

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**

**UNAN-LEON**

**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**Tesis para optar al título de Licenciado en Medicina Veterinaria.**

**Seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina en 5 municipios del departamento de León, durante el periodo comprendido de Marzo a Septiembre del año 2009.**

**Autores:**

Br. Yaseri del Carmen Hernández Centeno.

Br. Walter Rafael Méndez Antón

**Tutor:**

MSc. José Luís Bonilla.

León, 24 de noviembre del 2009

## **Dedicatoria**

### **A Dios:**

Por ser el aliciente en nuestras vidas y fuente de nuestra lucha diaria por seguir el camino correcto.

### **A nuestros padres:**

Por haber recibido su apoyo incondicional a lo largo de nuestra vida educativa.

### **A nuestros maestros:**

Quienes nos transmitieron los mejores y mayores conocimientos para formarnos de manera eficaz como los mejores profesionales con deseo de superación y sensibilidad social.

### **Al Dr. Gonzalo Guerrero IN MEMORIA:**

Por habernos brindado su apoyo para la realización de esta investigación y haber sido un amigo y educador más a lo largo de nuestra carrera profesional.

<b>CONTENIDO:</b>	<b>Pág.</b>
<b>I. RESUMEN</b>	1
<b>II. INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>III. ANTECEDENTE</b>	4
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b>	6
<b>V. OBJETIVOS</b>	7
General	7
Específico:	7
<b>VI. MARCO TEÓRICO</b>	8
6.1 Concepto	8
6.2 Historia	9
6.3 Etiología	9
6.4 Epidemiología	13
6.5 Patogenia	17
6.6 Síntoma y Patología	20
6.7 Diagnóstico	26
6.8 Prevención. Control y profilaxis	30
<b>VII. MATERIAL Y MÉTODO</b>	33
7.1 Tipo de estudio	33
7.2 Población	33
7.3 Tamaño de la muestra	33
7.4 Selección y recolección de la muestra	33
7.5 Metodología de la técnica diagnóstica	34
7.6 Materiales	34
<b>VIII. RESULTADOS</b>	36
<b>IX. DISCUSIÓN</b>	37
<b>X. CONCLUSIÓN</b>	39
<b>XI. RECOMENDACIONES</b>	40
<b>XII. BIBLIOGRAFIA</b>	41
<b>XIII. ANEXOS</b>	47

## I. RESUMEN

La Diarrea Viral Bovina (DVB), es una enfermedad enzoótica en la población bovina mundial y de mucha importancia económica por las fallas reproductivas y por afectar la salud del hato en general. Este estudio tuvo por objetivo determinar la seroprevalencia del virus de Diarrea Viral Bovina en 5 municipios del departamento de León. Se obtuvieron muestras de sangre de bovinos (n=298) entre machos y hembras mayores de seis meses de edad para la detección de anticuerpos mediante la técnica de ELISA indirecta donde se utilizaron placas de microtitulación tapizadas con antígenos de vDVB. El 21.2% (60/283) de los animales presentaron anticuerpos contra el vDVB. Los resultados mostraron una alta prevalencia de anticuerpos frente a la enfermedad en el municipio de León seguido del municipio de Malpaisillo y La Paz Centro.

## II. Introducción

El virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB), causa grandes daños a los sistemas de producción animal, los cuales dependen de la actividad reproductiva. Este Virus está distribuido mundialmente (Houe, 1995, 1999) y su efecto negativo en la reproducción, es lo que genera pérdidas económicas. Esto es debido a la muerte de animales, disminución en la producción de leche, retraso en el crecimiento de los animales afectados, y sobre todo abortos frecuentes en distintas fases de la gestación.

El virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB), pertenece al género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae* (los pestivirus han sido reclasificado de la familia *Togaviridae* a la familia *Flaviviridae* por la quinta reunión del comité internacional de taxonomía viral). Dentro de este mismo género se encuentra la Enfermedad de la Frontera (VEF) y la Peste Porcina Clásica (PPC) los cuales están antigénica y genéticamente relacionados (Lértora, 2003, Rondón, 2006). El virus de la Diarrea Viral Bovina es un virus ARN que se multiplica en los tejidos linforreticulares (sistema fagocitario mononuclear). Este virus afecta además a los ovinos, caprinos, animales rumiantes salvajes y porcinos para los cuales es también patógeno (J. Marín, 1996), siendo los bovinos los principales vectores.

El vDVB, posee dos biotipos, citopático y no citopático sobre la base de su desarrollo en cultivos celulares y que no se diferencian serológicamente, pero ambos biotipos ocasionan la misma enfermedad con amplio rango de manifestaciones clínicas. Posee dos genotipos, tipo I y II según su secuencia de ácido nucleico (Rondón 2006).

El vDVB 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 (Bielefeldt 1995).

El diagnóstico se basa únicamente en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico. Las pruebas serológica es la mejor alternativa para la detección del

virus en las poblaciones bovinas. Dentro de las más importantes se encuentran: Inmunodifusión en agar gel (AGID) (Cotrino y col, 2003), Neutralización Viral (NV) y Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) (Lértora 2003)

En Nicaragua no se han realizado estudios de seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina, por lo que el estudio de este agente viral es de mucha importancia ya que sirve de base para tener información epidemiológica de la enfermedad en el occidente del país; y por tanto efectuar o diseñar buenas medidas de control que permitirán disminuir el impacto negativo que tiene sobre la reproducción y producción animal.

Debido a los efectos que tiene el virus de DVB sobre la reproducción (aborto, mal formaciones congénitas, muerte perinatal) y además del desconocimiento de esta patología en el país, el presente estudio pretende determinar la seroprevalencia del virus en el departamento de León y Chinandega con el fin de implementar medidas para controlar la diseminación de este agente y así reducir de forma significativa el impacto que este agente ejerce sobre la reproducción y productividad.

### III. Antecedentes:

La DVB fue descrita por primera vez en 1946 como una enfermedad aguda, epizootica, caracterizada por gastroenteritis aguda, lesiones erosivas del tracto digestivo y mortalidad alrededor de 4 – 8 %. Ramsey y Chivers, reportaron una enfermedad con síntomas similares a los del vDVB pero con una morbilidad entre 5 – 20 % y una mortalidad superior al 90%, a la cual denominaron Enfermedad de las Mucosa (EM).

La naturaleza insidiosa de la Diarrea Viral Bovina ha llevado a pérdidas económicas substanciales a la industria lechera y de carne ya que la infección por vDVB se encuentra ampliamente distribuida a través del mundo. El grado de difusión y prevalencia tiende a variar entre regiones y países, ella tiende a ser endémica en la mayoría de los países con población bovina importante, de modo que el 60 a 80% del ganado presenta anticuerpos frente al agente y entre el 1 al 2 % esta persistentemente infectado (Lértora,2003).

En Argentina los datos de seroprevalencia son variables. Según Lértora 2003, informan que la situación en este país es similar a la del resto del mundo, con 70% de seroprevalencia y una prevalencia en bovinos PI del 1%, además se reportan Seroprevalencia de 90,7% y 48,6% en bovinos adultos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires y en los llanos de la Rioja, respectivamente. El porcentaje de bovinos seropositivos de 6 a 12 meses de edad fue de 41,9%, 25,6% y 46,6% para 11 distritos del sudeste de la provincia de Buenos Aires, 7 del Sur de Corrientes y 9 de los de llanos de La Rioja, respectivamente.

En un estudio de Seroprevalencia del vDVB en bovinos criollos de la provincia de Melgar, Puno (Richard, 2008). Se obtuvieron muestras de sangre de bovinos (n=347) machos y hembras mayores de 6 meses de edad para la detección de anticuerpos neutralizantes mediante la prueba de neutralización viral. El  $48.7 \pm 0.1\%$  (166/347) de los animales presento anticuerpos contra el vDVB. No se detectaron animales portadores del virus. Anticuerpos fueron detectados en animales de todos los distritos

con prevalencia entre 15.7 a 94.1%. Los títulos de anticuerpos estuvieron en un rango de 2 a >256, indicando que el vDVB está ampliamente difundido en bovinos de la zona.

En Nicaragua no se ha realizado ningún estudio sobre el virus de la Diarrea Viral Bovina, por lo que el estudio de este agente viral es de mucha importancia ya que sirve de base para otros estudios epidemiológicos y por tanto efectuar o diseñar buenas medidas de control que permitirán disminuir el impacto negativo que tiene sobre la reproducción y producción animal.



#### **IV. Justificación:**

El virus de la Diarrea Viral Bovina afecta de forma entérica y reproductiva, siendo estas patologías las que limitan los procesos productivos y reproductivos de los bovinos. Esto genera pérdidas económicas en los hatos ganaderos de diferentes países del mundo, además se imponen numerosas restricciones en la comercialización de los animales, ya sea en la compra de éstos, asistencias a ferias y toros de centros de inseminación, se les exige seronegatividad frente a esta enfermedad.

En los hatos ganaderos de Nicaragua existe un desconocimiento por parte de los productores de ésta patología y de su efecto negativo en la producción. Actualmente no existen antecedentes sobre estudios del virus de la Diarrea Viral Bovina, por lo tanto, este estudio pretende identificar la seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en el departamento de León y Chinandega. Mismo que servirá como base para futuros estudios epidemiológicos de dicho agente viral que a su vez podrán disminuir el impacto negativo que pueda tener sobre la reproducción y producción animal en Nicaragua, esto mediante la creación de medidas que permitan prevenir y controlar la enfermedad y así reducir de forma significativa el impacto que este agente ejerce sobre la reproducción y productividad.

## **V. Objetivos:**

### **Objetivo General:**

- ❖ Determinar la Seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina en 5 municipios del departamento de León, durante el periodo comprendido de Marzo a Septiembre del 2009.

### **Objetivos específicos:**

- ❖ Detectar anticuerpos frente al virus de la Diarrea Viral Bovina, mediante una prueba inmunoenzimática, ELISA tipo indirecta en fincas de los municipios en estudios.

## VI. MARCO TEÓRICO:

### 6.1 Concepto:

La Diarrea Viral Bovina/Enfermedad de las Mucosas (DVB/EM), es una enfermedad que afecta a los bovinos principalmente, provocada por un *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae*, se presenta en distintas formas que van desde una subclínica a clínica hiperaguda o aguda, hasta una crónica, acompañada por inmunodepresión que incrementa la susceptibilidad a patógenos secundarios. El cuadro clínico se caracteriza por una gastroenteritis acompañada de diarrea suave, úlceras en mucosa oral y nasal, y abortos en hembras gestante.

### 6.2 HISTORIA:

El virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) afecta al ganado bovino y fue descrito por primera vez en 1946 en los Estados Unidos de América, como una gastroenteritis acompañada de diarrea suave, úlceras en mucosa oral y nasal, y abortos en hembras gestantes (Olafson y col., 1946). En 1953 se describió la Enfermedad de las Mucosa (EM) en ganado de carne y leche de diferentes edades en Iowa y otros estados de EE.UU., donde también se observaron lesiones ulcerativas a nivel de mucosas y diarrea (Ramsey y Chivers, 1953). Ambos cuadros se deben al mismo agente, el virus Diarrea Viral Bovina (VDBV), perteneciente al género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae* (Baule, 2000).

La infección por vDVB se encuentra ampliamente diseminada a través del mundo y aunque la prevalencia de la infección varía entre los diferentes estudios realizados en diversos países, ella tiende a ser endémica en la mayoría de los países con población bovina importante, de modo que el 60-80% del ganado presenta anticuerpos frente al agente y entre el 1 al 2 % está persistentemente infectado (Houe, 1999).

