

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN-LEON

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE
LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA.**

Tema: Determinación antigénica y seroprevalencia del virus de diarrea viral bovina en fincas lecheras del departamento de León, durante el periodo comprendido Noviembre 2010 - Enero 2011.

Presentado por:

Br. José Félix Martínez Corea

Tutor:

Dr. Migdonio Quintanilla Darse

Dr. José Luis Bonilla Espinoza

León Noviembre del 2012

INDICE

N°		Paginas
1)	Resumen	2
2)	Abreviaturas	3
3)	Dedicatoria	4
4)	Agradecimiento	5
5)	Introducción	6
6)	Antecedentes	7
7)	Justificación	8
8)	Planteamiento del problema	9
9)	Objetivos	10
10)	Marco teórico	11-13
11)	Diseño metodológico	24-27
12)	Resultados	28-30
13)	Discusión	31
14)	Conclusiones	32
15)	Recomendaciones	33
16)	Bibliografía	34-40
17)	Anexos	41-47

RESUMEN

La Diarrea Viral Bovina es una enfermedad de distribución mundial y endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. Es responsable de ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico. Las estrategias de erradicación dependen de la situación epidemiológica regional; básicamente consisten en la identificación y eliminación de bovinos persistentemente infectados, principal fuente de infección y reservorio del virus. El objetivo del estudio fue determinar la presencia de antígeno frente a esta enfermedad en ganado bovino adulto, (machos y hembras), en ocho hatos no vacunados del Municipio de León. Un total de 185 muestras de suero bovino se recolectaron y posteriormente analizado por un ensayo tipo ELISA indirecto para detección de anticuerpos, encontrando una seroprevalencia de 59.46%. A todos los no reactivos se les realizó la prueba de ELISA indirecto para detección de antígeno, no teniendo ningún resultado positivo. Se concluye que la nula prevalencia de antígenos a virus de la Diarrea Viral Bobina en bovinos adultas en las 8 finas analizadas demuestra la poca distribución del virus en la zona de estudio.

Palabras claves: BVD, ELISA indirecto, ELISA.

ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
Ag	Antígeno
ADNc	Acido desoxirribonucleico complementario
BVD	Diarrea Viral Bovina
VBVD	Virus de la Diarrea Viral Bovina
NCP	No citopatogénico
CP	Citopatogénico
IHQ	Inmuno Histoquímica
PI	Persistentemente infectado

DEDICATORIA

Dedico esta tesis primero a Dios y las personas que tuvieron fe en mí que sería capaz de culminar con mis estudios como son mis padres ellos me dieron el apoyo incondicional para realizar mis metas.

Lo dedico a mis padres Dr. Félix Martínez y Sr. Aida Corea por todo su apoyo y comprensión y motivación en la realización de este trabajo y a quien debo este logro que hoy he alcanzado.

Br. José Martínez.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios nuestro señor por permitirme tener vida, salud y las capacidades necesarias para culminar con mis estudios y este trabajo de tesis ya que él es el único incondicional que se encuentra presente ante nosotros en cualquier momento tantos buenos como malos.

A mis padres por el apoyo tanto económico como moral que me han brindado durante mi vida y la realización de este trabajo les agradezco de todo corazón.

A mis tutores el Dr. Migdonio Quintanilla, el Dr José Luis Bonilla, que nos brindaron todo el apoyo necesario para la realización y culminación de esta tesis.

INTRODUCCIÓN

La diarrea viral bovina es una enfermedad infecto-contagiosa causada por un virus, perteneciente a la familia Flaviviridae y al género Pestivirus. Dentro de este mismo género se encuentra la enfermedad de las fronteras (VEF) y la peste porcina clásica (PPC) los cuales están antigénica y genéticamente relacionados (Lertora 2003, 2006 Rondón).

El vBVD se presenta en dos formas: no citopatogénico y citopatogénico. Posee dos genotipos (tipo I y tipo II) según su secuencia de ácido nucleico. (Rondón 2006) los aislamientos de virus dentro de estos grupos muestran una considerable diversidad biológica y antigénica (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2004).

La importancia del estudio radica en conocer la prevalencia de la enfermedad en las fincas estudiadas, ya que con los resultados que se obtengan se podrá actualizar la base de datos epidemiológica sobre la distribución de la enfermedad en la localidad.

Este estudio se realizó en bovinos adultos en ocho fincas del municipio de León, un total de 185 muestras fueron obtenidas y se determinó la presencia de anticuerpos y antígenos frente a vDVB.

ANTECEDENTES

DVB fue descrita por primera vez en 1946 como una enfermedad aguda, epizoótica, caracterizada por gastroenteritis aguda, lesiones erosivas del tracto digestivo y mortalidad alrededor de 4-8 %. En 1953, Ramsay y Chivers describieron una enfermedad esporádica con diarrea intensa y profusa, emaciación, lesiones ulcerativas del tracto gastrointestinal y con una morbilidad entre 5-20% y una mortalidad del 100 %, lo cual se denominó Enfermedad de las mucosas (EM). Posteriormente, se dedujo que la BVD y la EM eran dos entidades de diferente presentación ocasionadas por el mismo virus (Parra 1994).

El estudio de la enfermedad perdió interés en los años 70s y 80s, y a partir de los años 80s, se descubrió la amplia gama de presentación de la enfermedad, su importancia como entidad supresora y sus efectos en la producción y la reproducción (Parra, 1994).

En Argentina los datos de seroprevalencia son variables. Se han reportado 90,7% y 48.6% de seroprevalencia en bovinos adultos en el sudoeste de Buenos Aires y en los Llanos de la Rioja, respectivamente (Lértora, 2003).

En Perú la enfermedad de la BVD fue introducida en la década del 60s con la importación de vacas de países donde la enfermedad era endémica y teniendo mayor prevalencia en el ganado lechero (Rivera, 1993). En 2002 se identificó un hato con 300 vacas en producción donde los abortos superaban el 20% anual (Jayashi, 2005).

En Nicaragua se han realizado estudios, sobre la seroprevalencia, de diarrea viral bovina llevándose a cabo en 5 municipios del departamentos de León, por Hernández y Méndez 2009, donde la seroprevalencia encontrada fue del 21.2%, representando a 60 bovinos positivos al test de ELISA de 283 bovinos muestreados, en el período comprendido marzo a septiembre (Hernández y Méndez, 2009).

JUSTIFICACION

El virus de la Diarrea Viral Bovina, es uno de los patógenos más comunes de los bovinos en el mundo, asociado a varias formas clínicas, que van desde una infección inaparente hasta una fatal denominada enfermedad de las mucosas. Esto genera grandes pérdidas económicas en las distintas partes del país y del mundo por ocasionar limitaciones en los procesos reproductivos y productivos de los bovinos.

