. (14)

4.1.6 Inmunopatología

Un aspecto importante de la infección con VDVB es la aparente afinidad del virus por el sistema inmune y la inmunosupresión es una de sus principales características. El VDVB parece inducir respuestas mediadas por células T y B; existiendo una distinción entre respuestas humorales y mediadas por células, lo que sugiere la existencia de subpoblaciones de linfocitos T ayudadores 1 (Th1) y Th2 en la regulación de las respuestas inmunes específicas dirigidas contra el VDVB. Esto puede deberse a la afección de la función de células presentadoras de antígeno (APC: antigen presenting cells), llevando a una reducción en la habilidad para estimular respuestas de las células T. (15)

4.1.7 Signos clínicos

A menudo la enfermedad se presenta de forma subclínica, pero cuando lo hace de forma clínica, se observa una amplia variedad de signos:

- Fiebre
- Depresión
- Salivación (a consecuencia de las úlceras)
- Anorexia
- Descarga nasal seromucosa
- Tos
- Polipnea. (4)

Generalmente, esto da lugar después a diarreas profusas de olor fétido que pueden contener moco y sangre, esto también a consecuencia de las úlceras en estómago e intestino. En casos agudos, la muerte se presenta en 48 horas. (4)

La enfermedad puede durar de 3 a 7 semanas y hasta varios meses de forma intermitente, provocando que el ganado quede anorético a consecuencia del daño causado a nivel de las mucosas, recuperándose gradualmente. (4)

En algunas ocasiones se puede complicar con infecciones secundarias como necrobacilosis o micosis. En el 10% de los casos se presenta cojera, enrojecimiento con inflamación de la piel y tejidos subyacentes de la pezuña, cursando frecuentemente con laminitis. En hembras gestantes lo más notable es la presencia de abortos. (4)

4.1.8 Diagnóstico

Debido al amplio tipo y severidad de lesiones inespecíficas, en ocasiones solo evidenciadas por microscopía, el diagnóstico 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 PI, principal fuente de infección y reservorio del virus. (7)

Generalmente, el VDVB a nivel de laboratorio puede llegar a diagnosticarse mediante los siguientes procedimientos:

- Serología
- Detección del virus o componentes virales
- Aislamiento viral
- Detección de antígenos mediante enzimo-inmunoensayo (*ELISA*)
- Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (*IHQ*)
- Detección del ácido nucleico viral. (7)

4.1.8.1 Detección de anticuerpos contra el virus BVD (Diagnóstico serológico)

Las pruebas serológicas nos indicarán la presencia de anticuerpos, sin indicarnos la cepa involucrada. Estas pruebas son útiles para cuantificar anticuerpos posvacunación, para confirmar la aplicación de la vacuna y una adecuada respuesta inmune. Entre estas pruebas tenemos:

- Detección directa de antígenos virales:
- Técnicas inmunohistológicas.
- Técnicas de Inmunofluorescencia.
- Técnica de inmunoperoxidasa.
- Seroneutralización en Placa y en embrión de Pollo.
- Inmunodifusión Radial
- Hemólisis Radial
- Prueba de Hemaglutinación (HA)
- Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (HI). (10)

Cuando un animal inmunocompetente es infectado por el virus BVD responde produciendo anticuerpos, que tienen la finalidad de neutralizar y eliminar al virus del organismo. 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. (6, 14)

1. **Fase A:** Rebaños con infección aguda sin animales PI. Solo un pequeño porcentaje del rebaño será seropositivo.
2. **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.