El estudio de la enfermedad perdió interés en los años 70 y 80, y a partir de los años 80, se descubrió la amplia gama de presentación de la enfermedad, su importancia como

entidad inmunosupresora y sus efectos en la producción y la reproducción. Actualmente la DVB es considerada mundialmente como una de las principales enfermedades de importancia económica (Parra, 1994).

### **6.3 ETIOLOGIA:**

**6.3.1 Taxonomía y estructura:** El virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) pertenece al género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae* (Los *Pestivirus* fueron reclasificados de la familia *Togaviridae* a la familia *Flaviviridae* por la quinta reunión del comité internacional de taxonomía viral). Dentro de este mismo género se encuentra el virus de la enfermedad de las fronteras de ovinos y la peste porcina clásica (PPC) con los cuales se encuentra antigénica y genéticamente relacionados (Lértora, 2003, Rondón, 2006).

Los *Pestivirus* pueden cruzar la barrera placentaria de hospedadores diferentes, invadir el feto y generar una infección persistente que continua durante la vida postnatal, clínicamente inaparente, excretando el virus e infectando a otras especies. El vDVB puede infectar también de manera subclínica ovinos, caprinos, cerdos y otros rumiantes. Este virus también es un contaminante común de materiales biológicos, en especial líneas de cultivos celulares y sueros que se utilizan como promotores de crecimiento celular (José A. Giraudó, 2000).

Son virus envueltos, esféricos y miden 40 a 60 nm de diámetro. Se componen de una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica (Lértora, 2003); y nucleocápside no helicoidal, de simetría icosaédrica (Diderholm y col, 1996. Parra, 1994). El ácido nucleico es infeccioso en ausencia de las proteínas del virión, ya que el ARN viral es a la vez ARN mensajero; (Parra, 1994). En 1988 Collett encontró que el ARN tiene un solo ORF (open reading frame o marco abierto de lectura) y que la secuencia de nucleótidos codifica para 3988 aminoácidos, lo cual representa 449 Kda de proteína viral. El virus posee un solo marco de lectura abierta (ORF), presentado en ambos extremos 5` y 3` regiones no traducidas (UTR). La región UTR del extremo 5` es importante para la iniciación de la traducción del ORF; es región altamente conservada y contiene el Sitio de Entrada Interno al Ribosoma (IRES) que promueve la iniciación de la traducción de la poliproteína viral de manera similar al virus de

la hepatitis C (Hermelinda Rivera, 2008). El genoma posee proteínas estructurales y no estructurales; las proteínas estructurales son p20, p14 (C), gp48 (EO), gp25 (E1). En estudios realizados por Renard en 1987, con la cepa Osloss, produjo un DNA complementario (cDNA) al RNA viral y expresando y caracterizado en *E. coli*, obtuvo una longitud de 12490 bases, confirmando que el ARN no es poliadenilado y que sus condiciones bioquímicas lo sitúan más cerca de la familia *Flaviviridae* que de la familia *Togaviridae* (Barrieto 2004).

**6.3.2 Variabilidad:** La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. La característica principal de un virus ARN es su plasticidad la cual se debe a una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de bases 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 especie crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente (Lértora, 2003).

Otra posible causa para la variación es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados períodos de replicación en animales persistentemente infestados (PI). 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. Esto sugiere que, mientras los animales persistentemente infectados son más importantes como reservorios, los animales con infección aguda pueden ser más importantes para la generación de nuevas variantes antigénicas (Paton y col., 1994, Lambeth y col., 2007). Las consecuencias de esta diversidad se reflejan en el espectro de manifestaciones clínicas y lesiones, dificultando además, su diagnóstico y limitando el espectro de protección brindada por el empleo de vacunas monovalentes (Paton DJ. 1995).

**6.3.3 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 les 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 (Lértora 2003).

Existen 2 biotipos del virus: el citopático (CP) y el no citopático (NCP) según su comportamiento en cultivos celulares, y por el reordenamiento geonómico del gen no estructural p125/p80, donde en unos se obtiene el efecto visible (citopático) en células (NCP) y en otros se produce efecto visible (CP) en forma de vacuolización citoplasmática mediante un mecanismo apoptótico. Los virus NCP presentan afinidad por células linfocitarias mientras que los virus citopático infectan de manera predominante células epiteliales (Rondón, 2006).

Los virus citopático también se caracterizan por la expresión separada de las proteínas NS2 y NS3 (Donis y col, a,b 1987), los virus no citopático no ocasionan cambios o lesiones visibles en el cultivo celular, es decir que no causa ningún efecto en la monocapa celular que infecta y donde se multiplica adecuadamente, es decir que la célula infectada parece normal, pero no indica carencia de virulencia o patogenicidad en su huésped usual (bovinos); este biotipo es el más común en la naturaleza y se expresa NS2-3 como proteína fusionada (Bolin y col, 2004), esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedades de las mucosas (EM) y se origina por mutación a partir del biotipo NCP, ya sea por depleción de fragmento del genoma viral, inserción de fragmento de ARN celular y reordenamiento del ARN viral. Los virus NCP presentan afinidad por células linfocitarias mientras que los virus CP infectan de manera predominante las células epiteliales (Bolin y col, 1991, Bolin y col, 1992, Bolin y col, 2004).

Se considera que el biotipo CP podría derivar del NCP por efecto de mutaciones y recombinaciones (Bolin y col 1992, Collet 1992). Estudios genéticos han demostrado que las mutaciones y rearrreglos dentro de la región que codifica para la proteína no estructura p125 (p54/p80) están relacionados con la conversión del vDVB NCP a CP (Meyers y col 1992).

Los dos biotipos son igualmente sensible a temperaturas y ph; son rápidamente inactivados por calor y desecación, luz UV, detergente y solventes orgánicos (Reza, 2005). Chu (1984) con la cepa citopática NADL cultivada en células de medula ósea fetal bovina, observó un tamaño promedio para las partículas virales en todas las etapas necesarias para ensamblar el virus dentro de las células, lo cual con la manipulación necesaria para poder obtener una cantidad apreciable de virus, explica la gran variabilidad en el tamaño y forma de los viriones, ya que se encontró que la cubierta no es rígida siendo responsable de la fragilidad y pleomorfismo de los viriones (Citado por Arango 1994).

Las cepas más empleadas en los estudios de biología molecular y utilizadas por muchos laboratorios como antígenos de referencia en pruebas de seroneutralización son las cepas CP NADL, Oregon C24, Singer, Osloss, UG-59, Nose, y Tokachi; dentro de las cepas NCP se destacan la cepa New York 1, Drapper, Indiana-46 y la japonesa 12 (Nakamura y col, 2001).

Los aislamientos identificados, capaces de inducir la enfermedad aguda, pertenecen a un linaje genético distinto al vDVB designado como genotipo II. La comparación de secuencias de la región 5' no codificante (5' RNC) del genoma revela un 75% de homología con los genotipos I de los aislamientos del vDVB. Las cepas del vDVB se agrupan en dos genotipos diferentes, las de presentación clásica o vDVB I y las cepas muy virulentas o vDVB II responsables de producir trombocitopenia, hemorragias, fiebre, diarrea y muerte. La diferenciación entre ambos tipos se realiza a través de estudios moleculares, basados en el análisis filogenético de la región 5' no-codificante estrechamente relacionada con la patogenia y el tropismo de la enfermedad (A Gollan y col. 2006).

El vDVB tipo I causa primariamente enfermedad leve, pero en vacas preñadas las infecciones fetales pueden inducir aborto y otras fallas reproductivas además del nacimiento de animales PI; este se multiplica en una amplia variedad de cultivos primarios de fetos de bovinos, tales como riñón, cornete nasal, piel, testículos y pulmón, así como en líneas celulares estables como la Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), por lo que puede ser utilizado con fines diagnósticos (Obando y col., 2005). El virus tipo II es asociado principalmente con enfermedades respiratorias severa y un cuadro hemorrágico agudo, caracterizado por trombocitopenia, diarrea, hemorrágica, epistaxis, petequias, equimosis

en mucosas anemias, sangrado en zonas de inyección, pirexia, leucopenia y muerte. La diferencia en la virulencia entre el tipo I y el tipo II de vDVB y los mecanismos por los cuales el vDVB tipo II causa enfermedades hemorrágicas son desconocidos (Barrieto 2004).

La diversidad antigénica del vDVB es bien reconocida. Esta diversidad puede contribuir a la falla de vacunación, se ha demostrado que la habilidad de vacunas que contenían la cepa Singer 1 de vDVB, concedían protección cruzada contra infecciones de vDVB tipo II, pero recientes brotes han sugerido que el vDVB tipo II han continuado evolucionando, las vacunas que solo contienen antígeno del vDVB tipo I, o una variable antigénica similar al tipo II, no podrán proveer protección contra la enfermedad (Reza, 2005).

Ningún biotipo o genotipo tienen consistencia relacionado a su virulencia. En general, los *Pestivirus* tienen muy limitada habilidad para mantener su infectividad fuera del huésped (Nakamura, 2001). El vDVB pierde rápidamente su infectividad al contacto con solventes orgánicos y pH ambientales de 5.7 a 9.3. Su sensibilidad aumenta en variaciones de temperaturas y pH entre 4 y 37 grados (Reza, 2005).

## **6.4 EPIDEMIOLOGÍA:**

**6.4.1 Prevalencia de la infección:** Esta enfermedad tiene una distribución mundial 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 (Lértora, 2003).

**6.4.2 Hospedador:** Los *Pestivirus* infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden *Artiodáctila*. Los *Pestivirus* rumiantes infectan a porcinos, bovinos, ovino, 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.



**6.4.3 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, material 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 periodos.

Según Parra 1999, la distribución de los anticuerpos en los distintos grupos etareos en hatos con animales PI y sin animales PI, determina que existan 5 fases en el ciclo de infección:

- Fase A: Hatos con infección aguda sin animales PI, solo un pequeño porcentaje del hato será positivo.
- Fase B: Hatos 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 (Leche, Carne o doble propósito)
- Fase C: Hatos infectados con animales PI mayores de 3-4 meses de edad, usualmente más del 90% del hato es seropositivo.
- Fase D: Hatos previamente infectados donde los animales PI han sido removidos recientemente, los animales jóvenes serán seronegativos cuando pierdan sus anticuerpos calostrales a los 6-8 meses de edad, mientras que los animales adultos permanecen seropositivos.
- Fase E: Hatos previamente infectados, donde los animales PI han sido removidos hace varios años todos los animales jóvenes serán seronegativos (excepto algunos terneros con anticuerpos calostrales). Eventualmente el hato se volverá seronegativo.

**6.4.4 Modos de Transmisión de la enfermedad:** La transmisión de la enfermedad puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto.

**6.4.4.1 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 (PI). 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 recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Houe H. 1999).