En Nicaragua se desconoce la situación epidemiológica y el alcance de la infección, su efecto y el impacto que este puede ocasionar en la producción. Por lo tanto, el propósito de esta investigación es aportar datos actualizados de la prevalencia de la diarrea viral bovina en bóvidos no vacunados en 8 fincas lecheras de occidente del país.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina en bovinos adultos no vacunados en las 8 fincas lecheras en la región de occidente, en el periodo comprendido Noviembre 2010 – Enero 2011?

OBJETIVOS

General:

Determinar la prevalencia de diarrea viral bovina en bóvidos adultos (PI) no vacunados en las 8 fincas lecheras del departamento de León.

Específicos:

1. Detectar anticuerpos. de vDVB en muestras de suero de bovinos adultos, empleando ELISA de captura de anticuerpos.
2. Detectar antígenos de vDVB en muestras de suero de bovinos adultos negativos en la prueba de anticuerpos, empleando ELISA de captura de antígenos

MARCO TEORICO

La diarrea viral bovina es una enfermedad de distribución mundial y endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. Es responsable de ocasionar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, siendo los trastornos reproductivos los de mayor impacto económico. Las estrategias de erradicación dependen de la situación epidemiológica regional; básicamente consisten en la identificación y eliminación de bovinos persistentemente infectados, principal fuente de infección y reservorio del virus. (Lertora 2002)

ETIOLOGIA

El virus de la diarrea viral bovina (vDVB) pertenece a la familia Flaviviridae y del género Pestivirus. 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 con tres glicoproteínas ancladas a ella. (Lertora, 2003)

Variabilidad

El vDVB usa estrategias para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador. (Donis 1995) El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente. Sin embargo, el virus DVB aislado de cerdos y ovejas tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino.

Clasificación

Según sus efectos en los cultivos celulares, los Pestivirus se dividen en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte celular, los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar infección persistente. (Deregt 1995) El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad mucosa y se originan por mutación a partir del biotipo NCP; ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral. (Moennig Y Liess 1995) Hay considerables variaciones en la virulencia de las distintas cepas aisladas del vDVB, las infecciones pueden ser inaparentes o tener un desenlace fatal. (ver fig. 1,2)

EPIDEMIOLOGIA

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 seropositivo. Surge el interrogante del grado de interferencia de los anticuerpos vacúnales en la seroprevalencia. Otro dato, que no deja lugar a duda de la presencia de rebaños con infección activa en la población bovina, es la elevada prevalencia de infección en los fetos. (Houe, 1999)

Hospedador: Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. Los Pestivirus infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres. Estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un

programa de control, ya que los Pestivirus cruzan la barrera de especie. (Nobiron et. al, 2003)

Fuente de infección: La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos Persistentemente infestados. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos. (Houe, 1995)

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

Transmisión vertical: La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente pese a la eleva tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen hembras PI siempre dan terneros PI (Baker, 1995). La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si la receptora es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Houe, 1995).

Transmisión horizontal: El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz–nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales (Houe, 1995). El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus (Houe, 1999).

Transmisión por vía aérea: Se ha demostrado experimentalmente la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovinos persistentemente infectados a bovinos centinelas. Aunque la transmisión aerógena no es la

principal ruta de transmisión, puede tener consecuencias graves cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con alta densidad animal (McGowan et. al, 2003.)

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)

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).

El semen crudo o preservado de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal. Para evitar el uso de estos animales, en los centros de inseminación se debe recurrir al aislamiento viral y a un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección. Sin embargo, un toro con infección aguda puede escapar al aislamiento viral en sangre, superar el período de cuarentena y seguir siendo una amenaza. El virus puede eliminarse en semen por un corto período más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por semen. (fray et al 2000)

PATOGENIA

El virus se pone en 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 et al, 1993). El virus presenta tropismo por células mitóticamente activas como: linfocitos, fagocitos mononucleares y células epiteliales (Morales, 2001). Se ha especulado que el biotipo cp se replica en la mucosa nasal en títulos más altos que el biotipo no citopático, resultando en una eficiente diseminación en animales susceptibles (Baule et al 2001). La replicación comienza con la adhesión a la membrana plasmática y penetración en la célula, por mediación de la proteína de envoltura E2 (Morales, 2001). 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 (Johnson et al, 2001). 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 (Baule et al, 2001). Por otra parte, se ha determinado un bajo nivel de expresión de moléculas de alfa y beta tubulina, indicando aberraciones potenciales en la división celular, al igual que bajos niveles de expresión de los genes que codifican proteínas involucradas en la producción de energía y en la iniciación de la transducción de proteínas dependientes. (Nelly, 2002)

INFECCIÓN INTRAUTERINA - Efecto del virus sobre la fertilidad

Las vacas seronegativas que reciben semen de toros PI se convierten 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 periodo de viremia, como consecuencia de la replicación local en vesículas seminales y próstata (Ramírez, 1999).

La infección experimental de novillas produce ovaritis prolongada, lo que conlleva a una disfunción ovárica. La alteración del medio ambiente uterino

durante la fecundación o un efecto directo sobre los gametos se proponen como respuestas. Por otra parte, también se ha comunicado que la infección con vDVB incrementa significativamente el intervalo entre ciclos ovulatorios y la progesterona post-ovulatoria (Fray, 2002). También se ha indicado que el elevado nivel de cortisol puede suprimir la liberación de hormona luteinizante y, alternativamente, la afección de los folículos preovulatorios puede resultar en reducida esteroidogénesis (Ramirez, 1999).

El embrión bovino es susceptible a infección con vDVB dentro de las 2 semanas de incubación (emergencia desde la zona pelúcida). La ausencia de infección viral del oocito bovino ha sido atribuida a una barrera física a la entrada viral presentada por la zona pelúcida. La zona pelúcida no garantiza que los oocitos se encuentren libres de vDVB y se han propuesto a su vez dos rutas de acceso al oocito: el vDVB puede ganar acceso directo dentro de la espacio primordial, pues allí el oocito es metabólicamente activo y no ha completado la deposición glicoproteica requerida para formar la zona pelúcida. La segunda ruta es a través de las células del cumulus, susceptibles a infección (Fray et al, 1998). En ese mismo sentido se destaca la presencia de poros en la zona pelúcida de tamaño suficiente para permitir el paso de virus tales como el vDVB y el herpesvirus bovino tipo-1, demostrándose que en todos los estados de desarrollo embrionario más del 96% de los poros poseen el tamaño necesario para la entrada viral (Vanroose et al, 2000). Probablemente comienza a ser susceptible a la infección después de la implantación a los días 19-20 post-concepción y/o al desarrollo de cotiledones fetales alrededor del día 30 post-concepción (Moening, 1995).