3. **Fase C:** Rebaños infectados con animales PI mayores de 3–4 meses de edad. Usualmente, más del 90 % del rebaño es seropositivo.
4. **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.
5. **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. (6, 7)

Estos estudios epidemiológicos han permitido desarrollar diferentes métodos serológicos para la detección de rebaños con infección activa en bovinos persistentemente infectados (PI) de manera simple, eficaz y económica. (6, 7)

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. (6, 7)

Medir el nivel de anticuerpos en leche almacenada en tanques también permite determinar el status 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. (6, 7)

4.1.8.2 Detección de antígenos mediante enzimo–inmunoensayo (ELISA)

La Primera vez que se utilizó ELISA para medir anticuerpos virales fue realizado por Voller y Bidwell. Es una prueba inmunológica muy sensitiva utilizada para detectar y medir la cantidad de anticuerpos circulantes. (10)

El nombre ELISA es una abreviación en inglés que se describe como (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) siendo su traducción como Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. ELISA ha sido aplicada para una serie de patógenos incluyendo virus, bacterias, micoplasmas y parásitos. Se han sucedido muchas variaciones en la metodología del ELISA desde su desarrollo en los años 60, pero el concepto básico sigue siendo la detección inmunológica y la cuantificación simple o múltiple de antígenos o anticuerpos de la muestra del paciente (usualmente suero). (10,17)

La prueba de ELISA es altamente sensitiva, pero tiene baja especificidad, pero es una excelente herramienta de diagnóstico porque mide cuantitativamente todos los serotipos de un antígeno viral determinado. La prueba de ELISA debe ser utilizada como prueba de monitoreo y posteriormente efectuar una prueba diagnóstica de serotipificación. (10,17)

La prueba ELISA convencional es realizada en una microplaca de 96 pozos. Normalmente estas placas están fabricadas en poliestireno o polivinilo. La superficie de los pozos es tratada con especial interés para optimizar la adhesión de la proteína o “antígenos” a los pozos. (10)

La prueba de ELISA utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para “capturar” antígenos del vDVB en muestras de sangre. Comparado con el aisla-

miento viral, es un método rápido y económico, por lo tanto, es el método de preferencia para la detección a gran escala de animales PI. (6, 7,17)

Fundamento de la prueba de ELISA

Los pozos en la microplaca sirven como el “fundamento” de la prueba ELISA. Cuando el suero de prueba que contiene los anticuerpos reconocen al antígeno agregado, estos anticuerpos se adhieren a los pozos recubiertos de antígeno. (10,17)

La prueba ELISA deriva su nombre al uso de enzimas (peroxidasa, fosfatasa, biotín, etc.) que están ligadas a los anticuerpos específicos. Estos anticuerpos ligados a enzimas (a menudo llamados conjugados) cuando se juntan a otro anticuerpo o a un antígeno, se vuelven los “generadores de color” del ensayo. Cuando una solución incolora llamada substrato se mezcla con el conjugado, el substrato transparente se colorea. La cantidad de color puede ser medida con un lector de placas ELISA. (10,17).

Concepto básico de la prueba de ELISA

La prueba de ELISA es una prueba colorimétrica, la cantidad de color de cada muestra es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra (entre más oscuro esté el pozo con la muestra, mayor es la cantidad de anticuerpos presentes en esa muestra de suero). La cantidad de color se mide en un lector ELISA y registrada en Densidades Ópticas (D.O.). La D.O. de cada muestra es comparada con el control positivo para calcular el factor SP (muestra positiva). El título de cada muestra se calcula usando una ecuación de regresión lineal y el factor SP. (10,17)

Generalmente, los sistemas ELISA basados en anticuerpos policlonales diri-

gidos contra varias proteínas y glicoproteínas de cepas antígenamente diferentes, son capaces de detectar una amplia variedad de vDVB. 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 vDVB. (6, 7,17)

4.1.9 Prevención y control

Se debe de vacunar a los terneros entre los 6 y 10 meses de edad y a las vacas no gestantes. Los animales que están ya padeciendo la enfermedad deben de ser aislados. Se deben de tomar medidas de sanitarias efectivas, como lo son la desinfección de locales, evitar visitas, así como la eliminación de vectores. (4)

La vacunación es una de las herramientas de prevención y control que da una ventaja ante las enfermedades virales principalmente. En la actualidad existen dos tipos de vacunas:

- Virus vivo modificado
- Virus muerto o inactivado. (14)

Vacuna a virus vivo modificado:

Esta 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, por ejemplo en animales estresados se incrementa la

mortalidad por problemas respiratorios; no puede usarse en animales gestantes y puede revertir a la virulencia causando serios problemas. (14,16)