Según Costable y col, 1993, cuando se infecta una vaca preñada no inmune con vDVB se produce una enfermedad subclínica y el virus rápidamente atraviesa la placenta. El éxito de la infección fetal depende de la virulencia de la cepa de vDVB y la edad del feto al momento de la infección:

- Si la infección del feto ocurre durante la gestación temprana: En animales gestantes que no han tenido previo contacto con el virus y que en condiciones naturales se infectan por vía respiratoria y/o oral, después de un período de incubación de 5-7 días presentan un leve incremento de la temperatura que pasa desapercibido y una profunda leucopenia de corta duración, con una viremia que puede persistir hasta por 15 días, en esta fase el virus atraviesa la placenta e infecta todos los tejidos fetales. Antes del día 60 de gestación, puede causar reabsorción fetal, muerte embrionaria y aborto, lo cual se observa cuando la vaca regresa rápidamente al celo (Costable, 1993). La muerte embrionaria temprana puede sobrevenir, presentándose en el primero de los casos un período entre estros normales y en el segundo un incremento de este intervalo. La muerte fetal puede sobrevenir en cualquier período originando abortos o momificación cuando el feto muerto es retenido (Bewoo y col, 2007).
- Si la infección ocurre entre los 60 y 100 días de gestación: La infección puede producir muerte y aborto con expulsión o momificación (Hermelinda, 2001). Cuando el sistema inmune fetal está en desarrollo, éste no reconoce como extraño al virus y el animal se vuelve inmunotolerante, clínicamente normal pero portador del virus a lo largo de su vida, estableciéndose una infección persistente o generando un animal PI inmunotolerante a la cepa infectante cuando alcanza su desarrollo inmune. Estos animales multiplican y excretan el virus durante el resto de su vida intrauterina y extrauterina y carecen de anticuerpos circulantes detectables a la

cepa resistentes (Brownlie y col, 1989). En fetos inmunotolerantes, el virus ocasiona interferencia en el crecimiento, diferenciación y maduración de sus tejidos, situación que no es causada por insuficiencia placentaria si no debido a su sistemática multiplicación en los tejidos causando un retardo en el crecimiento intra y extrauterino. Estos animales pueden ser más pequeños de talla y peso y su curva de crecimiento es sensiblemente menor que la de los animales sanos y además pueden llegar a desarrollar la Enfermedad de las Mucosas. Los animales PI son el principal reservorio del vDVB (Bewoo y col, 2007).

- Cuando la infección ocurre entre los días 100 a 150 de gestación: la infección del feto entre estos días puede ocasionar malformaciones congénitas (ya que en esta etapa está finalizando la organogénesis del sistema nervioso), nacimiento de terneros débiles, terneros persistentemente infectados (PI) y terneros normales (Bezek, 1995; Houe, 1999). Puede provocar el nacimiento de terneros débiles con alteraciones congénitas, hipoplasia cerebelar, lesiones oculares como degeneración de retina e hipoplasia, neuritis del nervio óptico y atrofia de la retina (Bewoo y col, 2007).
- Si la infección ocurre luego del día 150: Cuando el sistema inmune se encuentra desarrollado no se produce aborto y el animal es capaz de producir anticuerpos contra el Vdvh. Estos animales nacen sanos y no son portadores del virus (Bewoo y col, 2007).

**6.4.4.2 Transmisión Horizontal:** El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz-nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales (Houe H. 1995). Las vías de contagio pueden ser las secreciones nasales, saliva, heces, leche, sangre, orina, y también esperma, secreción vaginal, líquido amniótico y envolturas fetales, (J. Marín, 1996). El contacto directo con animales que sufren una infección aguda también puede transmitir el virus. El semen crudo o criopreservado de toros PI o con una infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal (Houe, 1999). También es posible la transmisión por transferencia embrionaria. La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además los cultivos celulares y el suero

fetal bovino utilizado en la transferencia embrionaria pueden estar contaminados (Costable y col, 1993).

**6.4.5 Transmisión entre rebaños:** 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 (Houe, 1995; Houe, 1999).

**6.4.6 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 transmisión 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 (Houe, 1995; Houe, 1999; Tremblay R, 1996).

**6.5 PATOGENIA:** El vDVB 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 (Lértora, 2003).

La principal vía por la cual penetra el virus es la oro-nasal (infección post natal), 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 (Jubb K y col, 1993). Se disemina a través del organismo por vía sanguínea, en forma libre o asociada a linfocitos/macrófagos, multiplicándose en diversas células pero principalmente en las del sistema fagocítico mononuclear (Confer *et al.*, 2005). La viremia ocurre por 4 ó 5 días, puede persistir hasta por 15 días y resulta en inmunodepresión,

ocasionando un incremento de la susceptibilidad del animal infectado a otros patógenos respiratorios y entéricos. El animal enferma luego de la infección, debido a que el virus de la DVB daña el tejido epitelial linfoide. La replicación ocurre en células epiteliales, ya que este virus posee afinidad por el tejido linfoide siendo posible detectarlo en células de timo, linfonódulos, placas de Peyer, tonsilas y bazo (Ames, 1986).

El virus presenta tropismo por células mitóticamente activas como: linfocitos, fagocitos mononucleares y células epiteliales. El biotipo CP se replica en la mucosa nasal en títulos más altos que el biotipo NCP, resultando en una eficiente diseminación en títulos más altos que el biotipo NCP, resultando en una eficiente diseminación en animales susceptibles (Buttke y col, 1999, Cotrino b, 1997). La replicación comienza con la adhesión a la membrana plasmática y penetración en la célula, parece que el receptor específico es una proteína de 50 Kd, por mediación de la proteína de envoltura. 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 (Buttke y col, 1999, Givens y col, 2007).

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 (Rondón, 2006).

Algunos investigadores especulan que el biotipo puede jugar un papel importante en la distribución del virus en los tejidos durante el curso de la infección y su tropismo es dependiente del biotipo, sugiriendo que el biotipo CP está restringido al tejido linfoide asociado al intestino, mientras el NCP se distribuye en el tracto respiratorio, células sanguíneas y órganos asociados con el tejido hematopoyético y que tales diferencias se

limitan a mecanismos regulatorios similares a los ejercidos por las células Th1 y Th2 (Lambot M, 1998).

**6.5.1 Patogénesis de la forma aguda:** La forma aguda se presenta en animales seronegativos, en especial en animales entre 6 y 24 meses de edad y es causada, en su mayoría, por virus NCP. Puede afectar el sistema respiratorio y digestivo, como resultado de la difusión activa del virus. La infección secundaria o mixta con otros patógenos es de presentación común. Se ha demostrado que el subtítulo Id (DVB genotipo I subtítulo d) induce enfermedades respiratoria primaria; se le ha atribuido un efecto sinérgico con el virus sincitial respiratorio bovino (Buttke y col 1999, givens y col, 2007).

**6.5.2 Efectos del virus sobre la fertilidad:** Las vacas seronegativas que reciben semen de toros PI seroconvierten 2 semanas después de la inseminación o monta. Los toros PI son generalmente infértiles o producen semen de calidad reducida. La eliminación del virus en el semen de toros con infección aguda se extiende más allá del período de viremia, como consecuencia de la replicación local en vesículas seminales y próstata (Ramírez y col, 1999).

**6.5.3 Infección transplacentaria:** según César Obando, una de las características del vDVB es su habilidad para alcanzar el feto una vez que ocurre la infección en vacas preñadas susceptibles. Cuando las infecciones ocurren entre el inicio de la etapa embrionaria y la mitad del período fetal, pueden resultar en incremento de la mortalidad embrionaria, momificación fetal, abortos, parto prematuro, natimortos, malformaciones congénitas y nacimientos de becerros con problemas neurológicos (ataxia cerebelar), débiles de poca talla. Además, reviste particular atención el nacimiento de becerros inmunotolerantes y PI con la cepa infectante, los cuales, por lo general, no tienen anticuerpos o tienen sólo bajos niveles de ellos contra la cepa viral involucrada y excretan virus de forma permanente. Estos animales al ingerir calostro pueden absorber anticuerpos y resultar seropositivo en una prueba serológica, pero sus niveles de anticuerpos desaparecen más rápido que en los becerros inmunocompetentes.

## 6.6 Síntomas y patología:

**6.6.1 Diarrea viral bovina aguda:** Es una infección post natal aguda, de severidad variable, en bovinos seronegativos e inmunocompetentes (Lértora, 2003). Se pueden presentar varios síntomas, que van desde fiebre, depresión y secreción líquida en la nariz y en los ojos, hasta diarrea, úlceras en la boca, o enfermedad respiratoria y aborto al mes de la exposición (Baker, 1995, David y col 1994).

La infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad. El vDVB 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. No está claro de qué manera el vDVB 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 (Lértora, 2003).

La infección aguda en toros adultos puede afectar transitoriamente la calidad del semen y el tejido testicular por más de 6 meses, por lo que el diagnóstico de DVB en un toro reproductor debe ser mediante la búsqueda del virus en suero o semen y no debe basarse solamente en la detección de anticuerpos (Hermelinda R, 2008). Los toros juegan un rol importante en la transmisión del virus. La infección de un toro con DVB puede deberse a

una infección aguda o por una infección adquirida durante la gestación (congénita) de la que nace un animal portador de por vida. En ambos casos el virus está presente en el semen: mientras que en la infección aguda es temporaria, en PI siempre se elimina virus con el semen. Ello implica que no debería utilizarse como reproductor un animal con infección persistente de DVB, éste tiene que ser identificado y eliminado del rodeo. También es particularmente importante el contagio de la infección a través del semen cuando se trata del animal de una cabaña o un centro de inseminación artificial y se congela semen. Como el virus resiste la temperatura de congelación, el semen contaminado resulta en una fuente de infección y diseminación de la enfermedad a otros establecimientos. Por lo tanto, el control del semen para inseminación artificial, debe ser prioritario. Ello se realiza determinando la presencia en cada partida de semen que se congela mediante el envío de muestras al laboratorio de diagnóstico (Anselmo O, 2006). El semen es de baja calidad, ya que presenta una motilidad disminuida y anomalías morfológicas (Kirkbride C, 1990), y potencialmente puede infectar a hembras seronegativas (Brownlie y col, 2000).

**6.6.2 Infección subclínica:** La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculo-nasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad (Baker, 1995, David y col 1994).

Se desarrollan anticuerpos neutralizantes de 14 a los 28 días post-infección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida (Baker, 1995).

**6.6.3 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 vDVB o simplemente a una sumatoria de efectos (De Verdier, 2000).

**6.6.4 Infección aguda severa:** En 1992 y 1993 se reportó una forma severa y algunas veces fatal de una infección por virus NCP en rodeos lecheros de Inglaterra. Los signos



clínicos observados incluyen un inicio agudo con diarrea, pirexia y descenso de la producción de leche. En oportunidades se observaron ulceraciones orales. La morbilidad en algunos rodeos llegó hasta el 40 % y no se asoció con aumento de abortos. Casi todos los aislamientos en estos brotes fueron cepas NCP del genotipo II y se realizaron en animales inmunocompetentes (José A, 2000).

**6.6.5 Síndrome hemorrágico:** Virus del genotipo II del vDVB se asocian a una condición fatal denominada síndrome hemorrágico. Se caracteriza por mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y muerte (Bolin col, 1992, Pernthaler, col, 1997). Esta signología se atribuye a trombocitopenia y alteración de la función plaquetaria. Se ha demostrado una disminución de la respuesta de las plaquetas a la agregación y, aunque se desconoce el mecanismo de estas alteraciones, es probable que el virus actúe por uno o más de estos mecanismos:

- Se ha detectado antígeno viral en los megacariocitos, lo que podría resultar en una menor producción de plaquetas y en un incremento en el porcentaje de plaquetas envejecidas (los trombocitos viejos son menos sensibles a los estímulos de agregación).
- El virus se aísla de trombocitos y una interacción virus–plaqueta directa puede afectar la respuesta plaquetaria a la agregación.
- Aumento en la producción de sustancias inhibitoras de la agregación plaquetaria; bovinos infectados con el vDVB presentan altas concentraciones de prostaglandina E y óxido nítrico. Hay una fuerte correlación entre la fase trombocitopénica y la viremia; además, la recuperación del recuento plaquetario está estrechamente relacionada con la aparición de anticuerpos neutralizantes. Esto sugiere que este síndrome es el resultado de una alteración y consumo de los trombocitos periféricos, más que una alteración en su producción (Lértora, 2003).