Malformaciones

El vDVB es capaz de cruzar la placenta así como la barrera hemato encefálica fetal, produciendo diversas lesiones en el sistema nervioso central (principalmente cerebelo); la severidad en las lesiones se incrementa con la edad del feto al momento de la infección (Brown, 1975-1995). También se ha reportado deformación esquelética (miembros posteriores, frontales doblados, braquignatismo mandibular, alopesia anormalidades en cabeza y mandíbulas.

PATOGÉNICIA DE LA ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS (EM)

La EM requiere una infección persistente congénita con virus biotipo ncp y una subsecuente súper infección con virus biotipo citopático. En bovinos la EM se genera cuando animales PI con una cepa no citopática son súper infectados con una cepa citopática de origen exógeno o generada de cambios genéticos o recombinación del ARN de las cepas no citopáticas residentes (Baule, 2001) principalmente por inserción de secuencias celulares o rearrreglos genómicos, esto suele ocurrir entre los 6 a 24 meses de edad (Blood, 1992).

Síntomas clínicos

La infección del ganado con el vDVB puede resultar uno de los tres síndromes

- A) Diarrea Viral Bovina (infección post natal primaria)(Ward, 1991)
- B) Infección persistente (Ramírez, 1993)
- C) Enfermedad de las mucosas (Ramírez, 1993)

A: con sintomatología sub clínica o severa, se puede infectar con un biotipo citopático y no citopático y con alta mortalidad.

B y C: pueden desarrollar una infección respiratoria y digestiva.

La enfermedad respiratoria puede ser una de las principales manifestaciones de la infección generalizada por vDVB. Existe evidencia epidemiológica y experimental de que vDVB está directamente asociado con el complejo respiratorio bovino (CRB) (Ramsey 1953).

La infección reproductiva o infección fetal está asociada con la diseminación tras placentaria del virus dependiendo del momento de la infección durante la gestación provocando muerte embrionaria, aborto, inmunotolerancia, defecto congénito, nacimiento de terneros débiles, también pueden nacer terneros normales pero con anticuerpos neutralizantes pre calostrales para el virus. (Gross, 2004)

La infección persistente se da en animales que han sido infectados entre los 35-125 días de gestación con el biotipo no citopático. En este periodo los animales nacen como negativos y se convierten en los principales diseminadores de la enfermedad ya que son reservorios asintomáticos de la enfermedad (Campbell, 2004).

La enfermedad de las mucosas se desarrolla a partir de animales persistentemente infectados que adquieren un virus citopático. La sintomatología cursa con pirexia, anorexia, diarrea aguda, úlceras en cavidad bucal. Presenta baja morbilidad y alta mortalidad que puede llegar al 100% (Campbell, 2004).

Otra forma de presentación es el síndrome hemorrágico, su nombre se debe a la presentación de diarrea con sangre, epistaxis, congestión en conjuntiva y mucosas, hemorragias petequiales y equimosis en mucosas, pirexia, leucopenia, linfopenia y neutropenia (Chul, 2005).

DIAGNÓSTICO

El objetivo principal del diagnóstico es la detección y remoción de bovinos PI, principal fuente de infección y reservorio del virus. El diagnóstico se basa únicamente en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico (Bielefeldt, 1995)

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

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

Fase B: Rebaños infectados con animales PI menores de 3–4 meses de edad. La mayoría de los animales están bajo una infección aguda, a una velocidad variable dependiendo del sistema de producción.

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

Fase D: Rebaños previamente infectados, donde los animales PI han sido removidos recientemente. Los animales jóvenes serán seronegativos cuando pierdan sus anticuerpos calostrales a los 6–8 meses de edad. Los animales adultos permanecen seropositivos.

Fase E: Rebaño previamente infectado, donde los animales PI han sido removidos hace varios años. Todos los animales jóvenes serán seronegativos (excepto algunos terneros con anticuerpos calostrales). Eventualmente el

rebaño se volverá seronegativo. Estos estudios epidemiológicos han permitido desarrollar diferentes métodos serológicos para la detección de rebaños con infección activa (con bovinos PI) de manera simple, eficaz y económica. (Houe, 1995)

El análisis serológico de una pequeña muestra de sangre tomada al azar de terneros de 6 a 12 meses de edad permite distinguir rebaños con infección activa, de rebaños sin bovinos PI, con un alto grado de seguridad (Bitsch y Houe et al,1997) Se pueden cometer errores de clasificación cuando los rebaños poseen animales PI muy jóvenes, que no han tenido tiempo de infectar a los animales seronegativos remanentes, cuando los sistemas de explotación y la virulencia de la cepa permitan una diseminación lenta, o si se toma la muestra de animales menores de 6 meses de edad, los cuales tendrán anticuerpos calostrales. Estos problemas se solucionan repitiendo el examen unos meses después (Houe, 1992).

Detección del virus o componentes virales. Una vez identificados los rebaños con infección activa, se debe testear individualmente a los animales para detectar a los bovinos PI. Para ello contamos con cuatro métodos diferentes.

Aislamiento viral. El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Sin embargo, es económicamente prohibitivo para ser usado en el diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación (Dubovi, 1996). El cultivo celular se ha optimizado con el sistema micro titulador múltiple (Sadvik, 2005)

Detección de antígenos mediante enzimo–inmunoensayo (ELISA). La prueba de ELISA utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para “capturar” antígenos del vDVB en muestras de sangre. Comparado con el

aislamiento viral, es un método rápido y económico, por lo tanto, es el método de preferencia para la detección a gran escala de animales PI.(Dubovi, 1996)

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.(Saliki y Dubovi , 2004).

Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (IHQ). La IHQ se realiza, rutinariamente, en tejido fijado en formalina y embebido en parafina; aventajando a otras técnicas en términos de conveniencia en la remisión de las muestras, posibilita el estudio retrospectivo de muestras enviadas para examen histopatológico y permite una precisa asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histológicas, (Dubovi, 1996)

La IHQ de tejidos fijados en formalina es el método diagnóstico más conveniente para la detección del vDVB en fetos. Hay un significativo número de resultados falsos positivos y falsos negativos con la inmunofluorescencia (sensibilidad: 77 %, especificidad: 83 %), y significativo número de falsos negativos con el aislamiento viral (sensibilidad: 83 %, especificidad: 100 %), mientras que la IHQ posee el mejor desempeño: especificidad: 97 % y sensibilidad: 97 %.(Ellis et al, 1995)

CONTROL Y PROFILAXIS

Los recientes avances en el conocimiento de la patogénesis y epidemiología del BVD indican que es poco factible mantener hatos libres de BVD; por lo que el objetivo debe ser la prevención y control a través de 3 aspectos fundamentales.