Vacuna a virus muerto:

Esta 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. En la actualidad existen muchas marcas comerciales y la tendencia es el empleo de vacunas a virus muertos polivalentes con dos o más cepas de virus BVD. (14,16)

Entre otras medidas se menciona llegar a lotificar a los animales por edades, vacunar a las hembras en período abierto y a las vaquillas que van por primera vez a servicio. (4)

La vacunación en hembras gestantes provoca efectos teratogénicos, las vacunas modificadas son peligrosas si se usan en vacas gestantes. A la fecha no se puede especificar con precisión el tipo de vacuna ideal en cualquier circunstancia. (4)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

El presente trabajo se realizó con 40 novillas y sus respectivas madres que se encuentran en una finca del municipio de Tecpán, Chimaltenango, Guatemala, el cual se encuentra a una altura de 2,286 metros sobre el nivel del mar. Es caracterizado por un clima frío y su espesa niebla al amanecer y el atardecer.

5.2 Materiales

5.2.1 Recursos humanos

- Estudiante investigador.
- Asesores de tesis.
- Personal de la finca donde se realizará la investigación.

5.2.2 Recursos de campo

- Vehículo
- Vacuna contra diarrea viral bovina
- Hielo
- Tubos sin anticoagulante color amarillo con gel para separar el suero.
- Algodón
- Alcohol
- Jeringas de 5 cc
- Jeringas de 10 cc
- Ternillera
- Lazos
- Cámara fotográfica

- Botas de hule

5.2.3 Recursos de laboratorio

- Prueba de ELISA (microplaca de 96 pozos), siendo los reactivos los que se presentan a continuación:

Cuadro No. 1 Materiales utilizados en la prueba de ELISA

REACTIVOS	CANTIDAD
Microplacas tapizadas con proteína P80	5
Solución de lavado concentrada (20x)	100 ml.
Solución Tampón de dilución 9	120 ml.
Solución Tampón de dilución 1	120 ml.
Control positivo	2 ml.
Control negativo	2 ml.
Conjugado anti P80 peroxidasa HRPO Concentrado	0,75 ml.
Substrato TMB 9	60 ml.
Solución de Frenado 3	60 ml.

Fuente: (13)

5.2.4 Recursos biológicos

- Suero de 80 animales, 40 novillas y 40 de sus madres de ganado lechero que se encuentran en una finca del municipio de Tecpán, Chimaltenago.
- Vacuna contra diarrea viral bovina.

5.2.5 Recursos de escritorio

- Libreta de apuntes.
- Computadora.
- Impresora.

5.2.6 Centros de referencia

- Biblioteca central de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bibliotecas particulares y docentes.
- Páginas de internet.

5.3 Metodología

Se tomó en cuenta el historial de vacunación del hato así como de las madres con problemas reproductivos.

La investigación se realizó por medio de:

- Toma de muestras de sangre de las madres con problemas reproductivos.
- Toma muestras de sangre de las terneras de una a dos semanas de edad.
- Se aplicó vacunas contra diarrea viral bovina únicamente a las terneras de dos meses de edad.
- Se volvió a tomar muestras de sangre a las 4 semanas post vacunación.
- Los sueros obtenidos de madres y terneras se analizaron con la prueba serológica de ELISA para detectar anticuerpos contra Diarrea Viral

Bovina, por lo que se espero que las terneras y sus respectivas madres obtuvieran resultados negativos a la prueba, ya que no hay presencia de anticuerpos.

- Se compararon resultados serológicos pre y post vacunación.

5.3.1 Muestra

Se sometieron a examen serológico 120 muestras de sueros, 40 de terneras y 40 de sus respectivas madres y otra toma de muestras post vacunación solo de las 40 terneras de una finca del municipio de Tecpán, Chimaltenango, Guatemala, tomándose una cantidad de 5 ml de sangre, para poder llegar a repetir la prueba, en caso sea necesario.

5.3.2 Línea de la investigación

Técnicas de diagnóstico y vigilancia epidemiológica, enfermedades infecto-contagiosas.