Según Lértora, el impacto del vDVB durante la preñez se divide en cuatro períodos, en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante estos intervalos de tiempo específicos:

- Etapa embrionaria (0–45 días): Las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento del apareamiento ocasiona muerte embrionaria y repeticiones de servicio hasta que desarrollen respuesta inmune. Se desconoce cómo los biotipos NCP afectan al embrión. El virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de los embriones hasta el día 8–9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles. El resultado de la infección puede ser citolítico o no. Ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico, resultando en el desarrollo de malformaciones. Por otra parte, la replicación del virus en células oviductales puede alterar sus funciones biológicas, como la secreción de factores embriotrópicos que soportan el desarrollo embrionario.
- Día 45 a 125 de gestación: Este período comienza al finalizar la etapa embrionaria y culmina cuando el feto adquiere competencia inmunológica al vDVB. El momento exacto en que el feto adquiere competencia inmunológica al virus no es claro; se han detectado anticuerpos neutralizantes contra el virus en fetos infectados entre los días 100 y 135 de gestación. La infección con biotipos NCP antes que el feto adquiriera competencia inmunológica, resulta en el nacimiento de animales persistentemente infectados e inmunotolerantes. Durante este período también se produce muerte fetal con momificación o aborto meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis.
- Día 125 a 175 de gestación: Este período representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, momento en el cual se presenta un gran porcentaje de alteraciones del desarrollo. También se pueden producir abortos, pero éstos son más frecuentes en las etapas tempranas de gestación. Se pueden observar distintos tipos y grados de malformaciones tales como hipoplasia cerebelar, microencefalia, hipomielogénesis, hidranencefalia, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, degeneración

de retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis, retraso general del crecimiento y deformidades esqueléticas. Posibles explicaciones de estas malformaciones serían el daño celular directo por el virus o la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal. Los fetos ovinos infectados con el virus de la enfermedad de la frontera desarrollan hipotiroidismo y los bajos niveles de hormonas tiroideas afectan la concentración de la enzima 2',3'-nucleótido cíclico-3'-fosfodiesterasa, esencial para la mielinización y el normal desarrollo del sistema esquelético. Se desconoce si el vDVB induce fetopatías por un mecanismo semejante. La inmunohistoquímica reveló abundante cantidad de antígeno en glándula pituitaria, hipotálamo y tiroides de un ternero infectado in útero con trastornos severos y generalizados de la osteogénesis. Este hallazgo sugiere que el virus altera el metabolismo hormonal fetal originando trastornos del desarrollo esquelético.

- 175 días de gestación en adelante: En esta etapa el feto se encuentra en un período de crecimiento general y es inmunológicamente competente. Las infecciones en este período resultan en el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles; mientras que los abortos son ocasionales (Lértora, 2003).

**6.6.6 Abortos:** Las diferentes cepas varían en su potencial abortigénico. Cuando las infecciones se producen en el primer tercio de la gestación puede resultar en muerte fetal con expulsión de un feto autolítico o momificado. La muerte fetal en esta etapa ocurre varias semanas antes de su expulsión. Cuando las infecciones ocurren en el segundo tercio de la gestación puede ocurrir el aborto en los 30 a 50 días siguientes con una tasa de aborto entre que varía de 20 a 30 %. Es común también el nacimiento de terneros muertos y prematuros (en oportunidades hasta un mes antes del término)

No se observan lesiones significativas en placenta. El daño fetal parece ser una interferencia específica del virus con la diferenciación de tejidos, maduración y crecimiento.

**6.6.7 Infección persistente:** Un animal persistentemente infectado (PI) es aquél en que es posible aislar el virus de la sangre o tejidos en dos ocasiones sucesivas con un intervalo no menor a dos semanas. Estos animales son virémicos durante toda su vida y no producen anticuerpos contra la cepa que les originó inmunotolerancia. La infección persistente debe ser considerada en todo ternero pequeño al nacimiento, con escaso desarrollo y ganancia de peso, débil y con cuadros recurrentes de enfermedad respiratoria y digestiva (Raymond y col, 2002). Otros son clínicamente normales, siendo indispensable el laboratorio para su diagnóstico (Kelling CL, 1996). Los animales PI resultan de la infección fetal con DVB antes del día 125 de preñez, no reconoce el vDVB como agente infeccioso o extraño, además la mayor expansión de órganos linfoides fetales y sus poblaciones leucocitarias ocurre en el tercer trimestre de gestación (Raymon, 2002). Solo el biotipo NCP del vDVB ha sido reportado capaz de establecer una infección persistente en el feto, también se propuso que la capacidad del virus NCP y CP para establecer la infección persistente está relacionada con diferencias en la habilidad de inducir interferón (IFN). Aunque se cree que la multiplicación considerable del virus genera diversidad, no se han detectado cambios genéticos en virus aislados en diferentes momentos del mismo animal.

**6.6.8 Animales Persistentemente Infectados (PI):** Los animales PI constituyen un grupo importante para la diseminación de las enfermedades en las poblaciones animales, por lo que son conocidos como los únicos reservorios naturales del virus (Bolin, 1992). El ternero PI es portador del virus mientras vive y es incapaz de montar una adecuada respuesta inmune contra el virus presente en su organismo, estos animales son los reservorios y los principales diseminadores del virus en el hato y pueden desarrollar la enfermedad de las mucosas de curso fatal (Rivera, 2001).

Una vez desaparecidos los anticuerpos maternos, el PI puede eliminar el virus durante toda su vida, la cual se asume, será reducida por diversos aspectos.

Los PI son más susceptibles a otras enfermedades comunes a los terneros, como diarreas y neumonías. Son animales aparentemente normales, en ocasiones tienen ganancias de peso y desarrollo menor cuando se comparan con los otros animales del grupo, esto debido al efecto inmunodepresor del virus (Browlie y col, 2000).

Las vacas PI siempre paren terneros PI, sin embargo, algunas vacas seropositivas pueden producir terneros persistentemente infectados si sus anticuerpos circulantes no tienen reacción cruzada con el virus al cual fueron expuestas.

**6.6.9 Enfermedad de las mucosas:** La enfermedad de las mucosas se describió por primera vez en 1953, como una condición fatal del ganado caracterizada por lesiones severas en la mucosa oral e intestinal. Durante los 30 años siguientes se realizaron una serie de observaciones sobre la asociación del virus de DVB con la enfermedad de las mucosas. Estas observaciones culminaron finalmente, luego de pruebas experimentales en una hipótesis que sostiene que la infección transplacentaria inicial del feto en el primer periodo, con el virus de DVB no citopatogénico origina un ternero que tendrá durante toda su vida una viremia persistente. Estos terneros (y solamente ellos) pueden luego desarrollar la enfermedad de las mucosas como resultado de una súper infección con una cepa homologa citopatogénica del virus de DVB. Esta condición solo ocurre en animales PI que sufren sobre infección con biotipos CP homólogos. En esta forma se aíslan ambos biotipos, que son antigénicamente similares. El biotipo CP surge de mutaciones del biotipo NCP, aunque no se descartan fuentes externas. Es una forma esporádica, fatal, de curso agudo o crónico y se caracteriza por severa leucopenia, diarrea profusa, erosiones y ulceraciones en el sistema digestivo (Ames TR, 1986; Baker JC, 1987; Kelling CL, 1996).

**6.7 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 5. El objetivo principal del diagnóstico es la detección y remoción de bovinos PI, principal fuente de infección y reservorio del virus (Lértora, 2003).

**6.7.1 Diagnóstico clínicos:** El diagnóstico se basa en la historia, signos y lesiones. La enfermedad aguda en general cursa como una infección subclínica que pasa inadvertida en la mayoría de los hatos (Baker, 1990), sin embargo puede hacerse evidente en algunas circunstancias. Los animales pueden evidenciarse febriles, inapetentes, presentar problemas respiratorios, leucopenia, y diarrea, así como ulceraciones y erosiones de la

mucosa oral. Algunos animales también evidencian lesiones pódales (ulceras interdigitales y inflamación del rodete coronario). El aborto como consecuencia de la infección con DVB puede suceder desde unos días hasta varias semanas después de la infección sub-clínica o enfermedad clínica (Cotrino y col, 1997, Cotrino y col, 2003).

En el laboratorio, el vDVB puede ser diagnosticado mediante los siguientes procedimientos:

- a. Aislamiento del virus.** En principios este método no ofrece dificultades siempre y cuando, la colección y transporte del espécimen (bazo, ganglios, riñón, sangre con EDTA) al laboratorio sea adecuada, y que el laboratorio disponga con células susceptibles y libres de DVB endógeno, y por último que cuente con reactivos de buena calidad.

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

El método de aislamiento viral es caro y requiere de varios días y semanas, para obtener el resultado pero es muy sensible.

- b. Detección de antígenos virales en muestras de tejidos.** Este procedimiento es rápido y disponible en la mayoría de los laboratorios. Consiste en la visualización de antígenos del virus (proteína) directamente en una pequeña muestra del espécimen, mediante técnicas como la inmunofluorescencia o la inmunoperoxidasa; este último útil también en muestras fijadas en formol. Ambas técnicas o métodos son sensibles y específicas sobre todo si se usan anticuerpos monoclonales y los resultados son obtenidos en pocos minutos (Hermelinda R, 2008).

c. **Diagnóstico serológico:** Las pruebas serológicas son un buen indicativo para la detección de la presencia del virus en las poblaciones bovinas y tienen amplia acogida; entre las más importantes se destacan:

- ◆ Inmunodifusión en agar gel (AGID): El AGID es una prueba rápida y de fácil implementación por la mayoría de los laboratorios, sin embargo al no entregar resultados cuantitativos es de baja sensibilidad en comparación a la neutralización Viral y ELISA (Cotrino y col, 2003).
- ◆ Neutralización Viral (NV): La neutralización viral se basa en la determinación de anticuerpos neutralizantes contra el virus aparece en el suero de los animales por infección: Un título de anticuerpos séricos con un incremento mayor a 4 veces indica infección aguda, o bien la aparición de anticuerpos contra DVB en animales que anteriormente eran seronegativos (Cotrino, 2003).

Esta técnica es realizada en cultivos celulares en placas de microtitulación en donde se puede leer fácilmente el crecimiento o neutralización del virus empleado en la técnica. Dos cepas virales altamente citopáticas son utilizadas en esta prueba: "Oregon C24V" y NADL". El título de anticuerpos en el suero puede determinarse como la recíproca de la dilución más alta de cada suero en la cual el virus es neutralizado en el 50% de los pocillos (Lértora, 2003).

- ◆ Ensayo inmunoenzimático (ELISA): Es una prueba sensible, rápida, confiable y económica para el diagnóstico serológico de infección por DVB.

La prueba de ELISA para el vDVB está diseñada para detectar anticuerpos específicos en muestras de suero, plasma y leche; esa prueba consiste en una técnica donde se utilizan placas de microtitulación tapadas con antígenos de VdVB. Los anticuerpos presentes en la muestra se unen con el antígeno de la placa, el material no ligado se elimina mediante un lavado, el complejo antígeno anticuerpo se detecta mediante un conjugado de peroxidasa de rábano, el resto del conjugado se elimina mediante el lavado de la placa y se añade una solución de sustrato/cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato se convierte

en un producto que reacciona con el cromógeno generando una coloración azul, la cual con la adición de la solución de frenado se emite un color amarillo (Arbeláez y col, 2002). Los sistemas ELISA basados en anticuerpos policlonales dirigidos contra varias proteínas y glicoproteínas de cepas antigénicamente diferentes, son capaces de detectar una amplia variedad de 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 epitope específico son cuestionables, debido a que su estrecho rango de especificidad puede fallar en detectar algunas cepas del vDVB (Graham DA, 1998).