Buen control sanitario. La finalidad es evitar el ingreso del virus al hato. Con este propósito deben evitarse una serie de factores: el uso múltiple de la aguja hipodérmica, contacto con otros rumiantes que pueden ser portadores del virus, el uso de germoplasma de dudosa procedencia, el uso de vacunas a virus vivo modificado, el libre ingreso de animales al hato sin previo análisis, el estrés, etc. (Baker, 1987)

Identificación y remoción de los animales persistentemente infectados.

Esta es una de las medidas de enorme trascendencia puesto que los animales con infección persistente (inmunotolerantes) son los principales diseminadores del virus. Afortunadamente estos animales no superan al 2%, pero en algunos hatos pueden alcanzar porcentajes superiores (Ridpath, 1991).

Este procedimiento debe hacerse cuando existen sospechas de tener la infección en el hato; por ejemplo: incremento de la frecuencia de abortos, nacen terneros débiles o con malformaciones congénitas, incremento en el número de vacas que repiten el celo. En tal situación, debe muestrearse todos los animales mayores a 6 meses. Si en el hato hay BVD, la prevalencia debe ser alta y los negativos deben ser considerados sospechosos y eliminados del hato, si el porcentaje de estos animales es mínimo.

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

animales que no fueron muestreados (terneros menores a 6 meses). (Bolin et al y Brownlie, 2000)

Vacunación

En la actualidad existen dos tipos de vacunas: a virus vivo modificado y a virus muerto o inactivado.

La vacuna a virus vivo modificado tiene la ventaja de producir altos niveles de anticuerpos sin la necesidad de una segunda dosis, por esta razón es adecuada para el ganado de crianza extensiva pero, tiene la desventaja de producir inmunosupresión predisponiendo al animal a otras infecciones, por ejemplo en animales estresados se incrementa la mortalidad por problemas respiratorios; no puede usarse en animales gestantes y puede revertir a la virulencia causando serios problemas. (Roth y Kalberle, 1983)

La vacuna a virus muerto tiene la desventaja de requerir una segunda dosis para inducir los anticuerpos a niveles protectivos, pero es segura, no es inmunosupresora y puede usarse en vacas gestantes. Por las facilidades del manejo esta vacuna es recomendada en bovinos de explotación intensiva. En la actualidad existen muchas marcas comerciales y la tendencia es el empleo de vacunas a virus muertos polivalentes con dos o más cepas de virus BVD. (Baker, 1987)

DISEÑO METODOLÓGICO

TIPO DE ESTUDIO.

El tipo de estudio es transversal.

Ubicación del estudio:

Se realizó en el municipio León, que se encuentra a unos 20 km de la costa pacífica en una posición geográfica de 12° 26' latitud norte y 86° 53' longitud oeste, a 109 msnm. Las fincas de estudio fueron 8 fincas aledañas al municipio de León. Caracterizadas por una explotación extensiva de doble propósito tanto lechero como de engorde para la venta de terneros machos criollos.

Presenta un clima tropical seco con dos épocas en el año época de lluvia y época de sequía siendo la segunda la más pronunciada.

Población en estudio:

La población objeto de estudio fueron los 656 bovinos adultos, 128 machos y 528 hembras, presentes en las ocho fincas seleccionadas.

Tamaño de muestra.

Para la determinación del tamaño de muestra, se realizó cálculo utilizando el programa Win Episcopo 2.0, determinación de porcentajes. A partir de una población de 656 bovinos adultos, con una prevalencia esperada del 22 %, un error aceptado del 5 % y un nivel de confianza del 95 %.

A partir de cálculo se obtiene un tamaño de muestra equivalente a 185 bovinos, que equivale al 28.2% de la población total.

Codificación de las fincas del número 1 al 8 según la siguiente tabla:

Tabla N° 01 Codificación de las fincas

Número de la finca	Nombre de la finca
1	Ceiba Mocha
2	Sin nombre
3	Palo Quemado
4	Alimentos Metropolitano
5	Chiriquí
6	La Cabullera
7	El Pegón
8	Santa Clelia

Criterios de inclusión:

- Que los bóvidos sean adultos.
- Que los bóvidos sean machos y hembras.
- Que el propietario acepte la participación voluntaria.

Criterios de exclusión:

- Que hayan sido vacunados frente al vDVB.
- Que los propietarios no hayan querido participar.

Técnicas y métodos de recolección de los datos:

En primera instancia se les explico a los dueños del hato de bovinos adultos los objetivos del estudio (consentimiento informado), luego se procedió a la aplicación de un instrumento de recolección de datos sobre el hato.

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

La sangre se extrajo de la vena yugular mediante punción, previa desinfección del sitio y utilizando aguja calibre 18x1^{1/2} desechable, en dirección longitudinal al vaso. Una vez obtenido la muestra, se vertió en tubos de ensayo de 10 ml sin anticoagulante.

Limitaciones:

- Muestras perdidas por mal manejo y hemólisis.
- El tiempo en que dilatamos en la toma hasta su proceso.

Ventajas:

- Acceso fácil al muestreo, debido a que las fincas están cerca de la ciudad.
- Participación voluntaria de parte de los propietarios.
- La prueba ELISA de captura de antígenos es de alta confiabilidad para detectar animales PI.

Divulgación de los resultados:

- Tesis de pregrado.
- Retroalimentación a los propietarios.
- MAGFOR.

MÉTODOS

Para la obtención de especímenes aptos para el estudio, se realizaron pruebas en serie, es decir a los que resultaron negativos a la prueba de captura de anticuerpos, se les realizó la prueba de captura de antígeno, con el fin de confirmar o descartar animales PI.

Detección de anticuerpos del vDVB:

Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos para la extracción del suero y colocadas en viales de 1.5 ml.

En la realización del diagnóstico se utilizó el Kit HerdCheck VBVD que es un inmunoensayo enzimático indirecto diseñado para detectar anticuerpos específicos de VBVD en muestras de suero, plasma y leche. El ensayo consiste en una técnica ELISA indirecta donde se utilizan placas de

microtitulación tapizadas con antígenos de vBVD. Los anticuerpos frente a VBVD presentes en la muestra se unen al antígeno de la placa. El desarrollo de color indicó la presencia de Ac frente a vBVD en la muestra (resultado positivo), y con la ayuda de un lector de ELISA se obtuvo los resultados definitivos

Detección de antígenos del vDVB

En la realización del diagnóstico se utilizó el Kit HerdCheck VBVD. El antígeno del vDVB de la muestra es capturado en las placas. Tras la incubación de la muestra en el pocillo, el antígeno es detectado por anticuerpos específicos y conjugado de per oxidasa de rábano picante. Después se lava el conjugado sin enlazar para eliminarlo y se añade una solución de sustrato/cromógeno. En presencia del enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno, generando una coloración azul. Con la adición de la solución de frenado se genera un color amarillo. La absorbancia se mide con el espectrofotómetro a una longitud de onda única de 450 nm. [A (450)] o doble de 450 nm y 650 nm [A (450/650)]. El valor de la densidad óptica (DO) corregida de las muestras se calcula usando la absorbancia [A (450)] o [A (450/650)] obtenida con la muestra del ensayo y corregida con la absorbancia del control negativo.