5.4 Técnica de diagnóstico

- Prueba de ELISA (microplaca de 96 pozos)
- El título de cada muestra se calculó usando una ecuación de regresión lineal y el factor SP, generalmente, es un método que el lector lo da.

5.5 Método estadístico

El diseño es un estudio de caso, que fué de tipo descriptivo de corte longitudinal y se analizó utilizando la prueba Wilcoxon para 2 muestras independientes.

Diseño estadístico

Estudio descriptivo de tipo longitudinal.

Análisis estadístico

VARIABLES A ANALIZAR:

Serología a Diarrea Viral bovina (positiva o negativa)

Se usó una prueba de Wilcoxon para dos muestras dependientes y la prueba no paramétrica de Friedman para la correlación de las serologías entre madre e hija y los resultados pre y post vacunación.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

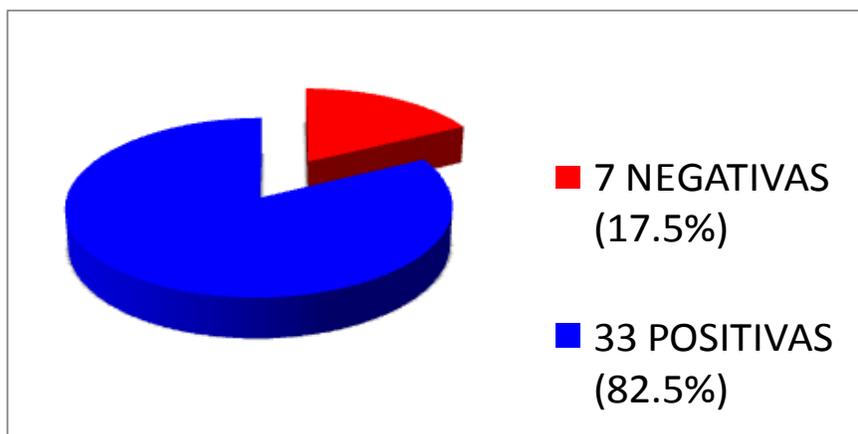
Se analizó el total de 40 sueros sanguíneos de terneras provenientes de madres serológicamente positivas a DVB. Los resultados se presentan en el cuadro 2 y gráfica 1. En el cual podemos observar que 33 de las terneras dieron resultado positivo para un 82.5%, y las 7 terneras restantes dieron negativo para un 17.5%.

Cuadro 2. Determinación de la presencia de anticuerpos contra VDVB mediante ELISA a 40 terneras pre vacunación

Positivas	Negativas
33 (82.5%)	7 (17.5%)

Fuente: elaboración propia

Figura No. 6. Resultados de la determinación de la presencia de anticuerpos contra el VDVB a 40 terneras (2 semanas de edad), mediante ELISA



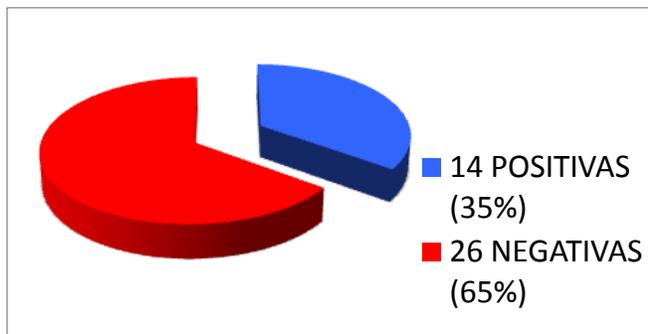
Fuente: elaboración propia

Cuadro No. 3. Determinación de la presencia de anticuerpos contra VDVB mediante ELISA a 40 terneras 21 días post vacunación

Positivas	Negativas
14 (35%)	26 (65%)

Fuente: elaboración propia

Figura No. 7. Determinación de la presencia de anticuerpos contra el VDVB mediante ELISA a 40 terneras 2 meses 21 días de edad



Fuente: elaboración propia

Cuadro 4. RESULTADOS. GUATEMALA OCTUBRE 2,014

Post vacunación	Ante vacunación	Positivo	Negativo
Positivo		10	4
Negativo		23	3
total		33	7

Fuente: elaboración propia

Por medio de la prueba de Spearman de correlación no paramétrica se determinó que existe una correlación estadística ($P < 0.05$) entre los resultados de la serología de la madre con la serología de la hija al nacimiento.