#### 6.7.2 Otras pruebas diagnósticas recientes:

- **Sondas de DNA (DNA Probes):** La sonda de DNA, son copias clonadas molecularmente de un segmento del genoma de DVB y marcada con una molécula radioactiva o un grupo químico que puede ser identificada con una sustancia cromógena; cuando esta pieza marcada se añade a un espécimen conteniendo el virus DVB se une en su porción complementaria y dicha unión o alineamiento se denomina hibridización. Pero debido a una amplia variabilidad entre las cepas de DVB, al parecer este método a la fecha no es muy confiable (Hermelinda, 2008).
- **La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR):** es un método rápido, sensible, que detecta diversos vDVB y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo. 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.

Para maximizar la detección de vDVB se han seleccionado partidores de la región 5' no codificante del genoma pestiviral, ya que es la región del genoma que más se conserva entre los virus aislados. Sin embargo, Vilcek y col. (2001), considerando la alta variabilidad, recomiendan un cuidadoso examen de los partidores para asegurar que sean capaces de detectar todos los virus del genotipo 1 del vDVB (Lértora, 2003).



## **6.8 PREVENCIÓN, CONTROL Y PROFILAXIS:**

No existe posibilidad de tratamiento médico y es desaconsejable el uso de corticoides.

Tres son las vías de lucha que debemos establecer:

- ◆ **Identificación y eliminación** de animales con infección persistente.
  
- ◆ **Vacunación de los animales:** puede llevarse a cabo tanto con vacunas vivas o inactivadas. En caso de utilizar vacunas inactivadas habrá que revacunar a los 15-20 días. Si se usan vacunas vivas, utilizar siempre cepas termosensibles y no vacunar animales antes de los 4-8 meses de edad. Si los terneros que han nacidos infectados o han sido infectados después del nacimiento son vacunados con vacunas vivas, pueden manifestarse los síntomas clínicos de la enfermedad. Sería conveniente, si existen portadores virémicos que estos fueran eliminados ya que podría tratarse de animales inmunotolerantes. No deberían vacunarse con vacuna viva animales débiles seniles o estresados y hembras preñadas. Las vacas y terneras deben ser vacunadas al menos 3 semanas antes de la cubrición/inseminación.

### **6.8.1 Medidas higiénicas:**

- En explotaciones lecheras:
  - ✓ Salas de partos separadas y limpias.
  - ✓ Suministro de calostro a los terneros.
  - ✓ Aislamiento y sacrificio de los animales con MD o con diarrea manifiesta.
  
- En explotaciones de carne:
  - ✓ Respetar siempre el “todo dentro todo fuera”.
  - ✓ Cuarentena de los nuevos animales adquiridos.
  - ✓ Buenas condiciones ambientales y de alimentación.

El control de una enfermedad implica reducir las pérdidas para hacerlas compatibles con una producción rentable mediante la detección de los animales portadores para su segregación y la prevención de nuevas infecciones con las medidas de manejo disponibles y la incorporación de vacunaciones en un plan sanitario. Las estrategias para el control varían según la política sanitaria de cada país (Anselmo O, 2006).

**6.8.2 Erradicación:** Los programas de erradicación solo se pueden poner en marcha en las regiones donde la vacunación no es una práctica corriente, en especial en áreas de baja densidad de ganado. En contraste, en áreas de alta densidad con altas seroprevalencia y donde la vacunación ha sido y continuará siendo una práctica de amplia aplicación, solo se podrá poner en acción programas de control que busquen minimizar las pérdidas económicas reduciendo el número de animales PI. En ambos casos se deberá emplear herramientas diagnósticas eficientes y de bajo costo. La posibilidad de éxito en los programas de erradicación y control, dependerán de la disponibilidad de métodos diagnósticos. La erradicación de vDVB a nivel de hato es posible, y manteniendo un hato cerrado, mejora sustancialmente su salud y productividad (Barrieto, 2004).

**6.8.3 Control en el hato:** 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. Por lo tanto es importante tener una historia del hato de por lo menos dos años de antigüedad que considere al menos los siguientes puntos (Brownlie y col, 2000)

- ◆ Historia clínica del hato.
- ◆ Hato abierto vs hato cerrado (contacto con otras vacas en ferias, exposiciones, toro compartido o alquilado)
- ◆ Registro del hato: edad, raza, fertilidad, producción de leche, monta natural o inseminación artificial.
- ◆ Resultado de exámenes postmortem.

- ◆ Resultado de muestreos de leche a partir del estanque de almacenamiento para evaluar nivel de anticuerpos contra DVB.
- ◆ Resultado test serológico para DVB.

Es importante conocer claramente cuál es el posible origen del virus, por ejemplo:

- ◆ Animales persistentemente infectados que ingresan al hato.
- ◆ Vaquillas y/o vaca portando un feto persistentemente infectado.
- ◆ Animales infectado agudamente que ingresa al hato o que ha sido regresado desde la feria.
- ◆ Otros rumiantes (ovejas, ciervos, cabras).
- ◆ Material infectado de uso común como mangas, agujas.
- ◆ Toro infectado persistentemente o semen para inseminación artificial contaminado.

Considerando los puntos anteriores se puede llevar un control de la enfermedad dentro del hato, identificar animales seropositivos y persistentemente infectados (brownlie y col, 2000).

**6.8.4 Vacunas:** Las primeras vacunas comerciales aparecieron en el mercado en 1964, con base a un virus vivo modificado, indujeron una buena inmunidad celular y humoral. Este tipo de vacunas, que aún se utiliza, tienen como inconveniente la posibilidad de infectar los fetos e inducir la muerte fetal o la posibilidad de generar animales PI. Como una alternativa para evitar los inconvenientes generados por las vacunas modificadas, están disponibles las vacunas inactivadas que tienen niveles de protección discutibles; últimamente se producen las vacunas recombinantes que emplean componentes virales, por lo cual obvian las desventajas de las vacunas modificadas (Vera y col., 2006).

## VII. MATERIAL Y MÉTODO

**7.1 TIPO DE ESTUDIO:** El presente estudio es de tipo observacional-descriptivo de corte transversal.

**7.2 POBLACIÓN:** El presente estudio se realizó en el departamento de León, ubicado en el occidente de Nicaragua, el cual cuenta con una población de 150,000 bovinos (CENAGRO, 2001). Se recolectaron 283 muestras de 31 fincas de los 5 municipios muestreados del departamento del León. En este departamento la ganadería es de tipo mixta y los hatos están constituidos por animales criollos y mejorados con Pardo Suizo y Brahman en su gran mayoría, y se encuentran bajo un sistema de crianza extensiva con pastos naturales y mejorados.

**7.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA:** El tamaño de muestra se seleccionó mediante el programa WinEpiscope 2.0, donde se realizó una estimación de porcentaje, tomando en cuenta una población de 150,000 Bovinos (CENAGRO, 2001), prevalencia esperada del 50%, un error aceptado de 5% y un nivel de confianza del 95% para tener una muestra ajustada de 385 animales.

### 7.4 SELECCIÓN Y RECOLECCION DE LA MUESTRA:

**7.4.1 SELECCIÓN:** Las fincas se seleccionaron por conveniencia, tomando en cuenta solamente las fincas en donde no se aplicó vacunas contra el virus de la Diarrea Viral Bovina. Se seleccionó a los animales de forma aleatoria.

**7.4.2 RECOLECCIÓN:** Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena yugular o de la arteria coccígea, utilizando el sistema de vacutainers. Se envió la muestra inmediatamente al laboratorio en gradillas y en tubos debidamente rotulados. Posterior en el laboratorio se centrifugó y se colocó el suero en microviales rotulados y se guardó en congelación en el Centro Veterinario de Diagnostico e Investigación (CEVEDI), de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-LEON).

**7.5 FACTORES DE INCLUSIÓN:** Bovinos de carácter lechero y cárnico, de razas Holstein, Pardo Suizo, Criollos y cruces con Brahman. Mayores de 6 meses de edad. Bovinos de ambos sexos del departamento de León. Bovinos que no hayan sido vacunados contra esta enfermedad.

**7.6 FACTORES DE EXCLUSIÓN:** Todos aquellos que no cumplan con los factores de inclusión.

**7.8 LIMITACIONES:** Muestras perdidas por mal manejo, hemólisis y en algunos casos poca cantidad de suero en los microviales a utilizarse.

### **7.9 METODOLOGIA DE LAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS**

Para el diagnóstico se utilizó el Kit comercial HerdChek vDVB Ab que es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos frente a vDVB en suero, plasma y leche. El procedimiento que se llevó a cabo fue según el establecido por el Kit. El ensayo es una técnica ELISA indirecta donde se utilizaron placas de microtitulación tapizadas con antígenos de vDVB. Tras la incubación de la muestra se analizó en el pocillo tapizado con antígenos, el anticuerpo específico del vDVB, el cual formó un complejo con los antígenos virales inmovilizados. El desarrollo de color indicó la presencia de anticuerpos frente a vDVB en la muestra.

### **7.10 MATERIALES A UTILIZAR:**

#### **Muestreo:**

1. Tubos de 16 x 100 mm con tapón de hule para la recolección de las muestras.
2. Tubos al vacío (VACUETTE) de 9 ml, 16 x100 mm.
3. Agujas descartables estériles de 18G x 1 ½ ”.
4. Guantes de látex descartables no estériles.
5. Gradillas de 6 x 12 plásticas.

6. Algodón absorbente.
7. Gabachas.
8. Botas de hule.
9. Bolsa plástica.
10. Termo contenedor de muestras.
11. Marcadores.
12. Masking tape.
13. fichas de registro.

**En el laboratorio:**

1. Kit para la detección de anticuerpos frente al Virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) HerdCheck BVDV Ab.
2. Pipetas automáticas multicanal (1-200, 1-50 y 100-1000).
3. Puntas para pipetas automáticas de 50 y 100.
4. Viales plásticos.
5. Agua destilada.
6. Centrifuga.
7. Lector de microplacas.
8. Agua destilada o desionizada.
9. Centrifuga con tubos, capacidad 2000 x g.
10. Gradillas.

## VIII. RESULTADOS:

Por falta de recursos se trabajó con un tamaño de muestra de 283 bovinos de 31 hatos ganaderos, aumentando el margen de error aceptado a 5.8%. Encontrando una seroprevalencia en el departamento de León del 21.2 %, lo que representa a 60 bovinos positivos al test de ELISA para la detección de anticuerpos frente al vDVB. (ver gráfico N°1 en anexos)

**Tabla N° 1**

**Seroprevalencia del virus de la DVB en el departamento de León.**

Departamento	N° de fincas	de N° muestras	de Cantidad de (+)	IC <sub>95%</sub>	Porcentaje
León	31	283	60	16.2-26.1	21.2%

En esta tabla se muestran el mayor porcentaje de machos positivos en el municipio de Malpaisillo con un 50% (1/2), seguido del departamento de León con un 17.1% (6/35). Con referencia al porcentaje de hembras positivas el más alto se encuentra de igual manera en el municipio de Malpaisillo con 50% (4/8) seguido del municipio de León con 24.5% (48/196).