Análisis estadístico

Se estructuró una base de datos en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences), en la que se ingresó los datos de cada bovino muestreado. Se utilizó la estadística descriptiva, para la elaboración de tablas de frecuencia tanto para los positivos como para los negativos a la prueba de captura de anticuerpos. Se describió las frecuencias relativas de los animales que resultaron positivos o negativos a la prueba de captura de anticuerpos. Además se realizó una inferencia sobre parámetros en ambas variables. Los resultados se presentaron a través de gráficas y tablas de frecuencias mostrando el porcentaje de las variables del estudio.

RESULTADOS

El tamaño total de muestra fue de 185 bovinos adultos de 8 fincas ganaderas con un error aceptado del 5 % y un nivel de confianza del 95 %. Encontrando una seroprevalencia del 59.46% al test de ELISA para la detección de anticuerpos de frente al vDVB.

Para conocer la prevalencia de antígenos, se les realizó la prueba ELISA de captura de antígeno a las muestras negativas del primer análisis, ya que se busca aquellos individuos PI, los cuales no reaccionaran por el no reconocimiento del sistema inmune hacia la partícula viral.

Se realizó un análisis de riesgo para determinar si existían diferencias entre las fincas objeto de estudio. Los resultados indican que el mayor riesgo de infección se presenta en la finca 8. Los factores asociados con la mayor seroprevalencia deberían ser objeto de estudios posteriores.

GRAFICAS REPRESENTAVAS

Gráfico 1.

Distribución de los animales por finca

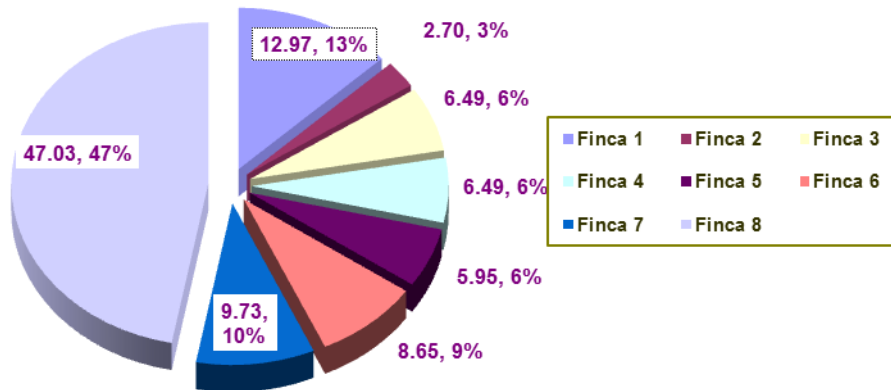
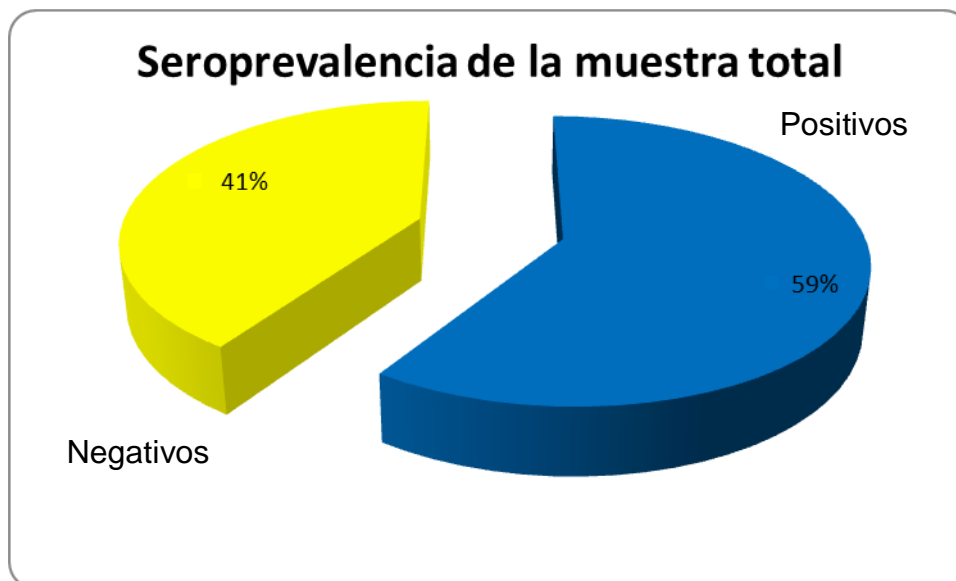


Gráfico 2.



Obtuvimos un 41 % de negativos al Test de ELISA, representando 75 animales de una muestra de 185.

Grafico 3

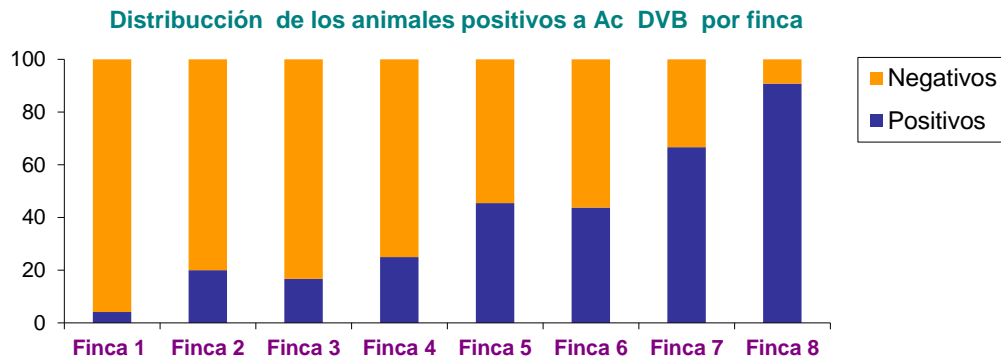
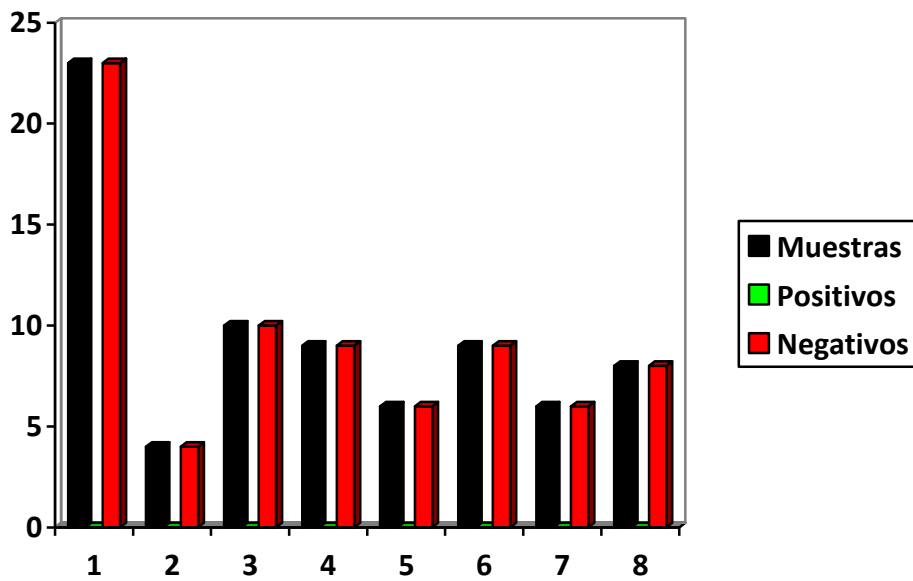