Sin embargo la prueba estadística de Wilcoxon nos dio una diferencia altamente significativa de ($P < 0.0015$) entre los dos muestreos de las terneras ante y post vacunación.

Los resultados obtenidos en el primer muestreo antes de la vacunación de las terneras (de 2 semanas de edad) fue de 82.5% (33 terneras) positivas y 17.5% (7 terneras) negativas a la detección de anticuerpos contra el VDVB con la prueba de ELISA. Los resultados positivos pueden deberse a la presencia de los anticuerpos calostrales de Diarrea Viral Bovina y/o bien debido a que no tuvieron una debida ingestión de calostro al nacimiento, ya que una adecuada ingestión de calostro son transmitidos los anticuerpos de la madre a la ternera.

Los resultados obtenidos en el segundo muestreo, realizado posterior a la vacunación con DVB de las 40 terneras fue 35% (14 terneras) positivas y 65% (26 terneras) negativas a la detección de anticuerpos contra el VDVB mediante la prueba de ELISA.

En base a (Rivera H. 1993). Refiere que de los 120 a 125 días de gestación, el embrión no tiene el sistema inmune bien desarrollado, por lo que cuando el virus de la DVB ingresa, lo reconoce como propio, y así la gestación llega a término. Además cuando el ternero tiene de 6 a 9 semanas de edad, se produce lo que se conoce como “ Ventana Inmunológica”, donde la ternera ha desarrollado su sistema inmune, produciendo sus propios anticuerpos al existir la presencia o el ingreso de un agente etiológico.

En el caso específico del ingreso del antígeno vacunal de la DVB, el organismo de la ternera lo reconoce como propio, por lo cual no produce anticuerpos en contra del mismo, dando como resultado negativo a la detección de anticuerpos contra la DVB a la prueba de ELISA.

Al comparar los porcentajes del primer muestreo con 17.5% (7 terneras) negativas con el segundo muestreo con 65% (26 terneras) negativas, podemos inferir que existió un aumento del número de terneras negativas a la prueba de ELISA. Esto pudo deberse a que éstas poseían el virus de la DVB al nacimiento y al ser vacunadas no formaron anticuerpos, ya que son portadoras; por lo que no fueron sensibles a la prueba de ELISA. Lo que nos hace concluir que son Persistentemente Infectadas (PI).

La disminución de la cantidad de las positivas al comparar los resultados del primer muestreo que representa el 82.5% (33 terneras) de la población y el resultado del segundo muestreo que representa el 35% (14 terneras) de la población, es debido a que el sistema inmune sí creó anticuerpos como consecuencia a la introducción del virus de DVB de forma vacunal por lo que fueron detectados a través de la prueba de ELISA (antígeno-anticuerpo).

Se escogió la prueba de ELISA ya que, comparado con el aislamiento viral, ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad (97,9 % y 99,7 % respectivamente), y porque por el momento en el país no se cuenta con otro tipo de prueba específica para esta enfermedad.

VII. CONCLUSIONES

- Sí existe correlación positiva ($P < 0.05$) entre la serología a diarrea viral bovina (DVB) de las madres, con la de las hijas al nacimiento.
- Las muestras de suero sanguíneo tomadas de las terneras a las 2 semanas de nacidas pre-vacunación dieron resultado positivo en 82.5% (33 terneras) a la detección de anticuerpos contra DVB mientras que el 17.5% (7 terneras) resultaron negativas
- Del hato de 40 terneras en estudio dieron como resultado en el segundo muestreo un 35% (14 terneras) positivas y 65% (26 terneras) negativas a la detección de anticuerpos contra el VDVB con la prueba de ELISA.
- Se puede considerar que el 65% (26 terneras) bajo estudio fueron infectadas vía transplacentaria por sus respectivas madres entre los 120 y 125 días de gestación.
- Aplicando la prueba estadística de Wilcoxon se encontró una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.0015$) entre los resultados de los dos muestreos Pre y Post vacunación.
- Se puede utilizar la prueba diagnóstica de ELISA para detectar animales Persistentemente Infectados (PI) mientras no se disponga de otra prueba confirmativa en el país.