**Tabla N° 2**

**Comparación de Machos y hembras positivos en 5 municipios del departamento de León.**

Municipios	N° de fincas	Machos (+)	Porcentaje de machos (+)	IC <sub>95%</sub>	Hembras (+)	Porcentaje de hembra (+)	IC <sub>95%</sub>
El Sauce	1	0/0	0%		0/10	0%	0 – 30.8
Telica	1	0/2	0%	0 – 84.2	0/8	0%	0 – 36.9
La Paz Centro	2	0/2	0%	0 – 84.2	1/20	5%	0.1 – 24.9
Malpaisillo	1	1/2	50%	1.2 – 98.7	4/8	50%	15.7 – 84.3
León	26	6/35	17.1%	6.6 – 33.6	48/196	24.5%	18.2 – 30.8

## IX. DISCUSIÓN:

La presencia de anticuerpos contra el vDVB está presente en el 21.2% de los animales muestreados en el departamento de León. Los resultados indican que si bien los anticuerpos frente al virus fueron encontrados distribuidos en la mayoría de los 5 municipios muestreados (La Paz Centro, Malpaisillo y León) del departamento de León, hubo dos municipios (El Sauce y Telica) con ausencia de animales serorreactores.(ver tabla N°2)

El grado de difusión y prevalencia tiende a variar entre regiones y países, por lo que esta enfermedad tiende a ser endémica en la mayoría de los países con poblaciones bovinas importante, de modo que el 60 a 80% del ganado presenta anticuerpos contra el agente (Lértora, 2003).

En el presente estudio se encontró una seroprevalencia de 21.2% (60/283) en el departamento de León (Ver gráfico N°1) esta seroprevalencia se encuentra muy por debajo de la mayoría de estos países, como el caso de Argentina donde se informa una situación similar a la del resto del mundo con un 70% de seroprevalencia de la enfermedad. En cambio en el Perú, un estudio de seroprevalencia en bovinos criollos de la provincia de Melgar, Puno (Richard Q, y col, 2008) encontraron una seroprevalencia de 48.7% siendo esta baja en comparación a la del resto de países del mundo.

Se detectaron anticuerpos en tres de los cinco municipios muestreados del departamento de León encontrándose un mayor porcentaje de bovinos reactivos en el municipio de León tanto en machos 17.1% (6/35) como en hembras 24.5% (48/196), esto probablemente a que la mayoría de muestras fueron tomadas en este municipio por una mayor accesibilidad a las fincas. El municipio de Malpaisillo fue el segundo municipio con más bovinos reactivos tanto para machos 50% (1/2) y hembras 50% (4/8) y estos resultados se deben a que se tomó muy poca cantidad de muestras por lo que su margen de índice de confianza tiende a ser muy elevado por lo que no es representativa.



En el municipio del Sauce y Telica no se encontraron bovinos reactivos a la enfermedad, la causa de esto podría deberse a que en el caso del Sauce se practica la inseminación artificial en la finca muestreada y en Telica las muestras tomadas fueron muy pocas.

## **X. CONCLUSION**

- En el presente estudio de seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina se encontró una seroprevalencia de 21.2% para el departamento de León.
- Se detectaron anticuerpos frente al virus de la DVB en 3 de los 5 municipios muestreados (La Paz Centro, Malpaisillo y León).
- La seroprevalencia de hembras a DVB fue mayor a la de los machos en el municipio de León, con un 24.5% de hembras y 17.15% de machos. En cambio en el municipio de Malpaisillo fue igual con un 50%.
- Se encontró una seroprevalencia para el municipio de Malpaisillo de 50% (5/10) y en el municipio de León fue de 23.3% (54/231) siendo esta última la más representativa, con un intervalo de confianza de 17.7-19.

## **XI. RECOMENDACIONES:**

- Recomendamos que se lleve a cabo la realización de otros estudios sobre seroprevalencia de DVB en estos municipios, tomando como base este estudio, pero recomendamos que se aumente el número de muestras y se realice de forma aleatoria para que los resultados sean más confiables.
- Es necesario tomar en cuenta a los bovinos que resultaron negativo a la prueba de ELISA específica a DVB, ya que los bovinos persistentemente infectados son inmunotolerante a este agente viral, por lo que su sistema inmunológico reconoce al virus de la DVB, como propio y no hay producción de anticuerpos frente a dicho agente, por lo que la técnica aplicada resulta inapropiada para la identificación de los bovinos PI, por lo tanto recomendamos la aplicación de técnicas diagnósticas como el aislamiento viral.
- En el caso de las fincas muestreadas en los departamentos de León y Chinandega, donde bovinos tanto hembras como machos dieron positivo a la prueba diagnóstica ELISA indirecta específica a DVB, se debe llevar a cabo un plan de inmunización tanto en terneras como toros de reposición o toros comprados antes de su primer servicio para controlar la enfermedad dentro del ható.
- Recomendamos al Ministerio de Agricultura y Forestal (MAG-FOR), tomar en cuenta este estudio y así, implementar medidas de vigilancia epidemiológicas y equipar sus laboratorios con técnicas diagnósticas para la identificación de dicho agente, logrando mitigar los efectos negativos de esta enfermedad en el país.
- Recomendamos a los productores que antes de ingresar al rodeo animales provenientes de otras fincas ya sea por compra o por préstamo en el caso de toros reproductores para la monta natural, se realice una prueba serológica para evitar el ingreso de animales tanto con infección aguda, como animales persistentemente infectados (PI) que propicien la diseminación del virus dentro del ható

## XII. BIBLIOGRAFIA

AMES T. The causative agent of DVB: its epidemiology and pathogenesis. *Vet Med* 81: 629-633. 1986.

Anselmo Odeon. 2006. *Diarrea Viral Bovina (DVB)*. *Producir XXI*, Bs, As., 14(174):24-30.

ARBELAEZ SONIA., RIVERA HERMELINDA., PEZO DANILO., GARCIA WILBER. Detección de anticuerpos contra pestivirus de una comunidad campesina de la provincia de Canchas, Cusco. *Rev Inv Perú* 13(1.) 46-51. 2002.

Baker JC. 1987. Bovine viral diarrhea virus: A review. *JAVMA* 190: 1449–1458.

BARRIETO CARDENAS SUSANA MARITZA, Presencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus de la diarrea viral bovina (DVB) en suero bovino de 4 predios de la IX región. Tesis de pregrado. Universidad Católica de Temuco. 2004.

BAULE C., KULCSAR G., BELAK K., ALBERT M., MITTELHOLZER C., SOOS T., KUCSERA L., BELAK S. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type I. *J. Clin. Microbiol.* 39: 146-153.2001.

BAULE, C. 2000. Molecular characterization of bovine viral diarrhea virus, an important pathogen of cattle. *Acta Univ. Agric. Sueciae.* 95: 9-38.

BEWOO JOSEPH N., HAASE CRISTOPHER J.M, SHARP PATRICIA., SCHULTZ RONALD D. Leukocyte profile of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Immunology and immunopathology* 115: 369-374. 2007.

Bezek, D.M.1995. Bovine virus diarrhea virus infection: Individual and herd diagnosis. *Compendium on Continuing Education* 17(8): 57-64.

Bielefeldt Ohmann H. 1995. The Pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection. Food Anim. Pract. 11: 447-476.

BOLIN SR, RIDPATH JF. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves. Ana J. Vet Res 53: 2157-2163. 1992.

BOLIN S. R., D. L. GROOMS. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. Vet. Clin. Food. Anim. 20: 51-68. 2004.

BROWNLIE, J., I. THOMPSON, A. CURWEN. Bovine virus diarrhoea virus strategic decision for diagnosis and control. In Practice vol. 22, 176-187.2000

BROWNLIE, J., M. C. CLARKE, C. J. HOWARD. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. Research in Veterinary Science 46: 307-311.1989.

César Obando. VIRUS DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA, DIARREA VIRAL BOVINA Y LENGUA AZUL, DINAMICA DE INFECCION Y ESTRATEGIAS DE CONTROL. INIA – CENIAP. 0416-2386260 - cobando@inia.gov.ve

Collett MS. 1992. Molecular genetics of pestiviruses. Comp Immunol Micro Infect Dis 15, 145-154.

COLLETT M., LARSON R., RETZEL E. Protein encoded by Bovine Viral Diarrhoea Virus: The Genomic Organization of a pestivirus. Virology (165): 200-208-1989

Confer AW, Fulton RW, Step DL, Johnson BJ, Ridpath JF. 2005. Viral antigen distribution in the respiratory tract of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus subgenotype 2a. Vet Pathol 42: 192-199.

COSTABLE PD, HULL BL, WICKS JR, MYRE W. femoral and tibial fractures in a newborn calf after transplacental infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 132: 383-385. 1993

COTRINO B. IBR Y DVB, su importancia en reproducción. En: Memorias, seminario, taller "Actualización en IBR Y DVB 2003", aspectos moleculares epidemiológicos y de control Universidad Nacional de Colombia, Septiembre 25 y 26. 2003.

DAVID GP., CRAWSHAW TR., GUNNING RF., HIBBERD RC., LLOYD GM., MARSH PR. Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with DVB virus infection. *Vet Rec* 134: 468-472. 1994.

De Verdier Klingenberg K. 2000. Enhancement of clinical signs in experimentally rotavirus infected calves by combined viral infections. *Vet. Rec.* 147: 717-719.

DONIS R., DUBOVI E. Characterization of bovine viral diarrhoea mucosal disease virus-specific proteins in bovine cells. *Journal of General Virology* 68: 1597-1605. 1987.

GIVENS M DANIEL., RIDDELL KAY P., WALZ PAUL H., RHOADES JIM., HARLND RICHARD., ZHANG YIJING., GALIK PATRICIA K., BRODERSEN BRUCE W., COCHRAN ANNA M., BROCK KENNY V., CARSON ROBERT L., STRINGFELLOW DAVID A. Noncytopathic bovine viral diarrhoea virus can persist in testicular tissue after vaccination of peri-pubertal bulls but prevents subsequent infection. *Vaccine* 25: 867-876. 2007

Graham DA, McLaren IE, German A. 1998. Evaluation of the suitability of a commercial bovine viral diarrhoea virus antigen capture ELISA for diagnostic testing. *Vet. J.* 157: 149-154.

Hermelinda Rivera G. CAUSAS FRECUENTES DE ABORTO BOVINO. *Rev Inv Vet Peru* 2001; 12(2): 117-122

Hermelinda Rivera G. EVOLUCION DEL CONOCIMIENTO SOBRE LA ENFERMEDAD DE LA DIARREA VIRAL BOVINA Y SU AGENTE ETIOLOGICO. Rev Inv Vet Perú 2008; 19(1):93-112

HOUE H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. Vet Clin N Am: Food Anim Pract 11(3): 521-547

HOUE H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVD) infections. Vet. Microbiology 64:89-107.1999

José A. Giraudó. Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino. UNRC, Río Cuarto. 2000.

J. Marín Sánchez Murillo. IBR y BVD-MD: Difusión y trascendencia económica. Mundo Ganadero/nº 83/Noviembre1996

Kirkbride C. Laboratory diagnosis of livestock abortion. In: Kirkbride C. ed. 3th edition. USA: Iowa State University Press. 1990; 121-128.

Kelling CL. 1996. The effects of BVDV infection on cattle. Vet. Med. 91: 862–863.

Lambot M, Douart A, Joris E, Letesson J, Pastoret P. Characterization of immune response of cattle against non-cytopathic and cytopathic biotypes of bovine viral diarrhoea virus. J Gen Virol 1997; 78: 1041-1047.