Grafico 4 Muestra y resultados en la detección de antígeno



No se encontraron resultados positivos en la detección de antígenos con el test de ELISA.

DISCUSIÓN

Se encontró una seropositividad del 59.46 % en los bovinos de las finca objeto de estudio.

Esto es atribuible a infección subclínica o contacto con cepas de virus campo sin desarrollo de alteraciones clínicas visibles, ya que en los criterios de inclusión solamente se realizó muestreo a animales sanos y en fincas sin vacunación previa.

Este estudio arrojó datos importantes, similares a los encontrados por otros autores en otros países del mundo. Jensen y Reinhanrdt en sus artículos, mencionan que aproximadamente el 60 % de adultos poseen anticuerpos frente a BVD, siendo similar a los resultados obtenidos en esta investigación, que es 59.46%. En el estudio de Hernández y Méndez 2009, se encontró una seroprevalencia de 21.2 % en el departamento de León, siendo esta cifra menor debido a que se realizó en municipios con menor carga ganadera y los hatos están más alejados unos con otros o debido a que en el último año la seroprevalencia ha aumentado.

En vista al tamaño de muestra, muy pocos individuos observados, no fue posible encontrar permanentemente infectados (PI), dado que la proporción de estos es sumamente baja en los rebaños.

La finca de mayor prevalencia serológica frente al virus de DVB fue la nº 8. Al realizar un análisis de riesgo mediante la aplicación informática WinEpiScope se confirmó que esta finca posee un Odd Ratio mayor.

Los factores que podrían contribuir a un riesgo de infección elevado, y que por tanto podrían ser objeto de estudio son: el uso múltiple de la aguja hipodérmica, contacto con otros rumiantes que pueden ser portadores del virus, el uso de germoplasma de dudosa procedencia, el uso de vacunas a virus vivo modificado, el libre ingreso de animales al hato sin previo análisis, el estrés, etc. (Baker, 1987)

CONCLUSIONES

1. La Seroprevalencia frente a la Diarrea Viran Bovina es del 59.46% de las muestras totales.
2. La detección del antígeno de la Diarrea Viral Bovina, haciendo uso de la técnica ELISA de captura de antígeno es cero.
3. Los resultados de este estudio permiten concluir que la nula prevalencia de antígenos a vBVD en vacas adultas en las 8 fincas analizadas demuestra la poca distribución del virus y poca exposición en los rebaños analizados.
4. A través de este estudio y otros que existen en el municipio de León, el Ministerio Agropecuario y Forestal, MAGFOR, tiene que implementar medidas de vigilancia epidemiológicas y realizar técnicas diagnósticas para la identificación del agente de BVD y minimizar el impacto de esta enfermedad en el occidente del país.

RECOMENDACIONES

- 1) Realizar la prueba de nuevo en un término de tres meses para realizar un diagnóstico definitivo en cuanto a la presencia de antígenos en estas fincas del departamento de León.
- 2) Utilizar otras pruebas, como PCR e inmunofluorescencia que son otras pruebas para el diagnóstico de vDBV.
- 3) En los hatos donde se encontró una elevada seroprevalencia se recomienda realizar planes de vacunación tanto en terneras como en toros de reposición o toros comprados antes de su primer servicio, de este modo se controlaría la enfermedad en el hato.
- 4) En el caso de los machos realizar pruebas de laboratorio en semen ya que los PI son constantes diseminadores por vía sexual.
- 5) Realizar cuarentenas a todos los animales a introducir a las fincas y realizar una prueba serológica para impedir el ingreso de animales con DVB con el fin de evitar el máximo impacto de la enfermedad en los dos ámbitos más importantes, la inmunosupresión y la reducción de la capacidad reproductiva de las hembras.

BIBLIOGRAFIA

Ames TR, 1986.The causative agent of BVD: epidemiology and pathogenesis Vet. Med. 81: 848-869.

Baule C. 2000. Molecular characterization of bovine viral diarrhea virus, an important pathogen of cattle. Acta Universit. Agric. Sueciae 95: 163-171.

Baule C. 2001, Kulesar G., Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type microbiol 2001; 39:146-153.

Baker JC. 1987 Bovine viral diarrhea virus: a review. J AVMA Vet Med Assoc 1987. 190: 1449-58.

Baker JC. 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. Vet Clin N Am: Food Anim Pract 11: 425-445.

Bielefeldt Ohman H. 1983. Pathogenesis of bovine diarrhea-mucosal disease: distribution and significance of BVDV antigen in diseased calves. Res Vet.Sci. 34, 5-10.

Bielefeldt Ohman H. 1995 the pathologies of bovine viral diarrhea virus infection. Food anim. Pract. 11: 447-476.

Bitsch V., Houe H.N.B., R.L., 1997. Examination of blood and bulk tank milk sample to monitor the bovine diarrhea infection status of cattle herds, Netherlands. ESVV, pp 158-161.

Blood D., Henderson J. 1992 Medicina veterinaria. España. Editorial interamericana de España Mc. Gratwiltill 1992; 2: 909-922.

Bolin SR, Ridpath JF. 1992. Difference in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea virus in calves. Am. J. Vet. Res. 53: 2157-2163.

Brodersen BW, WAK, SDR, 1998 immunohistochemical test on skin biopsies as a method for detection of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Proc. Am. Assoc. Bov. Pract.*31:246.

Brown T., De La Hunta A., 1975 In: Moening V. LB., 1995; 11: 477-487

Brownlie J, Thompson I, Curwen A. 2000. Bovine virus diarrhoea virus—strategic decisions for diagnosis and control. *In Practice*22: 176–187.