VIII. RECOMENDACIONES

- Implementar un programa de vacunación adecuado para prevención de la propagación del virus de la Diarrea Viral Bovina en terneras que no estén infectadas.
- Se debe vacunar a los terneros entre los 6 y 10 meses de edad y a las vacas no gestantes.
- Poner en cuarentena a las sometidas a este estudio para observación de signos.
- Los animales que ya están padeciendo la enfermedad deben ser aislados.
- Llevar un control estricto de ingresos y egresos de animales en el hato.
- Se deben tomar medidas sanitarias efectivas, como lo son la desinfección de locales, evitar visitas, así como la eliminación de vectores.
- Que se vele por la adecuada ingestión de calostro y reducir el padecimiento de trastornos respiratorios y digestivos a través de la vigilancia epidemiológica del hato ya que ésta es fundamental para mantener limitada la enfermedad y si es posible erradicarla.

IX. RESUMEN

El presente estudio se realizó para determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de DVB en un hato lechero de 40 novillas y sus respectivas madres y así identificar las novillas persistentemente infectas. Dicho estudio tuvo una duración de 6 meses.

Se tomaron muestras de suero sanguíneo a las novillas y sus respectivas madres, se compararon las muestras de suero sanguíneo de las novillas tomadas a las 2 semanas de nacidas y 21 días post vacunación. Se corrió la prueba de ELISA (alta sensibilidad 97% y especificidad 99,7%) a todas las muestras. Los resultados positivos del primer muestreo pueden deberse a la presencia de los anticuerpos calostrales de Diarrea Viral Bovina y/o bien debido a que no tuvieron una debida ingestión de calostro.

Los resultados negativos del segundo muestreo pueden deberse a que al ingresar vacunalmente el virus el cual es reconocido como propio del sistema inmune, no produciéndose anticuerpos contra este. Ya que entre los 120 a 125 días de gestación, el virus de DVB ingreso y el embrión no tenia el sistema inmune bien desarrollado, y este lo reconoció como parte del organismo, llegando la gestación a término.

Por medio de la prueba de Spearman se determinó que existe una correlación estadística ($P < 0.05$) entre los resultados de la serología de la madre con la serología de la hija al nacimiento.

Sin embargo la prueba estadística de Wilcoxon nos dio una diferencia altamente significativa de ($P < 0.0015$) entre los dos muestreos de las terneras ante y post vacunación.

SUMMARY

The present study was performed to determine the presence of antibodies against BVD in a dairy herd of 40 heifers and their mothers. And identify persistently infected heifers. The study lasted 6 months.

Serum samples were taken to heifers and their mothers. Samples of blood serum of heifers taken at 2 weeks old and 21 days post vaccination were compared. ELISA (high sensitivity 97% and specificity 99.7%) was run to all samples. The positive results of the first sampling may be due to the presence of colostral antibodies to bovine viral diarrhea and / or because they did not had an adequate intake of colostrum.

The negative results of the second sample may be due to the entry by vaccines, the virus itself is recognized as own of the immune system, no producing antibodies against this. Since between 120-125 days gestation, BVDV entry and the embryo did not have well-developed immune system, and it recognized it as part of the body, reaching the term gestation.

Through the Spearman test is determined that there is a statistical correlation ($P < 0.05$) between the results of the serology of the mother, and serology daughter at birth.