LARSSON B. OBANDO C. Evidencia serológica de la Diarrea Viral Bovina en Venezuela. Instituto de Investigaciones Veterinaria; Veterinaria Tropical. 15:77-86.2005

LERTORA W. J. Diarrea Viral Bovina: Actualización. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE Argentina. 1:42-51.2003

Meyers G, N Tautz, R Stark, J Brownlie, EJ Dubovi, MS Collett, HJ Thiel. 1992. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. Virology 191, 368-86.

NAKAMURA S, SHIMAZAKI, SAKAMOTO K, FUKUSHO A, INOUE Y, OGAWA N. 1995. IN: CHARLESTON B, FRAY M, BAIGENT S, CARR B, MORRISON I. Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with failure to induce type I interferon. *J Gen Virol*; 82: 1893-1897. 2001

OBANDO CESAR A., RODRIGUES JOSEFA M. Manual de Ganadería de Doble Propósito, Diarrea Viral Bovina. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias – INIA, p 317 – 321. Maracay, Venezuela. 2005.

Olafson P, MacCallum AD, Fox A. 1946. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet* 36: 205-213.

PARRA J., VERA V., VILLAMIL., RAMIREZ G. Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en explotaciones lecheras de la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia*, 42(1):29-44.1994.

Paton DJ. 1995. Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112: 215–236.

Paton DJ, Edwards S, Sands J, Lowings P, Ibata G. 1996. Antigenic variation amongst Pestiviruses. *International Symposium Bovine Viral Diarrhoea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp. 61–64.

Pernthaner A, Schilcher F, Baumgartner W. 1997. Acute bovine viral diarrhoea virus infections in Austrian cattle. *Israel J. Vet. Med.* 52: 104–107.

RAMIREZ G, VERA V, VILLAMIL L. Diarrea Viral Bovina – DVB: inmunosupresión y efectos en la reproducción bovina. *El Cebú*. 32-40.1999.

Ramsey FK, Chivers WH. 1953. Mucosal disease of cattle. *North Am Vet* 34:629-634.

RAYMOND G. DVB Bovine Virus Diarrhoea Virus. *Veterinarian's Corner*; 2 (9). 2002.



REZA GUEVARA LUIS CARLOS. Impacto del Virus de la Diarrea Viral Bovina en hatos lecheros. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria 2005.

Richard Quispe Q., Alberto Ccama S. Hermelinda Rivera G. y Mariluz Arainga R. EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL EN BOVINOS CRIOLLOS DE LA PROVINCIA DE MELGAR, PUNO. Rev Inv Vet Perú 2008; 19(2): 176-182

RONDON IAN G. Diarrea Viral Bovina: Patogénesis e Inmunopatología. Universidad de los Llanos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto de Investigaciones de La Orinoquía Colombia, Colombia. 694-704. 2006

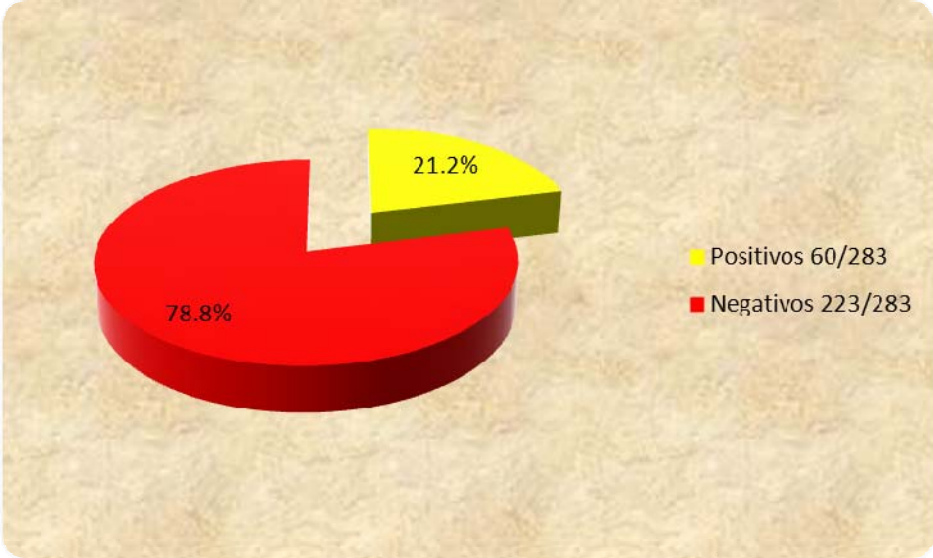
Tremblay R, Carman S, Stevenson D, Luis P, Caldwell D, Shapiro J. 1996. Acute BVD in Ontario. International Symposium Bovine Viral Diarrhea Virus a 50 Year Review, Cornell University, USA, pp. 65.

Vilcek S, Paton DJ, Durkovic B, Strojny L, Ibata G, Moussa A, Loitsch A, Rossmannith W, Vega S, Scicluna MT, Paifi V. 2001. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. Arch. Virol. 146: 99–115.

Wengler G.1991. Family Flaviviridae. Arch Virol (Suppl) 2: 228-229

# **XIII. ANEXOS**

**Gráfico N° 1: Seroprevalencia del virus de la DVB en el departamento de León**



# MAPA DE NICARAGUA-LEÓN



**Propietarios de las fincas muestreadas en el departamento de León:**

Propietario: Ricardo Rueda

Finca: San Benito

Comunidad: Los Potrillos/ Malpaisillo- León.

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-001-08	maria	H	positivo
BVD/IBR-002-08	juanita	H	negativo
BVD/IBR-003-08	mercedita	H	negativo
BVD/IBR-004-08	julita	H	positivo
BVD/IBR-005-08	dolka	M	negativo
BVD/IBR-006-08	peineta	M	positivo
BVD/IBR-007-08	carolina	H	positivo
BVD7IBR-008-08	94	H	negativo
BVD7IBR-009-08	pantera	H	positivo
BVD/IBR-010-08	blanca	H	negativo

Propietario: sociedad María Josefina Gurdian Vigil

Finca: Santa Anita

Comunidad: Las Marías/ Telica-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-011-09	Bronco	M	negativo
BVD/IBR-012-09	Marisol	M	negativo
BVD7IBR-013-09	Miuri	H	negativo
BVD7IBR-014-09	Selena	H	negativo
BVD/IBR-015-09	Rosalía	H	negativo
BVD/IBR-016-09	Carina	H	negativo
BVD7IBR-017-09	651	H	negativo
BVD/IBR-018-09	Yanuari	H	negativo
BVD/IBR-019-09	664	H	negativo
BVD/IBR-020-09	686	H	negativo

Propietario: Jose Antonio Mayorga

Finca: San Luis

Comunidad: Troilo / León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-021-09	Jacoba	H	positivo
BVD/IBR-022-09	Yota/314	H	positivo
BVD/IBR-023-09	colacha	H	positivo
BVD/IBR-024-09	linda/364	H	positivo
BVD/IBR-025-09	Emilia/327	H	positivo
BVD7IBR-026-09	Pava/216	H	positivo
BVD/IBR-027-09	Carterona/103	H	positivo

BVD/IBR-028-09	Marañon	H	positivo
BVD/IBR-029-09	Café negro	M	positivo
BVD7IBR-030-09	tigra	H	negativo

Propietario: Pedro Blandón

Finca: María Argentina

Comunidad: Chacraseca/León

	<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>	
	BVD/IBR-031-09	zanate	M	positivo	
	BVD/IBR-032-09	cambalache	M	negativo	
	BVD/IBR-033-09	zanata	H	negativo	
	BVD/IBR-034-09	muquita	H	negativo	
	BVD/IBR-035-09	hija de zanata	H	negativo	
	BVD/IBR-036-09	negrita	H	negativo	
	BVD/IBR-037-09	nachota	H	negativo	
Propietario: Martínez	BVD/IBR-038-09	marcela	H	positivo	Wilfredo
Finca: Los	BVD/IBR-039-09	yeguita	H	positivo	
	BVD/IBR-040-09	lachinga	H	negativo	Ángeles

Comunidad: Chacraseca

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-041-09	comalito/10	H	negativo
BVD/IBR-042-09	Rosa/24	H	negativo
BVD/IBR-043-09	Mona/27	H	negativo
BVD/IBR-044-09	Mingo/16	H	negativo
BVD/IBR-045-09	Puntalito	H	negativo
BVD/IBR-046-09	Migajita	H	negativo
BVD/IBR-047-09	Cabrita	H	negativo
BVD/IBR-048-09	Chorro	H	negativo
BVD/IBR-049-09	Chepa	H	negativo
BVD/IBR-050-09	Chabelo	M	negativo

Propietario: Jaime Manga Corrales

Finca: Los Días

Comunidad: Esauipulas/ El Sauce



Propietario:  
Finca: Santa  
Comunidad:  
León

CodigoLab	Identif	Sexo	Resultado
BVD/IBR-055-09	22	H	negativo
BVD/IBR-056-09	11	H	negativo
BVD/IBR-057-09	276	H	negativo
BVD/IBR-058-09	243	H	negativo
BVD/IBR-059-09	157	H	negativo
BVD/IBR-060-09	yuma/285	H	negativo
BVD/IBR-061-09	aguila/347	H	negativo
BVD/IBR-062-09	3	H	negativo
BVD/IBR-063-09	nubia	H	negativo
BVD/IBR-064-09	leona	H	negativo

Vicente Navas  
Clelia  
Carlos Canales/

CodigoLab	Identif	Sexo	Resultado
BVD/IBR-065-09	Yersi/182	M	negativo
BVD/IBR-066-09	Virginia	H	negativo
BVD/IBR-067-09	232	H	negativo
BVD/IBR-068-09	Guirila/191	H	negativo
BVD/IBR-069-09	157	H	negativo
BVD/IBR-070-09	Mouda/152	H	negativo
BVD/IBR-071-09	Iluminada/136	H	negativo
BVD/IBR-072-09	Tortuga/120	H	negativo
BVD/IBR-073-09	211	H	negativo
BVD/IBR-074-09	Carmen	H	negativo

Propietario: Jesús Santiago

Finca: Punta de Agua

Comunidad: Tamarindo / La Paz Centro-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-075-09	0.3	H	negativo
BVD/IBR-076-09	0.116	H	negativo
BVD/IBR-077-09	0.69	H	positivo
BVD/IBR-078-09	4629	H	negativo
BVD/IBR-079-09	619	H	negativo

Propietario:

Finca: La buena

Santiago Perez

Esperanza

Comunidad: Pancorva / La Paz Centro-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-080-09	la pulga	H	negativo
BVD/IBR-081-09	caporal	H	negativo
BVD/IBR-082-09	la junior	H	negativo
BVD/IBR-083-09	la blanquita	H	negativo
BVD/IBR-084-09	pancha	H	negativo
BVD/IBR-085-09	canalosa	H	negativo
BVD/IBR-086-09	pancho	M	negativo
BVD/IBR-087-09	chimada	H	negativo
BVD/IBR-088-09	pinta	H	negativo
BVD/IBR-089-09	chilindrina	H	negativo
BVD/IBR-090-09	pellota	H	negativo
BVD/IBR-091-09	cuita forma	H	negativo
BVD/IBR-092-09	muca	H	negativo
BVD/IBR-093-09	colorada	H	negativo
BVD/IBR-094-09	sanata	H	negativo
BVD/IBR-095-09	Hosco	M	negativo
BVD/IBR-096-09	chela	H	negativo