Campbell J. Effect of bovine viral diarrhoea virus in the feedlot. *Vet Clin food Anim* 2004; 20: 39-50

Caropi WV, Donis RO, Dubovi EJ. 1990. Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhoea virus. *Am J Vet. Res.* 51: 1388-1394.; *Ridpathj.* 1996

Cotrino B. IBR Y DVB, 2003 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.

Constable PD, Hull BL, Wicks JR, Myer W. 1993. Femoral and tibial fractures in a new born calf after trans-placental infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 132: 383–385.

Deregt D, loewen KG. 1995 .bovine diarrhoea virus: biotypes and disease. *Can. Vet. J.* 36:371-377.

David GP, Crawshaw TR, 1994. Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection. *Vet. Rec.* 134: 468-472.

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

Donis RO, 1995. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interaction with the host. *Food anim. Pract.* 11: 393-423.

Drake TR, Moor Da, 1996, An outbreak of acute BVD in Pennsylvania cattle. *international Symposium Bovine Viral Diarrhea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, pp 208.; Socket d, Bolin D, Ridpath J, Bolin 1996.

Dubovi EJ. 1996, Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. *Vet. Med.* 91: 867-872.

Ellis JA, Martin K, Norman GR, Haines DM. 1995. Comparison of detection methods for bovine viral diarrhea virus in bovine abortions and nonnatal dath J. *Vet. Diagn- Invest.* 7:433-436

Fray MD, Paton DJ, Alenius S. 1998; 1999; 2000; 2002 the effects of bovine viral diarrhea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 615-627.

Fedriksen B. Sandvik T. odegard SA. 1999 level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine viral diarrhea virus. *Vet. Rec.* 144: 111-114.

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

Grooms DL, 1998. Role of bovine viral diarrhea virus in the bovine respiratory disease complex. *Bov. Pract.* 32:7-12.

Hamer C, Couvreur B, Dehan P, Letellier C, LP, PP, KP. 2000. Differences in experimental virulence of bovine viral diarrhea virus strains isolated from hemorrhagic syndromes. *Vet. J.* 160: 250-258.

Hernández Centeno Y, Méndez Antón W. 2009 Seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina en 5 municipios del departamento de León, durante el período comprendido de Marzo a Septiembre del año 2009. Tesis para optar al título de licenciado en Medicina Veterinaria. Nicaragua: UNAN – León; 2009.

Houe H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *FoodAnim. Pract.* 11: 521–547.

Houe H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89–107.

Jensen, Rue; 1973 Enfermedades de los bovinos en los corrales de engorda, primera edición, ed. Hispano-Americana, Mexico D.F.,1973.

Johnson C., Perez D., FR., 2001 They NS5A protein of bovine viral diarrhoea virus interact with they a subunit of translation elongation factor 2001; 82: 2935-2943.

Jubb K. Kennedy P. 1993, pathology of domestic animals. Fourth edition. London academic 1993; 2:149-158.

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

Lertora WJ. 2002. Inmunohistoquímica en biopsias de piel y en bulbos pilosos, para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus diarrea viral bovina. *Tesis de Maestría*, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, p. 61–90.

Lértora W. J. 2003 Diarrea Viral Bovina: Actualización. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE Argentina. 1:42-51.2003.

Luis R. Saa. Anselmo Perea, 2011, seroprevalence and risk factors asociated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in no vaccinated diary and dual pur pose cattle herds in Ecuador.

Manual de la OIE. 2004, Manual de la OIE sobre animales terrestres; Diarrea viral bovina, cap. 2.10.6, 2004. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/D6509.PDF>

McGowan MR, Kirkland PD. 1995. Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Br Vet J* 151: 263-269; Brownlie J, Hooper LB, Thompson I, Collins ME. 1998. Maternal recognition of fetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) – the bovine pestivirus. *Clin Diagn Virol* 10: 141-150.

McGowan MR., 2003. Studies of the pathogenesis of ovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 59: 1051.1066.

Moennig V, Liess B. 1995, Pathogenesis of intrauterine infection with bovine viral diarrhoea virus. *Food anim. Pract.* 11: 477-488.

Morales S. 2001 Detección de terneros con infecciones congénitas con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincial Arequipa 2001 http://sisbid.unmsm.edu.pe/bidvirtual/tesis/salud/morales_C_s/rev_Bibli.htm.

Nobiron I, Thomson I, Brownlie J, Collin M. 2003 DN vaccination against Bovine Viral Diarrhoea Virus induces humoral and cellular responses in cattle with evidence for protection against viral challenge. *Vaccine* 2003; 21: 2082-92.

PARRA J., Vera V.1994 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, Lowings JP, Ramírez GC. 1994. Stability of the gp53 gene of a bovine viral diarrhoea virus isolated at different times from a persistently infected steer. *Br. Vet. J.* 150: 603–607.

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

Reinhardt V., G 1992.; Diarrea Viral Bovina/ Enfermedad mucosa. Una enfermedad viral compleja; *Monografías de Medicina Veterinaria*, Vol.14,No.1,

Julio 1992, Disponible en:
http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_completa/0,1421,SCID%253D18158%2526ISID%253D398,00.html

Ridpath JF, Bolin SR. Hybridization analysis of genomic variability among isolates of bovine viral diarrhoea virus using cDNA probes. **Mol Cell Probes.** 1991; 5: 291-298.

Ramírez M. C. Evaluación de cultivos celulares y S.F.B. con P. E. I. en el estudio del virus DVB. Trabajo de investigación. Facultad de medicina veterinaria, Universidad nacional de bogota Colombia 1993.

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

Richard Quispe Q., Alberto Cama S. Hermelinda Rivera G. y Mari luz Arainga R. El virus de la diarrea viral en bovinos criollos de la provincia de Melgar, P UNO. *Rev. Inv. Vet. Perú* 2008; 19(2): 176-182.

Roth JA, Kalberle ML. Suppression of neutrophil and lymphocyte function induced by vaccinal strain of bovine viral diarrhoea virus with or without the administration of ACTH. **Am j Vet Res.** 1983; 44: 2366-2372.

Sandvik T. selection and use laboratory diagnostic assays in BVD control pregrammers. *Prev. Vet medicine* 2005; 72: 3-16.

Saliki j, Dubovi E. 2004 Laboratory diagnosis of bovine diarrhea virus infections. *Vet Clin food Anim.* 2004;20: 69-83.

Vanroose G, DKA;VSA. 2000. Embryonic mortality and embryopathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:131-143. 62:463-469.

Vilcek S, Paton DJ, 2001 bovine Viral Diarrhoea Virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. *Arch. Virol.*146: 99-115.

Walz PH, 1999, Effect of experimentally induced type II bovine viral virus infections on platelet function in calves. Am J. Vet.Res . 60: 1396-1401.

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

Anexos

Técnica:

ELISA de captura de antígeno.

Kit para la detección de antígeno del virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVDV)/ suero plus.

Herdchek BVDV Ag/suero plus.

Se realizó centrifugado de la sangre para extracción del suero a 3000 rpm en un tiempo de 7 minutos.

Materiales

1. Jeringas desechables de 10 ml.
2. Agujas desechables calibre 18.
3. Tubos de ensayo de 10ml sin anticoagulante
4. Alcohol al 70%
5. Algodón.
6. Gradillas.
7. Guantes de látex.
8. Fichas de registro.
9. Termo contenedor de muestras.
10. Pipeta de precisión mono canal y multicanal apropiadas para distribuir de 10 a 100ul.
11. Puntas de Pipeta desechable.
12. Papel Toalla.
13. Cilindro graduado de 500ml para solución de lavado.
14. Lector de micro placas.
15. Agua destilada o ionizada.
16. Sellador de placas.
17. Agitador de vortex.

Tabla N°2

Resultados de la prueba ELISA para la detección de antígeno.

N°	Finca	Cantidad de muestras	Número de positivos
1	Ceiba Mocha	23	0
2	Sin nombre	4	0
3	Palo Quemado	10	0
4	Alimentos Metropolitano	9	0
5	Chiriquí	6	0
6	La Cabullera	9	0
7	El Pegón	6	0
8	Santa Clelia	8	0
	Total	75	0

TablaN°3

Machos, hembras por finca, Para detectar Ag.

N°	Finca	Machos (+)	Hembras (+)	Machos (-)	Hembras (-)	total
1	Ceiba Mocha	0	0	1	22	23
2	Sin nombre	0	0	1	3	4
3	Palo Quemado	0	0	1	9	10
4	Alimentos Metropolitano	0	0	1	8	9
5	Chiriquí	0	0	0	6	6
6	La Cabullera	0	0	0	9	9
7	El Pegón	0	0	1	5	6
8	Santa Clelia	0	0	1	7	8
	Total	0	0	6	69	75

Medidas estadística Odds Ratio

Datos

El objetivo es estimar el Odds Ratio en un estudio observacional Transversal estratificado, y determinar si la variable Var. estratificación se comporta como factor de confusión y/o variable de interacción:

Nivel de confianza % : 95%

Frecuencias Observadas							Frecuencias Esperadas								
Estado de salud		Enfermos		Sanos			Total	Estado de salud		Enfermos		Sanos			Total
Variable de riesgo	Finca	Expuestos	No expuestos	Expuestos	No expuestos	Total		Expuestos	No expuestos	Expuestos	No expuestos	Total			
		Expuestos	No expuestos	Expuestos	No expuestos		Expuestos		No expuestos						
Var. estratificación	Finca 1	1	109	23	52	185	Finca 1	14.27	95.73	9.73	65.27	185			
	Finca 2	1	109	4	71	185	Finca 2	2.97	107.03	2.03	72.97	185			
	Finca 3	2	108	10	65	185	Finca 3	7.14	102.86	4.86	70.14	185			
	Finca 4	3	107	9	66	185	Finca 4	7.14	102.86	4.86	70.14	185			
	Finca 5	5	105	6	69	185	Finca 5	6.54	103.46	4.46	70.54	185			
	Finca 6	7	103	9	66	185	Finca 6	9.51	100.49	6.49	68.51	185			
	Finca 7	12	98	6	69	185	Finca 7	10.70	99.30	7.30	67.70	185			
	Finca 8	79	31	8	67	185	Finca 8	51.73	58.27	35.27	39.73	185			
Total		110	770	75	525	1480	Total	110.00	770.00	75.00	525.00	1480			

Nota: los resultados de la fila Total no son la suma de los valores de cada columna

Los resultados indican que el mayor riesgo de infección se presenta en la finca 8.

Resultados

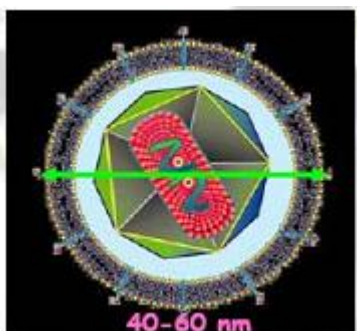
La variable de estratificación se comporta como una **variable de interacción** ya que los resultados específicos obtenidos para cada estrato son heterogéneos, es decir, la probabilidad de estar enfermo es diferente según el estrato al que pertenezca el individuo. Lo adecuado es usar los resultados específicos obtenidos para el Odds Ratio

	Odds Ratio	Aprox. logarítmica IC 95%	Aprox. Chi ² IC 95%	Límites válidos	Resultado
1. Valor crudo (sin considerar estratificación):	1.0000	(0.7307, 1.3686)	(1.0000, 1.0000)		Resultado no significativo
2. Valores ponderados:					
Método directo :	1.0997	(0.7144, 1.6928)			Resultado no significativo
Método de Mantel-Haenszel :	1.0000	(0.7332, 1.3639)	(10.2319, 44.5190)		Resultado no significativo
3. Comparación de valores crudos y ponderados:					
OR _{directo} / OR _{crudo} =	1.100				
OR _{Mantel-Haenszel} / OR _{crudo} =	1.000				
4. Homogeneidad de estratos:					
	Estadístico Q de Breslow-Day	Grados de libertad	Pq(%) (significación)		
	2373.1771	7	< 0.0001		
La variable de estratificación es una variable de Interacción					
5. Valores específicos (por estratos):					
Finca 1:	0.0207	(0.0027, 0.1578)	(0.0057, 0.0752)	Límites válidos	Resultado significativo
Finca 2:	0.1628	(0.0178, 1.4869)	(0.0230, 1.1536)	Límites no válidos	Resultado no significativo
Finca 3:	0.1204	(0.0256, 0.5666)	(0.0318, 0.4563)	Límites no válidos	Resultado significativo
Finca 4:	0.2056	(0.0537, 0.7869)	(0.0597, 0.7080)	Límites no válidos	Resultado significativo
Finca 5:	0.5476	(0.1609, 1.8644)	(0.1628, 1.8423)	Límites no válidos	Resultado no significativo
Finca 6:	0.4984	(0.1770, 1.4029)	(0.1793, 1.3850)	Límites válidos	Resultado no significativo
Finca 7:	1.4082	(0.8041, 3.9336)	(0.5046, 3.9295)	Límites válidos	Resultado no significativo
Finca 8:	21.3427	(9.1893, 49.5997)	(10.2319, 44.5190)	Límites válidos	Resultado significativo

Nota: los resultados marcados con asterisco (*) son valores estimados

IMAGENES

Virus de la DVB



Dermatitis



Lesiones en las mucosas



Obtenidas de revista vDVB en internet