However, the statistical Wilcoxon test gave a highly significant difference ($P < 0.0015$) between the two samples of calves before and after vaccination.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brownlie J. 1997. Virus de diarrea viral bovina patogénesis y control: Diarrea viral bovina. (en línea). Royal Veterinary College, United Kingdom. Consultado 20 sep. 2012. Disponible en <http://www.cdvs.com.ar/Images/pdf/DIARREA%20VIRAL%20BOVINA.pdf>
2. Celedón M. 2008. Comportamiento y participación del virus de la diarrea viral bovina en la producción bovina y su control: Diarrea viral bovina. (en línea). Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. CL. Consultado 23 sep. 2012. Disponible en http://www.healthcare.bayerconsul.com/novedades/proyecta_200803.pdf
3. El manual Merck de Veterinaria: Un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de las enfermedades para el veterinario. 1993. Ed. CM Fraser. 4 ed. Barcelona, ES, Merck & CO. 208 p.
4. Enciclopedia bovina. Diarrea viral bovina. s.f. (en línea). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. MEX. Consultado 23 sep. 2012. Disponible en http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04DiarreaViralBovina.pdf
5. Lavado embrionario procedimiento. s.f. (en línea). Consultado 21 oct. 2012. Disponible en <http://www.sembrio.com/embriones>
6. Lértora, W.J. 2003. (a). Diarrea viral bovina actualización: Diarrea viral bovina patogénesis. (en línea). Cátedra de Patología General y Sistemática. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. ARG. Consultado 23 sep. 2012. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/22-diarrea_viral_bovina.pdf
7. _____. 2003. (b). Diarrea viral bovina actualización. (en línea). Cátedra de Patología General y Sistemática. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. ARG. Consultado 23 sep. 2012. Disponible en http://www.produccionbovina.com/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/34-diarrea_viral_bovina.pdf

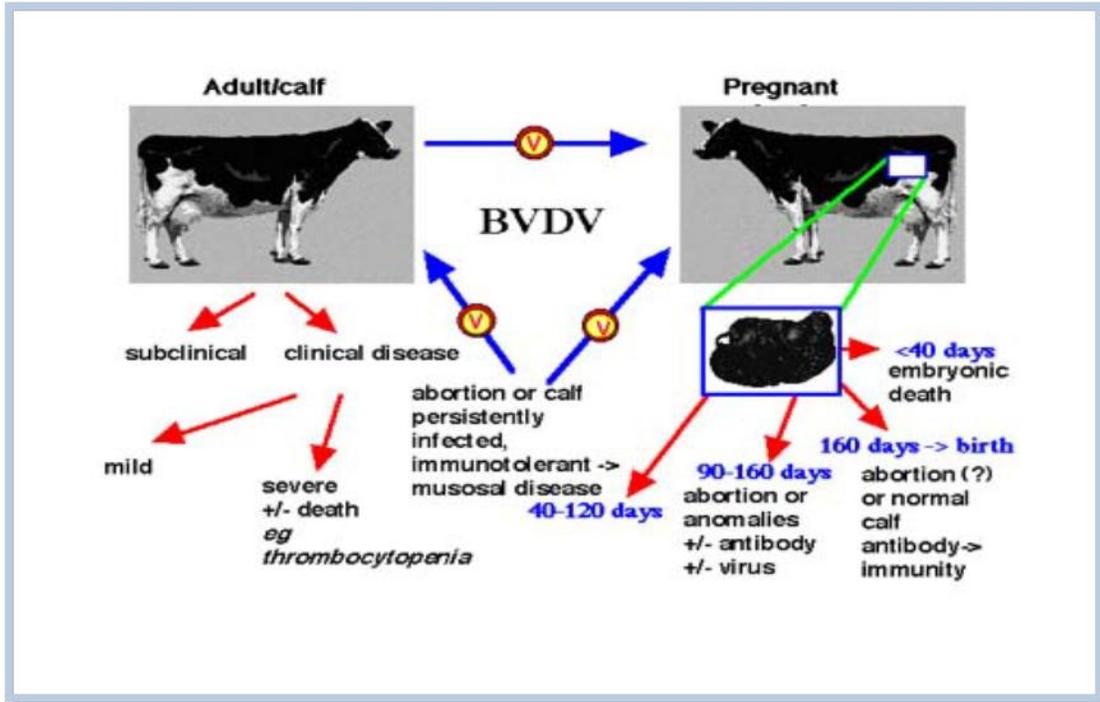
8. M. Rweyemantu, A.A. Schudel. s.f. Incidencia, epidemiología y control de la diarrea viral bovina en América del Sur. (en línea). Consultado 18 oct. 2012. disponible en : <http://www.oie.int/doc/ged/D9423.PDF>
9. Mapa distribución de enfermedades: Diarrea viral bovina. 2012. (en línea). Consultado 21 oct. 2012. Disponible en http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap/index/newlang/es
10. Motta Padilla, MA. 2002. Comparación de la pruebas serológicas de inhibición de la hemoaglutinación (HI) y la prueba de inmuno ensayo de enzima asociada (ELISA) en la detección de anticuerpos circulantes contra la enfermedad de newcastle. Tesis. Lic. *Med. Vet.* Guatemala. GT, USAC/-FMVZ. 29 – 32 p.
11. Obando Cesar, MV, MSc; Rodríguez Josefa, MV, MSc. s.f. Diarrea viral bovina. (en línea). Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias– INIA. VZ. Consultado 23 sep. 2012. Disponible en http://www.av-pa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo7-s5.pdf
12. Palma G. s.f. Biotecnología de la reproducción: Lavado embrionario en bovinos. (en línea). Consultado 21 oct. 2012. Disponible en http://www.re-probiotec.com/libro_rojo/capitulo_06.pdf
13. Pourquir. Kit para la detección de Anticuerpos frente a la proteína P80 del virus de la Diarrea viral bovina (BVDV), de la Enfermedad de las Mucosas (MD) y de la Enfermedad de la Frontera (BD). Instituto Pourquier IDEXX laboratorios, Inc. Montpellier, Fr.
14. Rivera H. 1993. El virus de la diarrea viral bovina (BVD): Diarrea viral bovina en terneros. (en línea). Consultado 20 sep. 2012. Disponible en http://sisbib.unmsn.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v06_n1/virusd.htm
15. Rondón I. 2006. Diarrea viral bovina patogénesis e inmunopatología: Diarrea viral bovina. (en línea). Universidad de Los Llanos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. COL. Consultado 23 sep. 2012. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v11n1/v11n1a03.pdf>
16. Stanchi N. 207. *Microbiología Veterinaria*; Ed. Inter-Medica. Argentina. 572 p.