Propietario: Medicina Veterinaria

Finca: Medicina Veterinaria

Comunidad: La Ceiba/León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-097-09	28	H	negativo
BVD/IBR-098-09	26	H	positivo
BVD/IBR-099-09	33	H	negativo
BVD/IBR-100-09	43	H	negativo
BVD/IBR-101-09	24	H	negativo
BVD/IBR-102-09	35	H	negativo
BVD/IBR-103-09	38	H	negativo
BVD/IBR-104-09	tolila	H	positivo
BVD/IBR-105-09	32	H	positivo
BVD/IBR-106-09	58	H	negativo
BVD/IBR-107-09	42	H	negativo
BVD/IBR-108-09	45	H	negativo
BVD/IBR-109-09	57	H	negativo

Propietario: Pedro Mendoza

Finca: Santa Ana

Comunidad: Chacraseca/León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-110-09	Carbito	M	negativo
BVD/IBR-111-09	Pinta roja	H	negativo
BVD/IBR-112-09	chota	H	negativo
BVD/IBR-113-09	mochado	M	negativo

Propietario: Horacio Pichardo

Finca: San Carlos

Comunidad: Chacraseca-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-114-09	Muquita	H	positivo
BVD/IBR-115-09	patita	H	negativo
BVD/IBR-116-09	Gargantia	H	positivo

Propietario: Juan Reyes

Finca:

Comunidad. Leona-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-117-09	Empanada	M	negativo
BVD/IBR-118-09	pulga	H	negativo
BVD/IBR-119-09	lucia	H	positivo
BVD/IBR-120-09	topasio	H	negativo
BVD/IBR-121-09	elisea	H	negativo
BVD/IBR-122-09	cogota	H	negativo

Propietario: Luis Baldizón

Finca: Buen Aire

Comunidad. Leche cuago- León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
------------------	----------------	-------------	------------------

BVD/IBR-123-09	Flor del campo	M	negativo
BVD/IBR-124-09	chotona	H	positivo
BVD/IBR-125-09	Marta	H	negativo
BVD/IBR-126-09	Muñeco	H	positivo

Propietario: Yader

Baldizón

Finca:

Comunidad:  
León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-127-09	garza	H	negativo
BVD/IBR-128-08	mariposa	H	positivo
BVD/IBR-129-09	negra lora	H	negativo
BVD/IBR-130-09	fortuna	H	negativo
BVD/IBR-131-09	pañuelo	H	positivo
BVD/IBR-132-09	lucero	H	positivo

Leche Cuago –

Propietario: Millan Hernández

Finca: El Mamon

Comunidad Chacraseca-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-133-09	Chele	M	negativo
BVD/IBR-134-	Chorro	M	negativo

09			
BVD/IBR-135-09	Negro	M	negativo

Propietario: Silvio Trujillo

Finca:

Comunidad: Leche cuago

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-136-09	chota	M	negativo
BVD/IBR-137-09	muca	H	negativo
BVD/IBR-138-09	sandoval	H	negativo
BVD/IBR-139-09	chota/b7:4	H	negativo
BVD/IBR-140-09	frijoleña	H	negativo

Propietario: Salomón Gomes

Finca:

Comunidad: Leona- León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-141-09	Chivo 1/b1-1	M	negativo
BVD/IBR-142-09	chivo2/b1-2	M	negativo
BVD/IBR-143-09	chivo3/b1-3	M	negativo

BVD/IBR-144-09	culuca	H	positivo
BVD/IBR-145-09	muca	H	negativo
BVD/IBR-146-09	cota	H	positivo
BVD/IBR-147-09	gigantona	H	negativo
BVD/IBR-148-09	cotita	H	negativo

Propietario: Roger Balladares

Finca:

Comunidad: Leona- León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-149-09	muñequita	H	negativo
BVD/IBR-150-09	coyotita	H	negativo
BVD/IBR-151-09	chilasta	H	positivo
BVD/IBR-152-09	marisela	H	negativo
BVD/IBR-153-09	maria	H	positivo
BVD/IBR-154-09	coneja	H	negativo
BVD/IBR-155-09	zanata	H	positivo
BVD/IBR-156-	cumbia	H	negativo

09			
BVD/IBR-157-09	patona	H	negativo
BVD/IBR-158-09	pinta	H	negativo
BVD/IBR-159-09	leche corrida	H	negativo
BVD/IBR-160-09	dunda	H	negativo
BVD/IBR-161-09	concha	H	negativo
BVD/IBR-162-09	canela	H	positivo
BVD/IBR-163-09	canduchin	H	negativo
BVD/IBR-164-09	cara negra	H	negativo
BVD/IBR-165-09	clemencia	H	negativo
BVD/IBR-166-09	vala	H	negativo
BVD/IBR-167-09	marcia	H	positivo

Propietario: Álvaro Moreno

Finca: Quinta Martha

Comunidad: Chague- León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-168-09	chorreada	H	negativo
BVD/IBR-169-09	mariposa	H	negativo
BVD/IBR-170-09	lechuga	H	negativo
BVD/IBR-171-09	chepa	H	negativo
BVD/IBR-172-09	la garza	H	positivo
BVD/IBR-173-09	margarita	H	negativo
BVD/IBR-174-09	carolina	H	negativo
BVD/IBR-175-09	garrapata	H	negativo



BVD/IBR-176-09	la fortuna	H	positivo
BVD/IBR-177-09	colita	H	positivo
BVD/IBR-178-09	la picuda	H	negativo

Propietario: Isidro Noel Tinoco

Finca:

Comunidad: Chague-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-179-08	lucero	H	positivo
BVD/IBR-180-09	reyna	H	positivo
BVD/IBR-181-09	muco	M	negativo
BVD/IBR-182-09	lucero	M	negativo
BVD/IBR-183-09	mono	H	negativo

Propietario: Orlando Ruíz Canales

Finca:

Comunidad: Chague

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-184-09	la pulga	H	negativo
BVD/IBR-185-09	la muca	H	negativo
BVD/IBR-186-09	geoconda	H	negativo
BVD/IBR-187-09	garza	H	negativo
BVD/IBR-188-09	chota	H	negativo
BVD/IBR-189-	reyna	H	positivo

09			
BVD7IBR-190-09	consuelo	H	negativo
BVD/IBR-191-09	marlene	H	negativo
BVD/IBR-192-09	pan quemado	H	negativo
BVD/IBR-193-09	dunda	H	negativo

Propietario: Santos Balladares

Finca:

Comunidad:

Chague

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-194-09	lucero	M	positivo
BVD/IBR-195-09	la chota	H	negativo
BVD/IBR-196-09	la mapachina	H	negativo
BVD/IBR-197-09	gitana	H	negativo
BVD/IBR-198-09	yanet	H	negativo
BVD/IBR-199-09	cabra	H	negativo
BVD/IBR-200-09	chela	H	negativo
BVD/IBR-201-09	antonio	H	negativo
BVD/IBR-202-09	perlita	H	negativo
BVD/IBR-203-09	reyna	H	positivo
BVD/IBR-204-09	coyote	M	negativo
BVD/IBR-205-09	palomo	M	negativo
BVD/IBR-206-09	garza	M	negativo
BVD/IBR-207-09	hija de mapachina	H	negativo

Propietario:  
Figueroa

Finca: EI

Comunidad: EI

Pedro

Porvenir

viejo

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
------------------	----------------	-------------	------------------

BVD/IBR-208-09	dunda	H	positivo

Propietario: Luis Saldaña

Finca:

Comunidad: Leche cuago – León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-209-09	Maria	H	negativo
BVD/IBR-210-09	coneja	H	positivo
BVD/IBR-211-09	concho	M	negativo
BVD/IBR-212-09	garza	H	positivo
BVD/IBR-213-09	catana	H	positivo
BVD/IBR-214-09	princesa	H	negativo
BVD/IBR-215-09	pepesca	H	negativo
BVD/IBR-216-09	cabra	H	negativo
BVD/IBR-217-09	muñeca	H	negativo
BVD/IBR-218-09	iguana	H	negativo

Propietario: Silvio Trujillo

Finca:

Comunidad: Leche Cuago

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-219-09	el muco	M	negativo
BVD/IBR-220-09	la cachuda	H	negativo
BVD/IBR-221-09	la chata	H	negativo
BVD/IBR-222-09	la chito	H	negativo
BVD/IBR-223-09	la oera	H	negativo
BVD/IBR-224-09	la muca	H	negativo
BVD/IBR-225-09	la tunca	H	negativo
BVD/IBR-226-09	el regalo	M	negativo
BVD/IBR-227-09	cacho de platano	H	positivo
BVD/IBR-228-09	poposca	H	negativo

Propietario:  
Mendoza

Ramón

Finca:

Comunidad: Los Leche Cuago

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-229-09	Azucena	H	negativo
BVD/IBR-230-09	la tita	H	negativo
BVD/IBR-231-09	la molina	H	positivo
BVD/IBR-232-09	la muquita	H	negativo
BVD/IBR-233-09	juguetita	H	negativo
BVD/IBR-234-09	rosalinda	H	negativo

Propietario: Aurelio Guido

Finca:

Comunidad: Los Leche Cuago

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-235-09	negra lora	H	negativo
BVD/IBR-236-09	ahumada	H	negativo
BVD/IBR-237-09	modesta	H	negativo
BVD/IBR-238-09	chota	H	negativo
BVD/IBR-239-09	ojos negros	H	negativo
BVD/IBR-240-09	chilindrina	H	negativo
BVD/IBR-241-09	negro loro	M	positivo
BVD/IBR-242-09	cota	H	negativo

Propietario: Leonel Chavarria

Finca:

Comunidad: Los Leche Cuago

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-243-09	blanca	H	negativo
BVD/IBR-244-09	rosa	H	negativo
BVD/IBR-245-	jose	M	negativo

09			
BVD/IBR-246-09	muñeca	H	negativo
BVD/IBR-247-09	clara	H	negativo
BVD/IBR-248-09	la cachito	H	negativo

Propietario: Juan Felix Pinado

Finca:

Comunidad: Los LECHE Cuago- León

Propietario:  
Asevedo

Finca: Santa

Comunidad: Los

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-249-09	lina	H	negativo
BVD/IBR-250-09	valija	H	positivo
BVD/IBR-251-09	mona	H	negativo
BVD/IBR-252-09	bellota	H	negativo
BVD/IBR-253-09	lupe	H	positivo
BVD/IBR-254-09	bareina	H	positivo
BVD/IBR-255-09	chila	H	negativo
BVD/IBR-256-09	muca	H	negativo
BVD/IBR-257-09	feo	M	negativo
BVD/IBR-258-09	muchachita	H	negativo

Juan José

Isabel

Barzones-León

<b>CodigoLab</b>	<b>Identif</b>	<b>Sexo</b>	<b>Resultado</b>
BVD/IBR-273-09	palomo	H	negativo
BVD/IBR-274-09	princesa	H	negativo
BVD/IBR-275-09	fortuna	H	positivo
BVD/IBR-276-09	maria	H	positivo
BVD/IBR-277-09	conejo	H	negativo
BVD/IBR-278-09	la flaca	H	positivo
BVD/IBR-279-09	chota	H	negativo
BVD/IBR-280-09	estrellita	H	negativo
BVD/IBR-281-09	pancho	M	positivo
BVD/IBR-282-09	barano	H	negativo
BVD/IBR-283-09	colorado	M	negativo
BVD/IBR-284-09	muñeco	H	negativo
BVD/IBR-285-09	muquita	H	negativo
BVD/IBR-286-09	palomo	M	negativo
BVD/IBR-287-09	careta	M	negativo