17. Técnica de ELISA procedimiento. s.f. (en línea). Consultado 21 oct. 2012. Disponible en [http://es.scribd.com/doc/15834994/Tecnica-de-ELISA-Enzy-me - Linked-Immuno-Sorbent-Assay](http://es.scribd.com/doc/15834994/Tecnica-de-ELISA-Enzy-me-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)
18. Virus diarrea viral bovina. 2008. Manual de la OIE sobre animales terrestres. (en línea). Consultado 23 sep. 2012. Disponible en http://web.o-ie.int/esp/normes/manual/pdf_es_2008/2.04.08.%20Diarrea%20viral%20bovina.pdf

XI. ANEXOS

Patogenia de la VDVB

Figura 8. Infección en gestación tardía



Fuente: (2)

IMÁGENES A LA NECROPSIA

Figura 9. Necrosis del epitelio



Fuente: (2)

Figura 10. Destrucción del tejido linfoide



Fuente: (2)

Figura 11. Placas de Peyer activadas



Fuente: (2)

Figura 12. Hiperemia intestino



Fuente: (2)

Figura 13. Ulceras en lengua.



Fuente: (2)

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

**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL DIAGNÓSTICO DE TERNERAS
PERSISTENTEMENTE INFECTADAS (PI) POR DIARREA VIRAL
BOVINA EN UN HATO DE GANADO BOVINO LECHERO CON
TRASTORNOS REPRODUCTIVOS EN UNA FINCA DE TECPÁN
GUATEMALA, CHIMALTENANGO**

f. _____
Carlos Alberto Pimentel Arriola

f. _____
M.Sc. Freddy Rolando González Guerrero
ASESOR PRINCIPAL

f. _____
Dra. M.V. Jacqueline Escobar
Muñoz
ASESOR

f. _____
M.A. Rember Rafael Arriola Molina
ASESOR

f. _____
M. Sc. Juan José Prem González
EVALUADOR

IMPRÍMASE:

f. _____
M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO