

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROPECUARIA



TESIS

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) EN CRIANZA MIXTA (OVINOS, VACUNOS Y ALPACAS) DE LA COMUNIDAD DE HUARACCO DEL DISTRITO DE COLQUEMARCA, CHUMBIVILCAS - CUSCO

PRESENTADO POR:

BACH. AYDEE LAIME MENDOZA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROPECUARIO**

ASESORES:

DR. EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ

ING. FIORELA KATTERINE FERNÁNDEZ BUSTINZA

CUSCO-PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: DETECCION DE ANTICUERPOS Y ANTIGENOS DEL VIRUS DE LA DIARREA VIBRIAL BOWEN (VDVB) EN CRIANZA MIXTA (COWINGS, VACUNOS Y ALPACAS) DE LA COMUNIDAD DE HUARACCO DEL DISTRITO DE COLQUEMARCA, CHUMBIWILCAS - CUSCO

presentado por: AYDEE LAIME MENDOZA con DNI Nro.: 47425341 presentado por: con DNI Nro.: para optar el título profesional/grado académico de INGENIERO AGRICULTOR

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 01 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 0.3%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 26 de NOVIEMBRE de 2021



UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO
F.G.A.

Dr. Edgar A. Valdez Gutiérrez
DOCENTE

Firma

Post firma EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ

Nro. de DNI 01285910

ORCID del Asesor 0000-0002-2966-7605
ORCID 2º Asesor: 0000-0002-2585-151X DNI: 45785077

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid:27259.409827225

AYDEE LAIME MENDOZA

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) EN CRIANZA MIXTA (O

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:409827225

Fecha de entrega

26 nov 2024, 4:43 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

26 nov 2024, 4:51 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS AYDEE 2024.pdf

Tamaño de archivo

3.1 MB

137 Páginas

24,751 Palabras

135,023 Caracteres

3% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 3%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
35 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso:

A mí amada madre:

Nicolaza Mendoza Ccorpuna por brindarme su apoyo incondicional en mis metas trazadas.

A mí amado padre:

Florentino Laimé Quispe que en paz descanse, aunque no estés con nosotros, siempre estarás presente en nuestros corazones.

A mis amados hermanos:

Yobana, Roger y Jhon Franklin quienes siempre me brindaron su apoyo incondicional en todo el proceso de mi trabajo de investigación.

A mi amado enamorado:

Juan Quispe Mamani por brindarme su amor y comprensión.

A mis familiares:

A mis abuelos (as), tíos (as) y primos (as). Por el cariño y su incesante apoyo en todo el proceso de mi formación académica.

A mis amigos(as) Edwin, Francisco, Emerson y Miloban por su brillante amistad y siempre aconsejarme.

AGRADECIMIENTO

En esta investigación agradezco infinitamente a Dios y a la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Agronomía y Zootecnia, Escuela Profesional de Ingeniería Agropecuaria.

A todos y cada uno de los catedráticos, quienes día a día compartieron su sabiduría y experiencias en mi camino académico.

Dejo constancia mi sincero agradecimiento a mis asesores al Dr. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez e Ing. Fiorela K. Fernández Bustinza. Por el apoyo permanente en la ejecución de tesis y procesamiento de las muestras; desde el inicio hasta culminar este trabajo de investigación.

De manera especial mi agradecimiento leal y profundo reconocimiento al Ing. Fredi Villafuerte Ccalluchi e Ing. Fiorela Guzmán Figueroa; quienes sin escatimar esfuerzos me apoyaron en la planificación, toma de muestras y desarrollo de esta investigación.

Al MVZ. Alcides Edward Calle Pacompia y al Mgt. Nils Herber Flores Huarco, extendiendo mi gratitud por su ayuda constante por su ayuda en el desarrollo de la tesis.

Muchas gracias a todos los productores pecuarios de la Comunidad de Huaracco quienes hicieron posible la toma de muestras en el desarrollo de la investigación

ÍNDICE

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO.....	III
ÍNDICE DE TABLA.....	VII
ÍNDICE DE IMAGEN	IX
GLOSARIO DE TÉRMINOS	XII
RESUMEN	XIV
SUMMARY.....	XV
INTRODUCCIÓN	1
I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN	3
1.1. Identificación de problema objetivo de investigación.	3
1.2. Planteamiento de problema.....	4
1.1.1. Problema general.....	4
1.1.2. Problemas específicos	4
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	5
2.1. Objetivos.....	5
2.1.1. Objetivo general.....	5
2.1.2. Objetivos específicos.....	5
2.2. Justificación	5
III. HIPOTESIS.....	7
3.1. Hipótesis General.....	7
3.2. Hipótesis Específico.....	7

IV.	MARCO TEORICO	8
4.1.	Antecedentes de la Investigación.....	8
4.2.	Bases Teóricas	14
4.2.1.	Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).....	14
4.2.2.	Agente etiológico	15
4.2.3.	Taxonomía y estructura.....	15
4.2.4.	Epidemiología.....	23
4.2.5.	Patogénesis de la DVB y de la EM.....	27
4.3.	bases conceptuales	33
4.3.1.	Antígeno	33
4.3.2.	Anticuerpo	33
4.3.3.	Reacción antígeno – anticuerpo.....	34
4.3.4.	Inmunosupresión.....	34
4.3.5.	Inmunotolerancia	34
4.3.6.	Seroprevalencia.....	34
4.3.7.	Prevalencia.....	34
4.3.8.	Incidencia.....	35
4.3.9.	Prueba de Elisa.....	35
4.3.10.	Sistemas de crianza	36
V.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	38
5.1.	Ámbito de Estudio	38
5.1.1.	Ubicación.....	38
5.1.2.	Ubicación política	38
5.1.3.	Ubicación geográfica.....	38
5.1.4.	Datos climáticos del distrito de Colquamarca	40
5.2.	Ubicación temporal	41
5.3.	Materiales de Estudio	41
5.3.1.	De los biológico	41
5.3.2.	De las muestras	41
5.3.3.	Tamaño muestra.....	41
5.3.4.	Materiales para La obtención de muestra de sangre	42
5.3.5.	Materiales y equipos de laboratorio.....	44
5.4.	Metodología.....	46

5.4.1. Obtención de muestras de sangre.....	46
5.4.2. Obtención de suero.....	47
5.4.3. Metodología de laboratorio	50
VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES	66
6.1. Seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en crianza mixta de ovinos, vacunos y alpacas en la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquemarca, Chumbivilcas – Cusco	66
6.1.1. Anticuerpos contra el VDVB cuantitativamente en crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) del Distrito Colquemarca de la Comunidad Huaracco.....	66
6.2. Seroprevalencia de los vacunos persistentemente infectados (PI) con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en crianza mixta en vacunos de la Comunidad de Huaracco Distrito de Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco	70
6.2.1. Determinación cuantitativa de grado de infección en vacunos de la Comunidad de Huaracco Distrito Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco	71
VII. CONCLUSIONES.....	74
VIII. RECOMENDACIONES.....	75
REFERENCIAS.....	76
ANEXOS	93

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Antecedentes resumidos para detección de anticuerpos del VDVB.....	13
Tabla 2. Resumen de antecedentes para Persistentemente Infectados (PI) a DVB.....	14
Tabla 3. Principales parámetros meteorológicos de Chumbivilcas.....	40
Tabla 4. Distribución de tamaño de muestra en la Comunidad de Huaracco Distrito de Colquamarca de la Provincia de Chumbivilcas.....	42
Tabla 5. Distribución de la placa de ELISA Competitivo para DVB en la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquamarca.....	51
Tabla 6. Distribución de la placa de ELISA Competitivo para DVB en la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquamarca (placa I).....	52
Tabla 7. Distribución de la placa de ELISA Competitivo para DVB en la Comunidad Huaracco del Distrito de Colquamarca (placa II).....	53
Tabla 8. Distribución de la placa de ELISA Indirecta para PI en vacunos en la Comunidad de Huaracco del distrito de Colquamarca (placa I).....	61
Tabla 9. Resultado Cualitativo para DVB de la crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) de la Comunidad Huaracco del Distrito de Colquamarca.....	66
Tabla 10. Seroprevalencia de anticuerpo contra el virus de la Diarrea Viral Bovina en crianza mixta de vacunos, ovinos y alpacas en la Comunidad Huaracco.....	67
Tabla 11. Resultado para PI a VDVB a la primera prueba en los vacunos de la Comunidad de Huaracco.....	71

Tabla 12. Reprueba de seroprevalencia de los vacunos persistentemente infectados (PI) a diarrea viral bovina en crianza mixta en la Comunidad Huaracco del Distrito Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco.....	71
--	----

ÍNDICE DE IMAGEN

Imagen 1. Morfología estructural propuesta para los pestivirus.....	17
Imagen 2. Cordero con lana característica de pelo.....	29
Imagen 3. <i>Malformación congénita debido al VDVB</i>	31
Imagen 4. Feto momificado de una vaca con serología positiva.....	32
Imagen 5. Mapa de ubicación provincial.	39
Imagen 6. Mapa de ubicación distrital.	39
Imagen 7. Toma de muestras de sangre de las alpacas.	47
Imagen 8. Obtención de suero sanguíneo en crioviales de 2.0 ml.....	48
Imagen 9. Preparación de solución 100 ml.	51

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1. Calculo para tamaño de muestra de ovinos, vacunos y alpacas de la Comunidad de Huaracco del Distrito Colquamarca, Chumbivilcas- Cusco.	93
Anexo 2. Ficha de Trabajo en Campo.	95
Anexo 3. Registro de los animales y resultados a la prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina y persistentemente infectados en crianza mixta en los vacunos en la Comunidad Huaracco del distrito Colquamarca, Chumbivilcas- Cusco.	95
Anexo 4. Registro de los animales y resultados a la prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina de ovinos en la Comunidad Huaracco del distrito Colquamarca, Chumbivilcas- Cusco.	98
Anexo 5. Registro de los animales y resultados a la prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina en alpacas en la Comunidad Huaracco del distrito Colquamarca, Chumbivilcas- Cusco.	102
Anexo 6. Cálculos para determinar la incidencia de la DVB en crianza mixta en vacunos, ovinos y alpacas en la Comunidad de Huaracco del Distrito Colquamarca, Chumbivilcas- Cusco.	107
Anexo 7. Cálculos finales de la diarrea viral bovina en crianza mixta en vacunos, ovina y alpacas en la Comunidad Campesina de Huaracco del Distrito Colquamarca, Chumbivilcas- cusco.	109
Anexo 8. Cálculos para determinar en vacunos la Seroprevalencia en prueba de PI a virus de la diarrea viral bovina en la crianza mixta en vacunos en la Comunidad campesina de Huaracco.	110

Anexo 9. Cálculos para determinar en vacunos la Seroprevalencia en Reprueba de PI a virus de la diarrea viral bovina en la crianza mixta en vacunos de la Comunidad campesina de Huaracco.....	110
Anexo 10. Ficha de trabajo en laboratorio – Área de Sanidad Animal.....	111
Anexo 11. Toma de muestra por endovenosa en alpacas ovinos y vacunos, en la Comunidad Campesina Huaracco distrito Colquemarca, Chumbivilcas- cusco.....	112
Anexo 12. Obtención de suero sanguíneo en crioviales, para luego guardar en refrigeración hasta el momento de procesamiento.....	114
Anexo 13. Kit completo para el diagnóstico de diarrea viral bovina.	114
Anexo 14. Homogeneizando las muestras y los reactivos en el vortex, listos para procesar las muestras.	115
Anexo 15. Agregando las muestras de suero sanguíneo a la placa de ELISA.	116
Anexo 16. Lavado de los pocillos con 300ul de solución de lavado, después de la incubación de 30 minutos 3 veces, luego se agregó 100ul de substrato TMB nº9 en cada pocillo.....	116
Anexo 17. Se agregó 100ul de conjugado diluido a cada pocillo, luego nuevamente se incubó 30 minutos a 26°C.	117
Anexo 18. Resultado cualitativo final en Placas de ELISA.....	118
Anexo 19. Resultado final en la lectura de densidad óptica, Por el lector de microplacas.....	119
Anexo 20. Determinación de anticuerpos cuantitativa del grado de infección de la DVB en crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) del distrito Colquemarca de la Comunidad Huaracco.....	120

GLOSARIO DE TÉRMINOS

1. **Ac** : Anticuerpo.
2. **ADN** : Ácido desoxirribonucleico.
3. **ARN** : Ácido ribonucleico.
4. **ARNm** : Ácido ribonucleico mensajero.
5. **BRSV** : Virus sincitial respiratorio bovina.
6. **CP** : Citopático y/o citopatogénico.
7. **NCP** : No citopático y/o no citopatogénico.
8. **CNx** : Media de control negativo.
9. **CPx** : Media de control positivo.
10. **DVB** : Diarrea viral bovina.
11. **DO** : Densidad óptica.
12. **ELISA** : Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas.
13. **EM** : Enfermedad de mucosas.
14. **IgG** : Inmunoglobulina G.
15. **IP** : Inmunoperoxidasa.
16. **Kda** : Kilodaltons.
17. **LB** : Linfocito B.
18. **LT** : Linfocito T.
19. **m.s.n.m.** : Metros sobre nivel del mar.
20. **MLV** : Vacuna a virus vivo modificado.
21. **M/N%**: Porcentaje de muestras, por el promedio del control negativo.
22. **M/P%**: Porcentaje de muestras, por el promedio del control Positivo.

23. **NV** : Neutralización viral.
24. **PI** : Persistentemente infectado.
25. **PCR** : Reacción en cadena de la polimerasa.
26. **TMB** : Solución Substrato Tetrametil bencidina.
27. **VDVB** : Virus de la Diarrea Viral Bovina.
28. **vEF** : Virus enfermedad de la frontera.
29. **VI** : Virus inactivos.
30. **VPPC** : Virus peste porcina clásica.
31. **IVITA** : Instituto Veterinario de investigaciones tropicales y de altura.

RESUMEN

La investigación se realizó con el fin de identificar la seroprevalencia de anticuerpos y antígenos del virus de la Diarrea Viral en Bovinos (VDVB) y detectar la existencia de animales con infección persistente (PI) en una crianza mixta de vacunos, ovinos y alpacas en la Comunidad de Huaracco, ubicada en el Distrito de Colquemarca, Provincia Chumbivilcas, Cusco. Se recolectaron muestras de suero sanguíneo de 40 vacunos, 63 ovinos y 63 alpacas, lo que suma un total de 166 muestras. Estas muestras fueron trasladadas al laboratorio de Sanidad Animal-UNSAAC para su análisis mediante la prueba de ELISA Competitivo, con el objetivo de detectar anticuerpos contra el virus de la DVB, utilizando el método ELISA indirecto para detectar el VDVB (PI) en los vacunos. Se encontró una seroprevalencia de anticuerpos contra el VDVB del 62.5 ± 0.13 % (25/40) en los vacunos. En los ovinos y alpacas, no se detectaron anticuerpos contra el virus de la DVB. La existencia de animales con infección persistente fue del 7.5 ± 0.04 %, limitada solo a los vacunos. Los resultados indican que los vacunos muestran tanto anticuerpos como antígenos del virus de la DVB, mientras que los ovinos y alpacas resultaron ser seronegativos para la DVB en la crianza mixta.

Palabras clave: Anticuerpo, Antígeno, Diarrea Viral Bovina y Colquemarca.

SUMMARY

The investigation was carried out to determine the seroprevalence of antibodies and antigens of the Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV) and the presence of persistently infected (PI) animals in a mixed breeding of cattle, sheep and alpacas in the Community of Huaracco, located in the District of Colquamarca, Chumbivilcas Province, Cusco. Blood serum samples were collected from 40 cattle, 63 sheep and 63 alpacas, making a total of 166 samples. These samples were transferred to the Animal Health-UNSAAC laboratory for analysis using the Competitive ELISA test, with the objective of detecting antibodies against the BVD virus, and the Indirect ELISA method to detect BVDV (PI) in cattle. A seroprevalence of antibodies against BVDV of 62.5 ± 0.13 % (25/40) was found in cattle. No antibodies against BVD virus were detected in sheep and alpacas. The presence of persistently infected animals was 7.5 ± 0.04 %, limited only to cattle. The results indicate that cattle show both antibodies and antigens of the BVD virus, while sheep and alpacas were found to be seronegative for BVD in mixed breeding.

Keywords: Antibody, antigen, Bovine Viral Diarrhea and Colquamarca

INTRODUCCIÓN

La población ovina en el territorio peruano es de 9,523,200 cabezas de ovino, siendo la sierra peruana representa el 94.2%, seguida por la costa, selva. Estos animales están destinados a la producción de carne y lana, y se distribuyen principalmente en Puno, Cusco, Junín y Huánuco INIA (2012) Los ovinos son una especie con presencia mundial debido a su fácil adaptabilidad.

En el territorio peruano, existen 5,156,044 cráneos de reses, de las cuales el 73.2 % proviene de la sierra. Los vacunos son productoras en carne y leche, y se distribuyen en Cajamarca, Puno, Cusco, Arequipa, Ayacucho y Apurímac. Cusco cuenta con un promedio de 407,267 ejemplares de ganado bovino, lo que lo convierte en una región fundamental en la producción ganadera. En cuanto a las alpacas, contamos con una población de 3,685,500 cabezas entre las razas Suri y Huacaya, distribuidas en Puno, Cusco, Arequipa y Huancavelica. Cusco alberga 545,454 cabezas de alpacas destinadas a la producción de carne y fibra INIA (2012).

La Comunidad de Huaracco cuenta con alrededor de 870 cabezas de ovinos, que incluyen variedades criollas y mejoradas, así como 900 cabezas de alpacas y 150 cabezas de vacunos, que también abarcan variedades criollas y mejoradas, según una encuesta realizada a los productores en la asamblea general de enero de 2018. La cría mixta de vacunos, ovinos y alpacas es el principal medio de sustento en la Comunidad y tiene una gran importancia económica. Aprovechando la fabricación de proteína animal, leche, fibra y lana, estas actividades representan los ingresos económicos familiares de los productores.

Actualmente, Perú no figura en el mapa internacional de exportación de ovinos, vacunos y alpacas. Sin embargo, nuestro país posee un gran potencial para desarrollarse en este sector, especialmente en las zonas de la sierra donde la ganadería tiene un mayor potencial. Es por eso que resulta importante estudiar agentes infecciosos como el Pestivirus de la DVB, los cuales pueden afectar significativamente la reproducción y producción en la cría de ovinos, vacunos y alpacas en Perú OIE (2008).

La Comunidad se encuentra en el Distrito de Colquemarca, en la Provincia de Chumbivilcas, Cusco. En esta área, la cría mixta de vacunos, ovinos y alpacas es común. Sin embargo, la presencia del virus DVB y de animales persistentemente infectados (PI) está afectando a la población ganadera. Los animales infectados experimentan una reducción en su capacidad productiva de carne, leche, fibra y lana debido a las alteraciones en su sistema reproductivo, digestivo, respiratorio e inmunológico Marco *et al.* (2009).

Este análisis se realizó con el objetivo de identificar la frecuencia de anticuerpos y antígenos del virus DVB, así como la presencia de animales PI en la cría mixta de vacunos, ovinos y alpacas en la Comunidad de Huaracco, ubicada en Colquemarca, Chumbivilcas, Cusco. Se emplearon los métodos de ELISA competitivo y ELISA indirecto.

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación de problema objetivo de investigación.

La crianza de vacunos, ovinos y alpacas en las zonas altas de la sierra peruana ha experimentado mejoras en los últimos años. Sin embargo, en la Comunidad de Huaracco en Colquemarca, Chumbivilcas, la cría de vacunos ha disminuido debido a la falta de orientación técnica. En contraste, la cría de ovinos y alpacas es más importante para las familias campesinas, ya que son animales económicamente más rentables para la subsistencia familiar. A pesar de ello, la producción de carne, leche, fibra y lana ha disminuido debido a la falta de mejoras en los sistemas de producción, manejo, sanidad animal y transformación de los productos primarios.

Los Pestivirus son un grupo de patógenos que afectan negativamente la producción animal, causando grandes pérdidas económicas en las industrias ganaderas a nivel mundial. Principalmente, afectan la reproducción, provocando problemas como infertilidad, reabsorciones embrionarias, malformaciones genéticas y debilidad en los terneros, entre otros Olivera (2002)

Estos virus se propagan naturalmente entre los animales (vacunos, ovinos y alpacas), principalmente por contacto directo a través de la vía oro-nasal. Puede ocurrir de formas directas e indirectas; la primera es por medio de fluidos y desechos de ejemplares infectados, principalmente PI Huoe (1995).

En la Comunidad de Huaracco, es necesario identificar a los animales portadores del virus con infección activa y proceder a la eliminación de aquellos ejemplares que fueron infectados (PI). Asimismo, se deben implementar medidas de bioseguridad, como el transporte de ganado,

cuarentena y diagnósticos oportunos, para prevenir la propagación de esta afección en la Comunidad.

1.2. Planteamiento de problema.

1.1.1. Problema general

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos y antígenos del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), en crianza mixta (vacunos, ovinos y alpacas) de la Comunidad de Huaracco de Distrito de Colquemarca - Chumbivilcas – Cusco?

1.1.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en ovinos, vacunos y alpacas en la Comunidad de Huaracco?

- ¿Cuál es la seroprevalencia de antígenos del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en ovinos, vacunos y alpacas en la Comunidad de Huaracco?

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Objetivos

2.1.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos y antígenos del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) de la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquemarca - Chumbivilcas.

2.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral bovina (VDVB) en ovinos, vacunos y alpacas de la Comunidad de Huaracco.

- Determinar la seroprevalencia de antígenos del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en ovinos, vacunos y alpacas de la Comunidad de Huaracco.

2.2. Justificación

La Comunidad de Huaracco tiene una población considerable de alpacas, con un promedio aproximado de 900 cabezas, además de 870 cabezas de ovinos de las razas criollas y mejoradas, 350 cabezas de llamas y 150 cabezas de vacunos entre criollas y mejorados, según la encuesta realizada a los productores en la asamblea general de enero de 2018. Se destaca por tener una mayor cantidad de ovinos y alpacas, mientras que los bovinos han disminuido debido a la falta de manejo y asistencia técnica. Sin embargo, los productores optan por generar ingresos económicos mediante la crianza mixta (vacunos, ovinos y alpacas).

Cada productor realiza un gran esfuerzo mediante la compra de reproductores de alta calidad genética en ovinos, vacunos y alpacas, mejorando y seleccionando a los animales año tras año. Esta actividad es fundamental para mantener los índices productivos de carne, leche y fibra. Por ello, es importante considerar las complicaciones que afectan a los animales, ya que repercuten de manera adversa en los recursos económicos de la casa de los productores.

No existen investigaciones sobre la Diarrea Viral en Bovinos (DVB) en crianza mixta de ovinos, bovinos y llamas en la Comunidad de Huaracco, Colquemarca, Chumbivilcas - Cusco. Sin embargo, se llevó a cabo un estudio en vacunos, realizado por Villafuerte en 2017. Este estudio utilizó ELISA competitivo para detectar el VDVB. Se encontró que un 17.74 ± 0.08 % (66/92) de las muestras tenían anticuerpos para el virus de la DVB. Además, en el grupo seronegativo (n = 26), se detectaron 4 ejemplares PI mediante ELISA indirecto. El 15.38 ± 0.05 % (4/26) de los animales PI diseminaban la patología.

Durante el invierno, la Comunidad de Huaracco sufre escasez de pasto, por lo que trasladan los animales a cabañas distantes. En cuanto al ganado vacuno, se traslada a la Comunidad de Vista Alegre, ya que están adyacentes territorialmente a Huaracco. Los productores informan problemas reproductivos como infertilidad, aborto, malformaciones congénitas y terneros débiles.

El propósito el objetivo de este estudio es determinar el nivel de seroprevalencia de anticuerpos para el VDVB y animales PI en los bovinos. Esto contribuirá a mejorar la explotación ganadera, promoviendo campañas sanitarias que resulten en reproducciones eficientes y niveles productivos óptimos para los productores.

III. HIPOTESIS

3.1. Hipótesis General.

En la crianza mixta de la comunidad de Huaracco del distrito de Colquemarca de la provincia de Chumbivilcas se encuentran con la presencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y animales persistentes infectados (PI).

3.2. Hipótesis Específico.

- La seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral bovina (VDVB) en ovinos, vacunos y alpacas de la Comunidad de Huaracco no se encuentra en la zona intervenida.
- La seroprevalencia de antígenos del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en ovinos, vacunos y alpacas de la Comunidad de Huaracco los resultados fueron positivos a diarrea viral bovina en crianza mixta de ovinos vacunos y alpacas.

IV. MARCO TEORICO

4.1. Antecedentes de la Investigación

Alvarez *et al.* (2002) ejecutó en los pestivirus de la DVB en animales rumiantes de la Comunidad de Silly, Canchis, Cusco, se detectó en anticuerpos en las llamas (n=200), reses (n=38) y ovejas (n=45) hembras maduras, por medio de pruebas de virus-neutralización. El $11.5 \pm 4.4\%$ (23/200) de alpacas tuvieron anticuerpos que neutralizan el virus DVB, El $73.7 \pm 13.9\%$ (28/38) de los bovinos y el $13.3 \pm 9.9\%$ (6/45) de los ovinos tuvieron anticuerpos para el presente virus. Las aproximaciones que se hallaron demuestran la existencia de anticuerpos en sistemas mixtos de crianza dentro de la Comunidad referida.

Cabellos (2006) se ocupó de la frecuencia de anticuerpos del VDVB en rumiantes de la Comunidad de Chahuaytiri, Calca, Cusco, detectados mediante sueros sanguíneos de alpacas (n=21), bovinos (n=66) y ovinos (n=152) a través de evaluaciones de inhibición viral (NV). El $15.8 \pm 16.4\%$ (3/21) de las alpacas demostraron anticuerpos que neutralizan el DVB, El $90.9 \pm 6.9\%$ (60/66) de los bovinos y el $28.29 \pm 7.1\%$ (43/152) de los ovinos tuvieron anticuerpos para la DVB.

Soto (2010) trabajó con 90 muestras sanguíneas de vacunos, ovinos y alpacas de un rebaño mixto en el Instituto de Investigación y Desarrollo Carolina de la Universidad Nacional del Altiplano, se realizó mediante la prueba ELISA. Las aproximaciones resultantes demostraron que ninguna muestra resultó positiva.

Flores *et al.* (2010) efectuó la correspondencia entre el VDVB y complicaciones reproductivas en borregas adultas de la sierra central peruana, donde de 440 borregas, 220 abortaron, no lograron la concepción la primera y la segunda campaña, 20 fueron de caso control

considerando a las borregas sin problemas. Se mostraron a través de pruebas de Neutralización viral. El 69.5 (306/440) de las ovejas hembras tuvieron inmunoglobulinas contra el VDVB, con un 73.6% (162/220) a ovejas del grupo Caso y 65.5% (144/220) al grupo Control. No se encontró correspondencia entre ambas variables. Las aproximaciones muestran que el DVB se difunde en dicha población, no se logró determinar las complicaciones reproductivas.

Llancares *et al.* (2012) logró determinar la frecuencia los VDVB de ovinos de una empresa peruana. Las muestras fueron colectadas en 165 hembras y 65 machos sanos, con una media de 4 años. Se detectaron por medio de pruebas de neutralización viral. El $2.1 \pm 1.5\%$ (7/330) $69.5 \pm 4.4\%$ de los ovinos reproductores cuentan con anticuerpos para el VDVB.

Huamán (2006) realizó una investigación en rebaños lecheros en Majes, Arequipa, a fin de establecer la prevalencia del VDVB y animales PI del VDVB, con 286 resultados de suero de sangre se determinó a través de ELISA indirecta y ELISA de detección, respectivamente. El 47.2% (135/286) tuvieron anticuerpos contra el VDVB; además el 3.30 % (6/ 286) se detectaron PI a VDVB.

Quispe *et al.* (2008) detectó la seroprevalencia del VDVB en bovinos en una provincia puneña, con una muestra de 347 y utilizó animales que exceden el semestre de edad para detectar los anticuerpos a través de pruebas de NV. El $48.7 \pm 0.1\%$ (166/347) tuvieron anticuerpos para el VDVB, no hubo ejemplares infectados.

También Cardenas *et al.* (2011) realizó la determinación de la prevalencia del VDVB en bovinos con más de un semestre de vida, en tres Comunidades de Espinar, Cusco. Se realizó de 406 muestras para detectar anticuerpos de VDVB en suero sanguíneo, a través de pruebas de

neutralización. En el que $56.2 \pm 4.8\%$ (228/406) de los ejemplares demostraron inmunoglobulinas frente al virus, no hubo animales que porten el virus.

Herrera *et al.* (2011) determinó la seroprevalencia VDVB de 385 muestras realizadas por medio de pruebas de neutralización en sueros sanguíneos de bovinos puestos en pastoreo extensivo en una provincia de Cajamarca. Encontró que $27.1 \pm 4.4\%$ (104/385) de los ejemplares tuvieron anticuerpos para el VDVB.

Bautista (2011) determinó la prevalencia de anticuerpos del VDVB en reses, sin vacunas en dos distritos de Huamanga, y en dos distritos de Ayacucho. Se tuvo 385 animales. Se detectaron anticuerpos para el VDVB, realizadas a través de ELISA inverso. Se halló $75.3 \pm 4.3\%$ (290/385) de ejemplares con inmunoglobulina.

Sánchez (2012) realizó un estudio en Locumba de Tacna a fin de establecer la seroprevalencia de animales infectados persistentemente con VDVB. Se colectaron 164 muestras sanguíneas de bovinos en ambos sexos, edades de 4 a 30 meses a fin de detectar antígenos, por medio de ELISA de captura, se obtuvo un 0,61% (1/164) de estos animales tuvo resultados positivos.

Anco (2016) determinó la incidencia de la DVB en vacas pertenecientes a Sihuincha y Añahuichi, Chamaca, Chumbivilcas; las muestras de sangre colectadas fueron de 186 ejemplares (90 de Sihuincha y 96 de Añahuichi). Se diagnosticó a través de ELISA Indirecto. Obteniendo el resultado total 61.29% y de 64.44% (58/90) para la Comunidad de Sihuincha, y 60.42% (58/96) para la Comunidad de Añahuichi contra el virus de la DVB.

Villafuerte (2017) colectaron de 92 muestras de hembras mayores al semestre de edad, vaquillonas y vacas en producción de Vista Alegre en Santo Tomás, Chumbivilcas, Cusco. El diagnóstico se recolectó 92 muestras por medio de ELISA competitivo, contra la patología de DVB. Donde se obtuvieron el 71.74 ± 0.08 % (66/92) de ejemplares con inmunoglobulinas para el VDVB; asimismo, para el grupo seronegativo constituido por 26 ejemplares a través de ELISA indirecta, se detectaron 4 ejemplares PI. El 15.38 ± 0.05 % (4/26) tuvieron un resultado negativo de anticuerpos para este virus.

El estudio realizado por Guzman (2018) a fin de establecer la frecuencia del virus de DVB, de los animales Infectados Persistentemente (PI) en vacunos de dos Comunidades de Ocongate, Cusco. Para lo cual fueron colectadas de 402 muestras sanguíneas en ovinos mayores a seis meses, mediante el método de ELISA Competitivo y ELISA Indirecta. Cuyos resultados corresponden a una incidencia de 54.48 ± 0.13 % (219/402) para Diarrea Viral en Bovinos (DVB) y una frecuencia de 1.24 ± 0.02 % (5/402) de animales portadores a la DVB. Las aproximaciones obtenidas en la investigación demuestran una distribución viral amplia por la existencia de ejemplares persistentemente infectados.

Huacasi (2018) determinó la prevalencia de globulina del VDVB en bovinos *Brown Swiss* en una Comunidad de Yauri en Espinar – Cusco, se utilizó 119 animales de muestreo para realizar a través de ELISA, el resultado mostró que el 58.8% de las vacas en período seco y el 71.2% de las vacas en lactancia estaban afectadas ($P \geq 0.05$). En cuanto al sexo, el 50.0% de los machos y el 60.2% de las hembras estaban afectados ($P \geq 0.05$). Por tipo de animal, los porcentajes fueron 27.8%, 66.7%, 57.1%, 68.1%, 57.1%, 33.3%, y 66.7% para becerras, novillas, novillos, vacas, becerros, toritos y toros respectivamente ($P \geq 0.05$).

Lenes (2018) detectó los anticuerpos y antígenos de la DVB en vacunos de Zurite, Anta, Cusco. Las muestras sanguíneas colectadas fueron 197 en vacunos que exceden el semestre de vida a través de ELISA competitiva a fin de detectar anticuerpos y ELISA indirecta para la detección viral. Se detectaron ejemplares que tienen anticuerpos para el virus, teniendo una prevalencia de $45.18 \pm 0.07 \%$ (89/197); y de los vacunos seronegativos a DVB que es de 108, se detectó tres vacunos que tienen el VDVB, siendo portadores de la enfermedad, aparentemente sanos, que corresponden a una prevalencia de $1.52 \pm 0.02\%$ (3/197) de vacunos PI.

Risco *et al.* (1998) investigó el diagnóstico de los anticuerpos del VDVB en alpacas de Canchis – Cusco. Se trabajó con 209 muestras de suero en alpacas hembras. Se detectó la presencia viral por medio de pruebas de virus neutralización, empleando antígenos para cepas Singer (genotipo 1) y 125 (genotipo II), en la prueba, como resultado. Las aproximaciones resultantes demuestran que no hay alpacas con carga viral ni con anticuerpos para el virus DVB.

El trabajo realizado por Huayhua (2018) a fin de efectuar la detección de anticuerpos del VDVB en Chumbivilcas, Cusco. Fueron 93 muestras analizadas de alpacas hembras tuis menores, tuis mayores y alpacas adultas, a través de ELISA competitivo. Los resultados muestran que no hay presencia viral en las alpacas examinadas.

Tabla 1. Antecedentes resumidos para detección de anticuerpos del VDVB.

Autor, Año y Lugar	N° Total de Animales	Muestra	Prueba	Incidencia	Prevalencia	Seroprevalencia
(Alvarez <i>et al.</i> , 2002) Silly – Canchis – Cusco	200 alpacas 38 vacunos 45 ovinos	Suero sanguíneo	Neutralización viral			11.5 ± 4.4% 73.7 ± 13.9% 13.3 ± 9.9%
(Cabellos, 2006) Chahuayriti – Calca – Cusco	21 alpacas 66 vacunos 152 ovinos	Suero sanguíneo	Neutralización viral			15.8 ± 16.4% 90.9 ± 6.9% 28.29 ± 7.1%
(Soto, 2010) CIP-Carolina – Puno	90 alpacas, vacunos ovinos	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta			0.00%
(Flores <i>et al.</i> , 2011) sierra central- Perú	440 ovinos	Suero sanguíneo	Neutralización Viral		69.5 ± 4.4 %	
(Llancares, 2012) sierra central- Perú	165 ovinos	Suero sanguíneo	Neutralización viral			2.1 ± 1.5%
(Huamán, 2007) Majes-Arequipa	286 vacunos	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta		47.2 %	
(Quispe <i>et al.</i> , 2008) Melgar- Puno	347 vacunos	Suero sanguíneo	Neutralización viral			48.7 ± 0.1%
(Cárdenas <i>et al.</i> , 2011) Espinar- Cusco	406 vacunos	Suero sanguíneo	Neutralización viral		56.2 ± 4.8%	
(Herrera <i>et al.</i> , 2011) San Pablo- Cajamarca	385 vacunos	Suero sanguíneo	Neutralización viral			27.1 ± 4.4%
(Bautista, 2011) Cangallo-Ayacucho	385 vacunos	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta			75.3 ± 4.3%
(Anco, 2016) Chamaca, Chumbivilcas- Cusco	186 vacunos	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta	61.29%		
(Villafuerte, 2017) Vista Alegre, Chumbivilcas- Cusco	92 vacunos	Suero sanguíneo	EELISA Competitivo		71.74 ± 0.08%	
(Guzmán, 2018) Ocongate - Cusco	402 vacunos	Suero sanguíneo	EELISA Competitivo		54.48 ± 0.13%	
(Huacasi, 2018) Espinar – Cusco	119 vacunos	Suero sanguíneo	ELISA			58.8%
(Lennes, 2018) Zurite – Cusco	197 vacunos	Suero sanguíneo	EELISA Competitivo			45.18 ± 0.07%
(Risco <i>et al.</i> , 1998) C.I. IVITA-Maranganí la Raya-Canchis Cusco	209 alpacas	Suero sanguíneo	Neutralización viral			0.00%
(Huayhua, 2018) Iñapata – Santo Tomas – Chumbivilcas – Cusco.	93 alpacas	Suero sanguíneo				0.00%

Tabla 2. Resumen de antecedentes para Persistentemente Infectados (PI) a DVB

Autor, Año y Lugar	N° Total de Animales	Muestra	Prueba	Incidencia	Prevalencia	Seroprevalencia
(Huamán, 2007) Majes – Arequipa	286	Suero sanguíneo	ELISA Captura		3.30%	
(Quispe <i>et al.</i> , 2008) Melgar - Puno	347	Suero sanguíneo	Neutralización viral			0.00%
(Cárdenas <i>et al.</i> , 2011) Espinar – Cusco	406	Suero sanguíneo	Neutralización viral		0.00%	
(Sánchez, 2012) Jorge Basadre- Tacna	164	Suero sanguíneo	ELISA Captura			0.61%
(Villafuerte, 2017) Vista Alegre, Chumbivilcas-Cusco	92	Suero sanguíneo	ELISA Captura		15.38±0.05%	
(Guzmán, 2018) Ocongate- Cusco	402	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta	1.24±0.02 %		
(Lennes, 2018) Zurite- Cusco	197	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta		1.52 ± 0.02%	

4.2. Bases Teóricas

4.2.1. Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB)

Este virus tuvo una descripción inicial que la caracterizaba como una patología aguda con presencia de gastroenteritis, lesiones en el medio digestivo con una mortalidad de 4-8%, en la etiología se la conoce como Pestivirus del VDVB Obando y Rodriguez, (2005).

Se trata de una patología cuya presencia es de magnitud mundial, sus efectos pueden ocasionar múltiples problemas en la salud de los animales, donde se consideran a las dificultades reproductivas de gran impacto para el ámbito de la economía de los productores y la industria dedicada a esta labor Lertora (2003).

El VDVB tiene consecuencias económicas negativas debido a:

- Complicaciones reproductivas, tales como la infertilidad, reabsorciones embrionarias, abortos, malformaciones congénitas, debilidad de los terneros y aquellos que ya nacen infectados.

- Alteraciones en las respuestas animales, esto lo predispone a cuadros infecciosos secundarios por bacterias, virus o parásitos de los sistemas respiratorios y digestivos.

- Constituye un elemento fundamental del sistema respiratorio, complicaciones en los centros de engorde y los corrales Olivera (2002).

Es un agente que puede ocasionar dificultades en la reproducción, en las que puede existir repetición del celo, muerte de los fetos y abortos; es también la causante del nacimiento de terneros con debilidad razón por la cual estos fallecen poco después Beker (1995).

4.2.2. Agente etiológico

Este agente viral es familia del género de los pestivirus perteneciente a la casta *flaviviridae* Obando y Rodriguez, (2005).

4.2.3. Taxonomía y estructura

Este virus es perteneciente a los pestivirus de familia *flaviviridae*, los cuales tienen las cualidades morfológicas dispuestas en envolturas esféricas con un tamaño de 40 a 60 nm de diámetro, se encuentran compactadas en una cápsula proteica, sus células tienen una capa de grasa llamada membrana que tiene tres proteínas pegadas a ella Lertora (2003).

Las partículas virales se forman de moléculas de ARN con la protección de proteínas y se encuentran envueltas en una capa externa compuesta de lípidos. Los compuestos proteicos de la taxonomía de estos virus forman el elemento proteico cápside y tres glicoproteínas que se encuentran en las envolturas lipídicas. Están compuestos por ARN con polaridades positivas, compactadas por cápsides de proteínas que se encuentra rodeada por una membrana fosfolipídica,

su núcleo se encuentra contenido a manera de una cápsula no helicoidal con forma icosaédrica (Ridpath, J F (2003)).

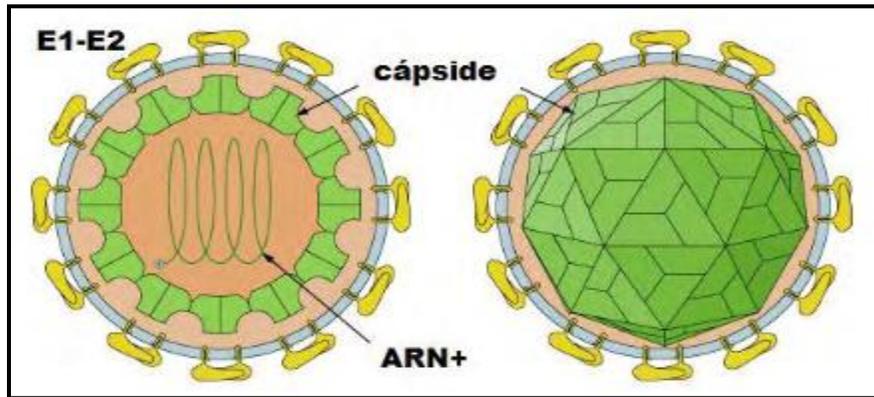
El pestivirus se clasifica dentro de los *Togaviridae* de la casta de los *flaviviridae* dispuesto de acuerdo del Comité Internacional de Taxonomía Viral. El virus en cuestión pertenece al género descrito y enfermedades de los límites, impactando a ovinos, llamas y la peste porcina clásica (PPC) estos se relacionan en base a los antígenos y la genética Lertora (2003).

El pestivirus tiene la capacidad para penetrar las barreras placentarias de varios hospederos, invaden los fetos y los infectan condicionando su salud posterior al nacimiento y en su vida uterina, en ocasiones esta no presenta un cuadro clínico notorio y puede llegar a infectar a más ejemplares Alvarez *et al.*, (2002).

Los ácidos nucleicos son infecciosos cuando no se da la presencia del componente proteico de virión, debido a que el RNA del virus es al mismo tiempo RNA mensajero; Parra *et al.*, (1994); En 1988 Collet demostró que el RNA cuenta con solamente un OFR que se entiende como un solo marco de lectura abierta, la red secuencial de nucleótidos cuenta con una codificación que corresponde a 3988 aminoácidos, que significa 449 Kilodálton (kda) de proteína viral. Los genomas cuentan con un componente proteico estructural y no estructural; los elementos proteicos estructurales son p20, p14 (C) gp 25 (E1) Collet *et al* (1988).

Las partículas virales son morfológicamente esféricas con diámetros de 40-60 nm, formadas por un núcleo encapsulado icosaédrico de 25 – 37 nm de diámetro, cuentan con una protección de proteínas rodeadas por membranas fosfolipídicas de 3 glicoproteínas que se anclan a ella E1 y E2. Ridpath *et al* (2005).

Imagen 1. Morfología estructural propuesta para los pestivirus.



Fuente. Zika Virus (2017).

4.2.3.1. Variabilidad

Una particularidad fundamental a este virus son las diversidades genéticas y antigénicas, a razón de las transformaciones de sus genomas en las que intervienen diversas mutaciones y recombinaciones del ARN, mismos que pueden ser homólogos y no homólogos Ridpath, J F (2003).

Estas mutaciones son en su mayoría regulares, produciendo sustitución de las bases con frecuencias altas, como efecto de fallas en la ARN polimerasa, que se encarga de las replications del ARN de los virus; esta característica le posibilita al virus una adaptación rápida al medio o las respuestas de sus hospederos, de esta forma tiene efectos infecciosos, las mutaciones continuas hacen que el virus pueda ser resistente ante el mecanismo del hospedero y hacerle frente a las respuestas inmunitarias Becher *et al* (2000).

Mutaciones novedosas dan como resultados variantes nuevas se pueden originarse en el tránsito infeccioso de los ejemplares que se encuentran en un cuadro infeccioso agudo, en este

punto se consideran a aquellos animales PI fundamentales para la aparición de variantes nuevas Bolin y Ridpath (1992).

4.2.3.2. Clasificación

Su clasificación es dificultosa y complicada, ya que se tiene una diversidad genómica y antigénica y su correspondencia está relacionada con demás elementos del género pestivirus, los hospederos aislados constituyeron la fuente inicial para la generación de sus subdivisiones. De esta forma, el pestivirus aislado de los cerdos, ovinos y bovinos, se categorizan como el virus de la peste porcina clásica, el virus de la afección de los límites y VDVB, en ese orden. Esta forma taxonómica no cuenta con una fiabilidad alta a razón de que el pestivirus se cruza de forma fácil con las barreras de la especie Bolin y Grooms (2004)

4.2.3.3. Biotipos

Este virus cuenta con una clasificación integrada por 2 biotipos: citopático (CP) y no citopático (NCP) el último mencionado es el que tiene una incidencia mayor. Los primeros se aíslan solamente en ejemplares con patologías de las mucosas, son de efecto patológico en las células del epitelio bovino, esto puede causar la generación de vacuolas en el citoplasma, la muerte de las células. Sin embargo, los biotipos NCP se replican en los espacios celulares sin demostrar transformaciones de forma notables, esto no significa que no tengan un potencial patológico Pedrera *et al* (2008).

Únicamente el biotipo NCP tiene la capacidad de penetrar la placenta y desarrollar un cuadro infeccioso en el feto, este hecho puede dar lugar a nacimientos PI; por otro lado, los biotipos CP no cuentan con la capacidad antes descrita, en los casos en los que se infecta a los fetos que

padecen infecciones previas dentro del medio uterino, puede desarrollarse la forma DVB que se conoce también a manera de afección de las mucosas Pedrera *et al* (2007).

4.2.3.4. No citopático

Los biotipos NCP son las formas originales de este virus y no muestran transformaciones visibles en los cultivos celulares. Por lo tanto, las células infectadas parecen normales en apariencia, pero esto no significa que este biotipo carezca de potencial patológico. Además, este biotipo es común en el medio natural y, al no presentar un cuadro clínico evidente, aumenta su capacidad para originar infecciones persistentes Lertora (2003).

Los biotipos NCP se desarrollan a manera de una matriz para la producción de CP posteriores a la recombinación homóloga o heteróloga dentro del medio ARN no citopático Bolin y Grooms (2004). Es un elemento viral que se considera fundamental en los primeros tres meses de gestación, en este punto no hay una madurez suficiente del sistema inmunitario del feto, este aspecto puede generar nacimientos de ejemplares tolerantes a este agente viral y con infecciones tolerantes, estos últimos efectúan una emisión en gran cantidad de VDVB a lo largo de su ciclo vital, de esta forma sirven a manera de una fuente efectiva para transmitir el virus a otros ejemplares y hasta otras especies Gripshover *et al* (2007).

4.2.3.4.1. Citopático

Los biotipos CP producen vacuolizaciones y defunción de las células dentro del cultivo celular, se desarrollan solamente en animales que padecen de patologías mucosas, su origen se encuentra en la mutación en función a los biotipos NCP, puede ser por depleción de fragmentos de los genomas virales, inserciones fragmentarias de ARN celular o replicación y reordenamiento

de la inserción ARN viral; los biotipos CP predominan las infecciones en los medios celulares epiteliales Rondon (2006).

En los medios moleculares, los biotipos CP se contrastan con el NCP, ya que esta cuenta con compuestos proteicos no estructurales NS2-3/p125, la proteína NS3/p80, esto les brinda el fenotipo citopático a los compuestos virales. Leon *et al* (1995)

4.2.3.5. Genotipos

Por medio de evaluaciones de secuenciamiento genético del VDVB tiene una división caracterizada por dos genotipos, de tipo I y II Pellerin *et al* (1994). Los contrastes de los genomas mencionados se pueden encontrar en toros PI Baker (1995). La clasificación de los pestivirus se da por medio de los métodos de genotipificación, en función a ello este virus cuenta con una clasificación de dos tipos, lo genotipos 1 y 2 del VDVB Ridpath, J F (2003).

4.2.3.5.1. Genotipo I

Los genotipos de tipo 1, en la actualidad cuentan con 13 subgenotipos, de los cuales los más comunes son los VDVB-1b, donde el que prevalece más es EE. UU. el subtipo VDVB-1b, el VDVB -1 cuenta con un reconocimiento mundial amplio y una distribución masificada Fulton *et al* (2003). Además, fueron identificadas cepas empleadas para pruebas de diagnósticos, investigaciones y elaboraciones de vacunas, incluyendo las cepas *NY-1*, *Oslos* y *C-60F* Tajima y Dubovi (2005).

Se propusieron múltiples contrastes biológicos en el determinante antigénico existente entre los subgenotipos de VDVB-1, lo que incluye acepciones comparativas para neutralizar los elementos virales y las respuestas selectivas en ejemplares PI en los subgenotipos con rareza

evidente y elementos virales persistentes, más no para aquellos agentes virales enmarcados en similar genotipo Fulton *et al* (2003).

4.2.3.5.2. Genotipo II

Estos genotipos se dividen en dos sub genotipos Ridpath (2003). Los mismos que fueron aislados en cepas cuya procedencia es de animales PI además, se presentó con un cuadro hemorrágico mortal en países como EE.UU. y Canadá, misma que se le conoce como síndrome hemorrágico. Estos genotipos fueron identificados en el año 1990 en Norteamérica y posteriormente fue detectada de forma esporádica en países como (Japón, Alemania y Bélgica). Y en (América Latina, en Brasil, Argentina y Chile) Flores *et al* (2000). Las cepas dan referencia del VDVB -2a son la 890, CD87 y NVSL125 Tajima y Dubovi (2005). Las cepas dan referencia del VDVB -2a son más predominantes que los VDVB-2b, este último se considera un fenómeno caracterizado por la rareza Ridpath, J F (2003).

4.2.3.6. Replicación viral

Este virus al contactar con la membrana mucosa de la boca, nariz, comienza la replicación celular del medio epitelial con predicción de las tonsilas palatinas, en especial de los compuestos celulares del epitelio de la cripta. Este compuesto viral cuenta con tropismos de elementos celulares activos por mitosis, en ello intervienen los linfocitos, fagocitos, células mononucleares y células epiteliales Rondon (2006).

Las replications del ARN pestivirales se da en aquellas células que se infectaron Becher *et al* (2000). Los genomas del pestivirus son cadenas simples de ARN con polaridades positivas, esto tiene su utilidad para traducir y replicar las células Li *et al* (2001). El proceso replicativo empieza con las adhesiones en las membranas plasmáticas y penetraciones celulares,

aparentemente los receptores específicos son las proteínas de envoltura E2 Iqbal *et al* (2000); aunque de acuerdo a Maurer *et al.*, (2004) refieren que la CD46 (cofactor proteico de membrana) posiblemente sea el autor viral. En este sentido, el siguiente paso sugiere una fusión de las envolturas con membranas endosomales que dependen del pH; donde el elemento viral entra al medio citoplasmático a través de endocitosis liberando sus genomas en el citosol Johnson *et al* (2001).

Después, los ARN se traducen mediante el reclutamiento de medios que inician la traducción en mediación por los sitios de entrada interna a los ribosomas (IRES), este se encuentra en las regiones 5'UTR, lo que predispone traducciones de las poliproteínas virales. En ese sentido, los elementos proteicos no estructurales que ya se sintetizaron, desarrollan complejos de replicasa, esto constituye el primer momento de la replicación de los genomas, además se sintetizan los ARN en cadenas negativas, es decir antigenomas. Después, la replicasa debe concluir las síntesis de la genética del ARN para cadenas positivas empleando el ARN como plantillas Johnson *et al* (2001).

Posterior a lo descrito, se dan producciones de glicoproteínas de las envolturas lo que requieren participaciones de los retículos endoplasmáticos, lo que implica la participación de los retículos endoplasmáticos, esto significa mecanismos celulares para señalizar. Una vez se den las traducciones de ORF en poliproteínas virales, la proteasa viral y celular cortan los polipéptidos que nacen en zonas puntuales para la generación proteica viral intermedia y/o madura Leyssen *et al* (2000).

Finalmente, una vez se dispongan las células replicadas, los genomas virales son encapsulados en base al compuesto proteico C/p14 así se dirige al retículo endoplasmático o al complejo de Golgi, en este punto los virus inmaduros se rodean de envolturas lipídicas de alto

contenido proteico se dirigen al lumen Leyssen *et al* (2000). Los virus maduros cuentan con estabilización mediante glicoproteínas plegadas E1-E2 (glicosilación), el virión infectado se libera mediante las germinaciones en la cisterna contenida por el retículo endoplasmático Goyal *et al* (2005). Por último, los compuestos virales maduros se liberan en espacios extracelulares a través de procesos de exocitosis Leyssen *et al* (2000).

4.2.3.7. Hospedador

El pestivirus infecta por naturaleza a los ungulados de orden artiodactila, el pestivirus de tipo rumiante infecta a la mayoría de rumiantes del medio silvestre. Son características que deben ser consideradas en las implementaciones de los programas de manejo, debido a que el pestivirus mantienen las barreras de las especies Nettleton *et al* (1995).

4.2.4. Epidemiología

Los cuadros infecciosos por pestivirus en ovinos cuentan con una distribución a nivel mundial, los índices de prevalencia tienen una variación del 5 al 50% en los distintos países y las zonas regionales de estos Berriatua *et al* (2003). En el continente europeo, puntualmente en los países bajos, la prevalencia aproximada es de 45% Orsel *et al* (2009).

Investigaciones desarrolladas en zonas europeas, muestran que los cuadros infecciosos en los ovinos se producen en primacía por el VDVB, aunque es común el aislamiento de varios subtipos de la VDVB- 1 en un solo rebaño, aunque hay casos que reportan dos de estos subtipos dentro de un solo rebaño Orsel *et al* (2009). Múltiples investigaciones en el ámbito mundial

demuestran una prevalencia PI que oscilan entre los 0,3 a 20% en rebaños infectados Valdazo *et al* (2008).

En el aspecto económico, en Irlanda reportan pérdidas de hasta 20% en la ganancia de mecanismos productivos a razón de este virus Sharp y Rawson (1986). A pesar de que las aproximaciones resultantes son difíciles de equiparar a la explotación ovina chilena, constituyen un aspecto importante para analizar, la misma que debe considerarse como punto inicial para futuras investigaciones OIE (2008).

Las especies bovinas constituyen fuente fundamental para el desarrollo infeccioso del VDVB, también se presenta en ovinos, caprinos y cerdos; se estableció que los rebaños pueden transmitir este virus cuando están en contacto con otros animales, donde es importante considerar a los camélidos, auquénidos Pedrera *et al* (2007).

4.2.4.1. Fuentes de infección

Una de las principales fuentes infecciosas y de reserva viral en los medios naturales son los bovinos PI, los cuales tienen una eliminación continua de cantidades considerables de este elemento viral, por medio de secreciones, aquellos ejemplares que desarrollan infecciones agudas son también agentes infecciosos para los demás animales que se encuentran en contacto, aunque no constituyen una amenaza potencial debido a las bajas cantidades virales que presentan cuya duración también es menor Huoe (1995).

Estos animales pueden potenciar la diseminación viral, de tal forma que en 3 a 4 meses pueden llegar a infectar al 90% de los demás ejemplares Huoe (1995). El animal que es PI excreta el virus a lo largo de todo su ciclo vital mediante los distintos productos excretados Huoe (1995).

4.2.4.2. Formas de transmisión

Independientemente de las especies de pestivirus y los distintos genotipos, las transmisiones pueden ser verticales u horizontales, a través de contacto directo o indirecto.

4.2.4.2.1. Transmisión vertical

Este tipo de transmisión tiene un rol fundamental en el cuadro epidemiológico de la patología y se da en las hembras que están más predispuestas debido a las etapas de preñez Nettleton *et al* (1998). Las infecciones transplacentarias se dan en aquellas hembras que se encuentran gestando, en el caso de que los fetos sean infectados por NCP anterior a su desarrollo inmunológico, que significa anterior al día 125 en promedio, será un animal PI Moennig *et al* (1995). A pesar del elevado índice de mortalidad de aquellos ejemplares PI dentro de los primeros 12 meses, de vida, de más de la mitad, varios de estos llegan a alcanzar la madurez sexual y pueden reproducirse, en este sentido se resalta que las hembras que son PI dan indefectiblemente a crías PI; este tipo de transmisión se da también en los procesos de transferencia de los embriones cuyos recipientes son PI, o donde las vacas donantes son PI, no hay un correcto lavado de los embriones Huoe (1995).

4.2.4.2.2. Transmisión horizontal

En esta forma de transmisión, las partículas virales penetran de forma directa por los ojos, nariz, boca, genitales, mediante tarto directo con animales contaminados y son PI, también en ejemplares que, con cuadros infecciosos transitorios, se puede dar entre animales que de especie semejante o diferente Berriatua *et al* (2003).

La aproximación directa con animales que son PI, en especial los contactos nariz a nariz es un hecho que genera transmisiones eficientes del virus en medios naturales, también se considera al contacto directo como medio de contagio, esto para aquellos animales que se encuentran atravesando el cuadro infeccioso Huoe (1995).

Por medio de experimentos se han logrado demostrar múltiples formas de transmisión indirecta como la utilización de agujas, mochetas, palpaciones y acciones de insectos hematófagos que estuvieron en contacto con los animales PI. La inactivación viral puede llegar a ser mediante la exposición al calor, la deshidratación, radiación ultravioleta, jabones, disolventes orgánicos y pH excedentes a 5,7 y 9,3 Tremblay (1996). Una forma resaltante de transmisión es la inoculación con vacunas contaminadas Huoe (1995).

4.2.4.2.3. Transmisión entre rebaños

Un hecho principal para la introducción viral a un rebaño susceptible por medio de bovinos PI o hembras portadoras de crías PI. Otros medios para introducir el virus son: el empleo de inoculaciones vivas, semen infectado, la convivencia de ovinos, transferencias embrionarias y contactos con bovinos con infección aguda Huoe (1995).

4.2.4.2.4. Transmisión dentro del rebaño

Los índices de transferencia en el interior de los rebaños, son dependientes de las formas de introducción viral, en el caso de que animales que son PI se introducen a rebaños, los animales que se encuentran más susceptibles se infectan con mayor rapidez. En contraste, en el caso de que las infecciones se inicien por ovinos infectados por otra vía se desarrollan cuadros infecciosos similares Huoe (1995).

4.2.5. Patogénesis de la DVB y de la EM

A comienzos de los años 60, los alcances demostraban que esta infección se trataba de una patología con índices de mortalidad elevados en animales de todas las edades, en contraste, la EM solamente infectaba a los ejemplares jóvenes, de baja morbilidad y de mortalidad total. En futuras investigaciones, se pudo observar que las vacas abortaron, tuvieron crías con malformaciones genéticas, terneros PI, estos últimos en su mayoría morían dentro de los primeros 30 días de nacimiento, varios ejemplares desarrollaron cuadros crónicos de la infección por EM, además estos no contaban con anticuerpos para hacerle frente a la DVB Thomson *et al* (1963; 1986).

Las vacas que tenían y no tenían el virus fueron infectadas durante la preñez. Los terneros nacidos parecían normales, pero llevaban el virus sin mostrar síntomas y no tenían anticuerpos contra él. Aunque sí desarrollaban anticuerpos contra otros virus. Si la infección ocurría antes de cierto tiempo, el feto se acostumbraba al virus. Ambos tipos del virus podían pasar al feto y causar aborto, pero solo uno inducía tolerancia inmunológica Brownlie *et al* (1989). También se pudo observar que los inmunoglobulina maternos no siempre protegían al ternero, ya que incluso las vacas con anticuerpos parían terneros que llevaban el virus sin síntomas. Aunque la enfermedad fue descubierta en 1953 Ramsey *et al* (1953) Los científicos pudieron hacer la enfermedad en el laboratorio en 1984 al poner un virus especial en una vaca que ya tenía el virus sin síntomas Brownlie *et al* (1984) Bolin *et al* (1992) Con muestras tomadas al mismo tiempo de dos tipos de virus de tejidos de vacas que murieron por la enfermedad de las mucosas, se confirmó que dicha patología es causada por un virus que es parecido al que ya tenía la vaca y que no muestra síntomas McClurkin *et al* (1984).

4.2.5.1. Animales persistentemente infectados del VDVB

Los Pestivirus se consideran elementos virales de considerable éxito, ya que pueden propagarse, causar enfermedades y permanecer en una población sin que se den cuenta (Sandvik, 1999).

Cuando un ternero se infecta con el VDVB antes de nacer, puede nacer con el virus, pero sin mostrar síntomas. Los animales así nacidos tienen una infección persistente y no la reconocen como una amenaza si se infectan antes del día 125 de preñez Rondon (2006).

4.2.5.2. Patogenia y manifestaciones clínicas

El virus DVB puede ocasionar diversos problemas en los animales debido a factores como el tipo y la variante del virus, la edad del animal, su sistema inmunológico, la respuesta inmune, el estrés y la presencia de otros virus Lertora (2003). El cuadro sintomático afecta los aparatos respiratorios, gastrointestinales, reproductivos, inmunológicos y nerviosos, siendo este último el de mayor gravedad. Esto puede ir desde una infección asintomática hasta una muy peligrosa, con más del 50% de probabilidad de mortalidad en animales adultos Ridpath (2003).

En ocasiones, se han registrado casos del virus DVB que provocan fiebre alta, baja cantidad de glóbulos blancos, falta de apetito, inflamación en los ojos, secreción nasal, dificultad para respirar y diarrea. Estos síntomas pueden desembocar en la muerte del 50% de los corderos afectados Nettleton *et al* (1998).

El cuadro sintomático más frecuente en las infecciones por virus mortal en ovejas se observa en los fetos y en las crías recién nacidas. Aunque al principio la patología en las madres es leve y no muestra síntomas, los problemas en los fetos son graves y variados. Esto depende de

la raza de las ovejas, del tipo de virus y de cuándo ocurre la infección en el grupo de ovejas. Un síntoma común es que los corderos tienen problemas neurológicos, como temblores musculares y dificultad para caminar. También pueden presentar problemas en su lana, especialmente en razas con lana fina, donde el pelaje puede ser anormal. Además, pueden tener un color de piel anormalmente oscuro. Los corderos afectados crecen más lentamente y, si se encuentran en condiciones normales, la mayoría fallece previo al destete debido a otros cuadros infecciosos OIE (2008).

En algunos casos, los animales que tienen el virus desde el nacimiento muestran síntomas graves como diarrea, secreción nasal, problemas en los ojos y dificultad para respirar. Este conjunto de síntomas, que se ha observado en brotes ocasionales en el campo, se asemeja a una enfermedad llamada afección de las mucosas en bovinos Nettleton *et al* (1998). Aunque existen similitudes entre ovejas y vacas infectadas con Pestivirus, como la forma en que se transmiten y los problemas que causan en el nacimiento, así como en la existencia y animales contaminados con el virus desde el inicio, en las vacas se le denomina VDVB/E Nettleton *et al* (1998).

Imagen 2. *Cordero con lana característica de pelo.*



Fuente. Nettleton *et al* (1998).

4.2.5.3. Infecciones del tracto reproductivo

Las infecciones con el VDVB causan mayores problemas económicos debido a los trastornos en la reproducción Grooms (2004). Tanto la forma común (CP) como la menos común (NCP) del virus pueden infectar y provocar la pérdida del feto en la vaca, pero solo la forma menos común (NCP) ocasiona que el feto desarrolle inmunidad al virus mientras está en el útero, lo que lleva a que el virus permanezca en el animal Brownlie (1991).

El VDVB puede penetrar en las células del ovario de las vacas y causar una inflamación crónica llamada ooforitis. Esto puede comenzar con un cuadro infeccioso repentino Grooms *et al* (1998). La infección viral provoca daño en las células del ovario y de los óvulos sin formación de pus. Esto significa que la capacidad reproductiva de las vacas podría disminuir debido a esta infección Lertora (2003).

Los efectos del VDVB durante la preñez se dividen en cuatro etapas, dependiendo de cómo afecta a los animales y en qué momento surgen los problemas durante el período de gestación.

- **Etapla embrionaria (0 - 45 días):** Cuando las hembras susceptibles están cerca del momento de reproducirse, pueden experimentar abortos y necesitar más intentos para quedar preñadas hasta que su sistema inmunológico se desarrolle. El virus no afecta el crecimiento y desarrollo embrionario hasta alrededor de los 8 a 9 días, cuando pierden su capa protectora y pueden enfermarse Grooms (2004).

- **Día 45 a 125 de gestación:** Esta fase comienza después de que el embrión haya completado su desarrollo y finaliza cuando el feto puede defenderse contra el VDVB. Durante este período, algunos fetos pueden morir y momificarse o abortar meses después, y existe un pequeño número que puede presentar malformaciones. Lertora (2003).

• **Día 125 a 175 de gestación:** En este punto, los fetos comienzan a desarrollar su sistema inmunológico y sus órganos, lo que implica que hay más probabilidades de que ocurran problemas en el desarrollo Lertora (2003). También existe la posibilidad de aborto, siendo más frecuente al principio de la preñez. Se pueden observar diferentes tipos y niveles de problemas al nacer, como problemas cerebrales, problemas de crecimiento, problemas oculares, problemas pulmonares, problemas óseos y otros Grooms (2004).

• **175 días de gestación en adelante:** Las propagaciones con el VDVB al final de la preñez pueden dar lugar al nacimiento de becerros que están sanos o son débiles, pero tienen anticuerpos contra el VDVB Fredriksen *et al* (1999). Durante este período, los terneros están creciendo y tienen un sistema inmunológico preparado para protegerlos. Cuando ocurren infecciones en esta etapa, los terneros pueden nacer sanos, pero con anticuerpos, o débiles; los abortos son poco comunes Lertora (2003).

Imagen 3. *Malformación congénita debido al VDVB.*



Fuente. Lertora (2003).

Imagen 4. *Feto momificado de una res con serología positiva.*



Fuente. *Lertora* (2003).

4.2.5.4. Diagnóstico

Para diagnosticar la enfermedad, se deben observar los síntomas, examinar las lesiones con y sin microscopio, identificar el virus y revisar los resultados de pruebas clínicas y de las autopsias Reinhardt, V. G. (1992).

El diagnóstico puede realizarse de diferentes maneras: aislamiento y reconocimiento del virus en cultivos de células, la prueba serológica más utilizada es la seroneutralización en placas pequeñas para detectar los anticuerpos contra el virus DVB, detección viral mediante inmunofluorescencia para visualizar los antígenos en muestras de tejido, y aplicación de ELISA para buscar antígenos virales en muestras sospechosas Reinhardt, V. G. (1992).

a) Pruebas directas.- Existen diferentes métodos para detectar el virus: aislándolo en cultivos celulares, buscando sus proteínas (usando ELISA, inmunofluorescencia o

inmunohistoquímica) o su material genético (PCR). Los sistemas de ELISA utilizan anticuerpos especiales para detectar partes del virus VDVB Obando (2008).

b) Pruebas indirectas.- Se basan en encontrar anticuerpos contra el virus VDV. Las pruebas más comunes son la seroneutralización (SN) y ELISA, que se utilizan ampliamente en los laboratorios Obando (2008).

4.3. bases conceptuales

4.3.1. Antígeno

Cualquier sustancia extraña que provoca una respuesta del sistema inmunológico al ingresar a los tejidos de animales susceptibles y puede unirse a los anticuerpos específicos. Por lo general, los antígenos son grandes y suelen ser proteínas o azúcares. También pueden ser péptidos, grasas, ácidos nucleicos y otras moléculas Calderon (2007). Pueden ser unidos específicamente por un anticuerpo o por un receptor celular T, además eso no siempre significa que desencadenarán una respuesta del sistema inmunológico Vega (2009).

4.3.2. Anticuerpo

La inmunoglobulina, también conocido como inmunoglobulina, es una molécula compuesta principalmente de proteínas (90%) y carbohidratos (10%). Puede unirse específicamente a un antígeno o sustancia extraña. A veces se le llama gammaglobulinas debido a su comportamiento en las pruebas de laboratorio. También pueden denominarse antitoxinas, aglutininas o precipitadas Vega (2009). Son producidos por las células B y pueden unirse específicamente a partes de un antígeno Gallastegui *et al* (2002).

4.3.3. Reacción antígeno – anticuerpo

La convergencia entre un antígeno y una globulina es muy precisa: los anticuerpos reconocen solamente a antígenos específicos. Esto ocurre cuando las partes del antígeno y del anticuerpo se combinan como una llave en una cerradura. Esta unión crea lo que se denomina complejo antígeno-anticuerpo Gallastegui *et al* (2002).

4.3.4. Inmunosupresión

Reducir o debilitar las defensas del sistema inmunológico Tizard (2009).

4.3.5. Inmunotolerancia

Es un estado en el que el cuerpo responde de manera específica después de haber estado en contacto previamente con un antígeno. Esta respuesta se enfoca únicamente en ese antígeno específico o en uno similar Tizard (2009)

4.3.6. Seroprevalencia

Análisis de cuántos sujetos tienen una patología, usando muestras sanguíneas OnSalus (2012) según Sanchez (2012).

4.3.7. Prevalencia

La prevalencia muestra cuántos miembros de una población tienen una afección en un periodo específico de tiempo. Depende de cuántos individuos la tienen y por cuánto tiempo. Si la enfermedad es rara pero dura mucho tiempo, muchos individuos pueden tenerla en un momento dado. Si es común pero breve, la cantidad de individuos con la enfermedad puede ser baja. Los cambios en la prevalencia pueden ser causados por cambios en la cantidad de animales que la tienen o en cuánto tiempo la padecen Fernández *et al* (2004).

4.3.8. Incidencia

La incidencia se refiere al número de casos nuevos relacionados con una patología dentro de una Comunidad durante períodos determinados. Se puede medir de dos maneras: el conjunto de incidencias y las tasas de las mismas se conocen como la densidad de incidencia Fernández *et al* (2004).

4.3.9. Prueba de Elisa

Es un tipo de prueba que detecta la unión específica entre un antígeno y un anticuerpo. Utiliza un marcador enzimático que reacciona con un sustrato de color. Las proporciones del color producido se miden con un espectrofotómetro y muestran cuántos inmunocomplejos se formaron Idexx (2015).

El ELISA funciona detectando un antígeno fijo en una superficie sólida, como placas especiales. Los anticuerpos añadidos producen reacciones que generan un cambio de color debido a un tinte agregado al final. Se puede medir utilizando una máquina de ELISA o simplemente observándolo. Este método es muy efectivo para detectar enfermedades infecciosas debido a su versatilidad y facilidad de uso, empleando reactivos especiales para diagnosticar y detectar enfermedades Morales (2003).

El ELISA se emplea para identificar la existencia de una proteína específica en resultados y, a veces, para cuantificarla. Hay dos formas y técnicas de usarlo: una para establecer la cantidad de globulina presente en la muestra y otra para medir cuánta proteína se une al anticuerpo. Existen diferentes tipos de ELISA, pero los más comunes son: Idexx (2015)

4.3.9.1. ELISA competitiva

Las inmunoglobulinas o antígenos están fijados en un sustrato sólido y su conexión con la conjugación antígeno-enzima se detiene si hay una sustancia específica no marcada en la muestra. A veces, las muestras y los conjugados se mezclan al mismo tiempo. Esta variación no es exactamente competitiva, pero facilita la detección y es útil para encontrar anticuerpos débiles Ochoa (2012).

4.3.9.2. ELISA indirecta

En el método de ELISA inverso, los antígenos capturan a los llamados anticuerpos y luego un compuesto llamado anti-inmunoglobulina-enzima o proteína-enzima muestra la reacción. La enorme cantidad de enzimas unidas indica cuántas inmunoglobulinas hay en la muestra de suero, y esto se puede medir mediante la descomposición de su sustrato Ochoa (2012).

4.3.10. Sistemas de crianza

En todo el país, existen tres formas principales de criar animales: el sistema extensivo es común en las áreas montañosas y boscosas, el sistema intensivo es popular en los valles costeros, y el sistema semi-intensivo se utiliza en los valles entre montañas. INIA (2005).

4.3.10.1. Sistema extensivo

Se caracteriza por tener bajos costos de producción, poca inversión disponible, utilizar tecnología simple y depender de los ciclos naturales del terreno. La mano de obra es principalmente familiar y los animales se alimentan de pastos naturales y cultivados, a menudo junto con otras especies. No requiere infraestructuras costosas como corrales o comederos. La producción de leche

tiene menores magnitudes. Esta tipología representa el 15.4% de todas las formas productivas de leche en el país, con un promedio de 5.2 hectáreas por granja INIA (2005).

4.3.10.2. Sistema intensivo

Utilizan técnicas y tecnologías para obtener la máxima producción en el menor tiempo posible. Esto incluye el uso de alimentos concentrados, instalaciones especiales para el cuidado y ordeño de las vacas, y maquinaria. Este método representa el 46.2% de todas las casas lecheras, y la granja promedio abarca 9 hectáreas. Se encuentra principalmente en la costa y puede producir más de 6,000 litros de leche por vaca por ciclo. Además, se utiliza mucho la inseminación artificial para reproducir el ganado INIA (2005).

4.3.10.3. Sistema semiextensivo

Este método se enfoca en permitir que los animales pasten, pero también se les proporciona alimento concentrado. Durante el día, pastan, y por la noche, se los lleva a una zona cerrada. Producen una cantidad moderada de leche y se elabora queso. Los animales pueden reproducirse mediante inseminación artificial o monta natural. Este sistema se utiliza en el 38.4% de todos los establos lecheros del país, con una granja promedio de 68.3 hectáreas INIA (2005).

V. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. **Ámbito de Estudio**

5.1.1. **Ubicación**

Este estudio se llevó a cabo en la Comunidad Campesina de Huaracco, en el Distrito de Colquemarca, dentro de la provincia de Chumbivilcas, en la región de Cusco. Esta zona se ubica al sur de Santo Tomás. Se obtuvieron ejemplares de sangre de ovejas, vacas y alpacas.

En la siguiente fase, las muestras serán procesadas en el análisis de "Desarrollo y verificación de ensayos y moleculares para la investigación y diagnóstico de afecciones infecciosas" en la Escuela Profesional de Zootecnia, en el Área de Sanidad Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSAAC.

5.1.2. **Ubicación política**

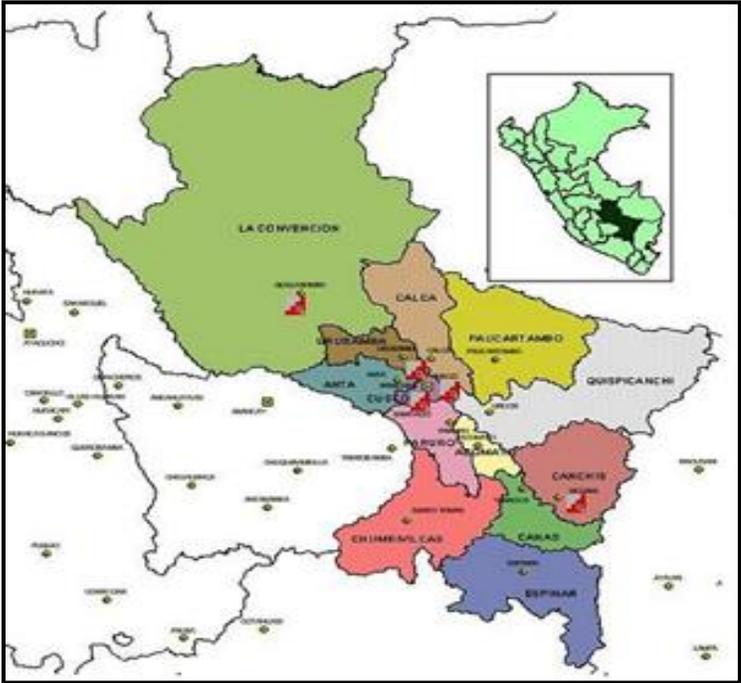
- Región : Cusco.
- Provincia : Chumbivilcas.
- Distrito : Colquemarca.
- Comunidad : Huaracco.

5.1.3. **Ubicación geográfica**

- Latitud Sur : 14° 17' 01" S.
- Longitud Oeste : 72° 05' 00" O.
- Altitud : 3678 m.s.n.m.

Fuente: (DIA- DRAC- 2012)

Imagen 5. Mapa de ubicación provincial.



Fuente: Instituto Geográfico Nacional IGN (2010).

Imagen 6. Mapa de ubicación distrital.



Fuente: Instituto Geográfico Nacional IGN (2010)

5.1.4. Datos climáticos del distrito de Colquemarca

5.1.4.1. Clima

El clima aquí es frío la mayor parte del tiempo, con días que alcanzan los 20.97 °C y noches que descienden hasta los -1.86 °C. La zona tiene áreas de puna y quechua en términos ecológicos. A lo largo del año, el clima experimenta cambios estacionales, con temperaturas más bajas en junio, julio y agosto. Además, hay mucha luz solar y baja humedad en el aire. También se registran lluvias en algunas partes del año, y el clima es semicálido SENAMHI (2012)

5.1.4.2. Precipitación

La precipitación pluvial media anual es 85.99mm, los meses con mayor precipitación pluvial son enero con 187mm y en el mes de diciembre 142.9mm.

5.1.4.3. Humedad relativa

La humedad relativa anual es de 61.64%. Los meses con mayor humedad son en febrero, marzo y abril con 66, 71 y 67%, respectivamente.

Tabla 3. Principales criterios meteorológicos de Chumbivilcas.

Rubros	Máxima	Mínima
Temperatura (°C)	22,2°C (Noviembre)	-4,4°C (Julio)
Precipitación Diaria (mm)	33,6 mm (Febrero)	2,9 mm (Julio)
Humedad relativa promedio mensual (%)	61,3% (Marzo)	34,07% (Julio)

Fuente. SENAMHI (2018)

5.2. Ubicación temporal

La investigación se divide en dos fases: la recolección de muestras y el proceso de laboratorio (análisis de sangre mediante la prueba de Elisa). Tiene una duración determinada de 6 meses (octubre 2018 – mayo 2019).

5.3. Materiales de Estudio

5.3.1. De los biológico

La crianza mixta en la Comunidad de Huaracco; las muestras se tomó 63 muestras de ovinos, 40 muestras en vacunos y 63 muestras en alpacas

5.3.2. De las muestras

Las muestras fueron los sueros sanguíneos en las tres especies (ovinos, vacunos y alpacas) en crianza mixta.

5.3.3. Tamaño muestra

Se estableció el tamaño muestral según encuestas realizadas a los agricultores de la Comunidad de Huaracco, en el Distrito de Colquemarca, donde se estableció el tamaño de la muestra considerando en cuenta un nivel de mucha confianza de 1.65 (ovinos, vacunos y alpacas).

El tamaño de la muestra se estableció mediante la ecuación descrita a continuación según Daniel (1996)

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

Dónde:

N: Tamaño de la población.

Z: 1.65, nivel de confianza que se dará a la muestra.

p: Variabilidad 0.5. (50% de probabilidad a favor y en vacunos 28%)

q: Variabilidad 0.5. (50% de probabilidad en contra y vacunos es 72%)

E: Precisión o error Experimental 0.1% al 90%.

n: Tamaño de muestra.

Tabla 4. *Distribución de tamaño de muestra en la Comunidad de Huaracco Distrito de Colquemarca de la Provincia de Chumbivilcas.*

Comunidad / Distrito	Especie	Población total	Tamaño de muestra.
	Ovinos	870	63
Huaracco /	Alpacas	900	63
Colquemarca	Vacunos	150	40
	Total	1920	166

Para el estudio en el Distrito de Colquemarca, en la Comunidad de Huaracco, se realizó el muestreo de 1920 animales en crianza mixta, de los cuales, según la tabla N°04, observamos el tamaño muestral en ovinos, vacunos y alpacas.

5.3.4. Instrumentos para la recolección de muestras sanguíneas

- Casquetes para las agujas vacutainer.
- Tubos vacutainer con separador de suero.
- Alcohol yodado.
- Algodón.

- Torundas de algodón.
- Gradillas
- Agujas vacutainer.
- Marcador indeleble para etiquetar la muestra.
- Kuler refrigerante.
- Guantes desechables.
- Mandil y/o mameluco.
- Mochetas.
- Soga
- Fichero y registro.
- Espray para Identificar a ovinos y vacunos

5.3.4.1. Materiales y equipos para la obtención de suero

- Viales criogénicos de 5 ml.
- Centrifuga (NF 200_nuve)
- Pipetas pasteur desechables.
- Crioviales de 2.0 ml.
- Marcador indeleble para etiquetar la muestra.
- Congelador -20°C (Elecrtolux – EU 21).
- Guantes desechables.
- Mandil.
- Barbijo.

- Gorro.
- Cronometro.

5.3.5. Materiales y equipos de laboratorio

5.3.5.1. Equipos e instrumentos para el procedimiento de la muestra

- Refrigeradora (LG) para muestras (ELECTRIX EU21 a T° de -1° hasta - 4°C).
- Estufa de incubación a 25 y 37°C (JITTERBUG_4_Boekel scientific)
- Lavador de placas de ELISA (Biotek EL x 50).
- Refrigeradora (LG – Inverter Linear).
- Congeladora de -20°C (Electrolux – EU 21).
- Micropipetas de 30 - 300 μ l y 100 – 1000 μ l (made by_LABMATE).
- Espectrofotómetro de ELISA (EPOCH 2 Biotek).
- Espectrofotómetro ELISA (Chromate Awareness Technology INC).
- Laboratorio de flujo laminar (Telstar Bio IIA).
- Vortex u homogenizador (VORTEX 2 GENIE_Scientific industries).
- Probetas de 100 y 1000ml.
- Tisp de 20, 200 y1000 μ l
- Pipetas de precisión (de 4 – 200 μ l).
- Puntas de pipetas desechables (5 – 300 μ l).
- Botella para lavados.
- Recipiente de 1 – 2 litros para PBS.
- Probeta de 100 a 1000 ml.
- Mascara o barbijos.

- Cinta Parafilm.
- Viales de 1.5 ml.
- Guantes.
- Mandiles.
- Papel absorbente.

5.3.5.2. Reactivos para analizar de DVB a PI en el Laboratorio

- Kit de ELISA para identificar la enfermedad del virus VDVB/ EF.
- Kit de ELISA para identificar animales persistentemente Infectados (PI).
- Suero sanguíneo 10 µl para cada pocillo o muestra.
- Placas ELISA recubiertas con antígeno DVB/EF.
- Placas de ELISA impregnados del anticuerpo VDVB.
- Control negativo – suero de oveja, preservado con azida sódica.
- Control positivo – suero con anticuerpo anti-p80 contra DVB, preservado en azida sódica.
- Conjugado que es la mezcla del conjugado concentrado en solución buffer de dilución N° 1.
- Conjugado antillama con la aperturación del tampón de dilución N° 1.
- Solución de lavado mezclado con agua destilada.
- Solución diluyente que esta conservado con azida de sodio.
- Solución frenada.
- Agua destilada, desionizada o cualquier otra agua de alta pureza.

- Solución TMB o sustrato.
- Solución stop.

5.3.5.3. Materiales de Escritorio

- Lapiceros.
- Cuadernos.
- Tablero.
- Registros individuales para cada uno de los animales.
- Libros.
- Corrector.
- Plumón indeleble.
- Laptop.
- Bolígrafo.
- Tablero acrílico.
- Computadora personal.

5.4. Metodología

5.4.1. Obtención de muestras de sangre

Para iniciar este trabajo de investigación, se solicitó el permiso de la Comunidad de Huaracco en Colquemarca, Chumbivilcas. Previa aprobación en una asamblea general, se presentó el proyecto de investigación ante los pobladores y productores de crianza mixta. Ellos otorgaron el permiso para recolectar las muestras sanguíneas en las especies de ovinos, vacunos y alpacas, de acuerdo al tamaño de la muestra.

Las muestras en alpacas se recolectaron luego de desinfectar con alcohol yodado, mediante punción de la vena yugular. Del mismo modo, se aplicó en ovejas la punción de la vena radial, mientras que para los vacunos se obtuvo de la vena caudal utilizando tubos de Vacutainer de 5 ml con separador de suero bajo vacío, con una cantidad de 3 a 4.5 ml por cada muestra. Después de obtener las muestras sanguíneas, se etiquetaron con la información necesaria (ver anexo 12). Estas muestras se colocaron en un refrigerador especial para mantenerlas frescas y bien conservadas. a los animales que dieron positivo en la prueba de PI al VDVB se les volvió a tomar muestras a los 21 días y consecuentemente se realizó la evaluación para determinar si son portadores del VDVB.

Imagen 7. Toma de muestras de sangre de las alpacas.



5.4.2. Obtención de suero

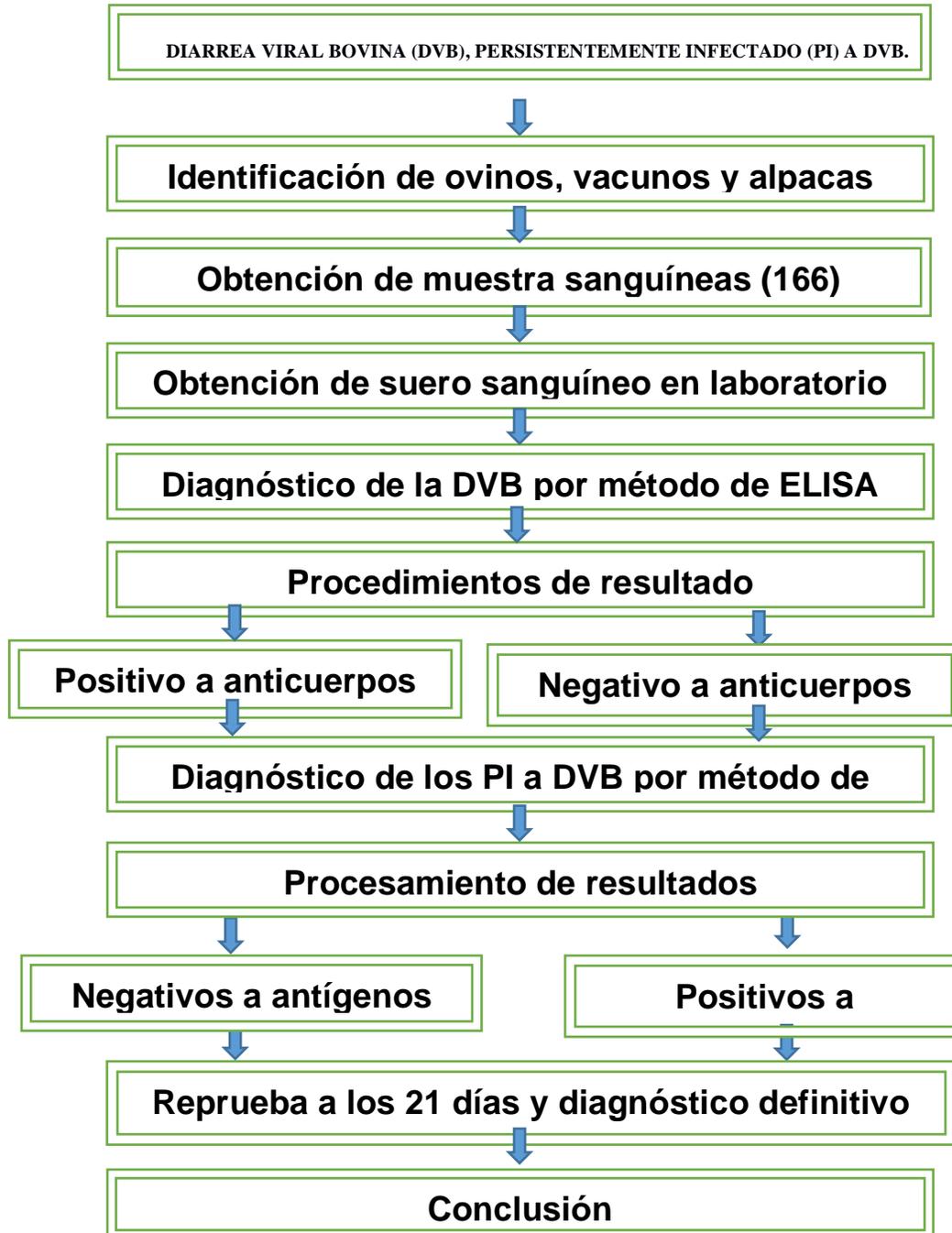
Se separa el suero mínimo después de 6 a 8 horas de extracción de la sangre con el separador de suero que viene en los tubos vacutainer, algunos que no reaccionaron con el gel se llevaron al laboratorio para extraer con la centrifuga, este mismo fue depositado en los Crioviales

de 2.0 ml. Luego se guardó las muestras en una refrigeración a una temperatura de -20°C para posteriormente ser procesado en el laboratorio.

Imagen 8. Obtención de suero sanguíneo en crioviales de 2.0 ml.



FLUJOGRAMA DE TRABAJO



5.4.3. Metodología de laboratorio

5.4.3.1. Metodología de ELISA competitivo para la diarrea viral bovina (DVB)

5.4.3.2. Principio de la prueba DVB

Las placas tienen una proteína llamada p80 fijada en los pocillos usando un anticuerpo específico llamado WB103. Las muestras se diluyen y se distribuyen en los pozos. Si hay algún anticuerpo específico para la proteína p80, se formará un complejo de antígeno-anticuerpo. Luego, se añade un anticuerpo monoclonal unido a una enzima que reconoce la proteína p80 en los pozos. Si hay un complejo antígeno-anticuerpo, la enzima no podrá unirse. Pero si no hay anticuerpos, la enzima se unirá a la proteína p80. Después de lavar, se agrega un sustrato de enzima p80, que produce un producto que cambia de color de azul a amarillo. Las intensidades en los colores dependen del número de anticuerpos anti-proteína p80. Se compara la absorbancia óptica de la muestra con el control negativo para el diagnóstico Life (2013).

5.4.3.2.1. Preparación de la solución de lavado

La solución de lavado en concentración elevada (10x) debe mezclarse con nueve partes de agua destilada antes de usarla. Debe mantenerse a una temperatura de $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y agitarse suavemente para disolver cualquier sal que se haya precipitado.

Imagen 9. Preparación de solución 100 ml.



5.4.3.2.2. Preparación de las muestras y reactivo

- Dejar que todos los reactivos adquieran $21\pm 4^{\circ}\text{C}$ antes de usar, luego homogenizar cada reactivo agitándolo suavemente.
- Se descongelan las muestras sanguíneas y se homogenizan.

Tabla 5. Organización de la placa de ELISA Competitivo para DVB en la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquamarca.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	MS										
B	CP	MS										
C	CN	MS										
D	CN	MS										
E	MS											
F	MS											
G	MS											
H	MS											

Dónde:

CN = Control negativo.

CP = Control positivo.

MS = Muestra de suero.

Tabla 6. Distribución de la placa de ELISA Competitivo para DVB en la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquamarca (placa I).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	05	04	12	21	29	37	45	53	61	70	78
B	CP	06	05	13	22	30	38	46	54	62	71	79
C	CN	07	06	14	23	31	39	47	55	63	72	80
D	CN	08	07	15	24	32	40	48	56	64	73	81
E	01	09	08	17	25	33	41	49	57	65	74	82
F	02	10	09	18	26	34	42	50	58	66	75	83
G	03	11	11	19	27	35	43	51	59	68	76	26
H	04	03	10	20	28	36	44	52	60	69	77	22

Donde:

CP = control positivo.

CN = control negativo.

01-11 = vacunos 

03- 83 = ovinos 

26 y 22 = alpaca 

Tabla 7. Distribución de la placa de ELISA Competitivo para DVB en la Comunidad Huaracco del Distrito de Colquamarca (placa II).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	101	96	81	68	90	23	26	47	33	14	67
B	CP	75	84	71	86	89	91	43	20	34	56	63
C	CN	70	61	78	82	88	76	42	04	46	68	09
D	CN	63	98	95	84	87	77	41	27	15	72	35
E	77	104	93	97	02	08	80	40	28	06	07	16
F	102	64	90	89	01	25	78	39	29	05	11	50
G	83	69	SN	99	85	22	83	38	31	36	45	13
H	66	91	76	73	81	24	21	37	32	18	49	58

Donde:

CP = control positivo.

CN = control negativo.

 = vacunos

 = alpaca

5.4.3.3. Procedimiento de la prueba para detección de anticuerpo de la Diarrea Viral Bovina (DVB)

1. Tomar las placas tapizadas y realizar la marca de posición muestral.
2. Añadir 90µl de diluyente B a todos los pocillos de la placa.
3. Dispensar 10µl de control negativo en dos pozos.
4. Dispensar 10µl de control positivo con dos pozos.
5. Dispensar 10µl por muestra para el análisis en pocillo (un pocillo por muestra).
6. Homogenizar el contenido de los pozos, cubrir las microplacas con parafilm e incubar por 1 hora a $37\pm 2^{\circ}\text{C}$.
7. Eliminar o aspirar el líquido de los pocillos y lavarlos con un aproximado de 300 µl de solución de lavado enjuagando 4 veces.
8. Añadir 100µl de conjugado en cada pozo. Agite suavemente la placa y cubra la placa con la cinta parafilm e incubar durante 1 hora a $37\pm 2^{\circ}\text{C}$.
9. Eliminar o aspirar el líquido de cada pozo y enjuagar cada uno pocillo cerca de 300µl de solución de lavado se debe enjuagarse 4 veces.
10. Añadir 100µl de solución de sustrato TMB en cada uno de pocillo, agitar suavemente la placa durante 2 segundos e incubar por 10 minutos a una temperatura del ambiente ($21\pm 4^{\circ}\text{C}$).
11. Añadir 100µl de solución de frenado o stop a cada uno de los pozos.
12. Leer las densidades ópticas a 450nm y calcular los resultados.

Flujograma de la metodología de ELISA competitivo para virus de la Diarrea Viral

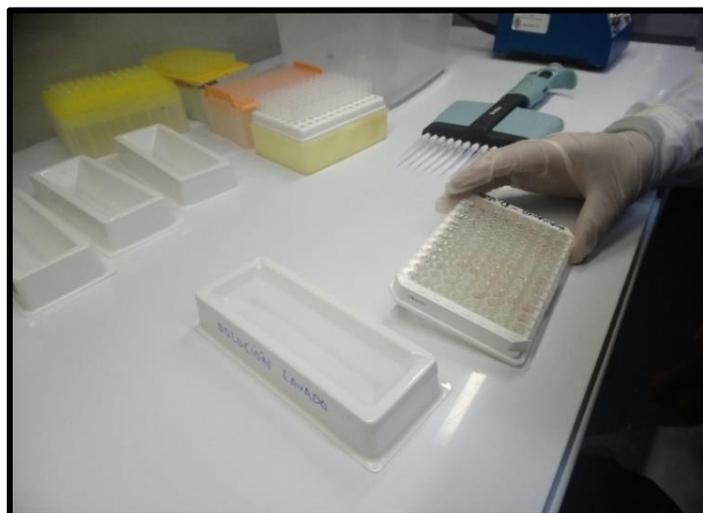
Bovina (DVB)



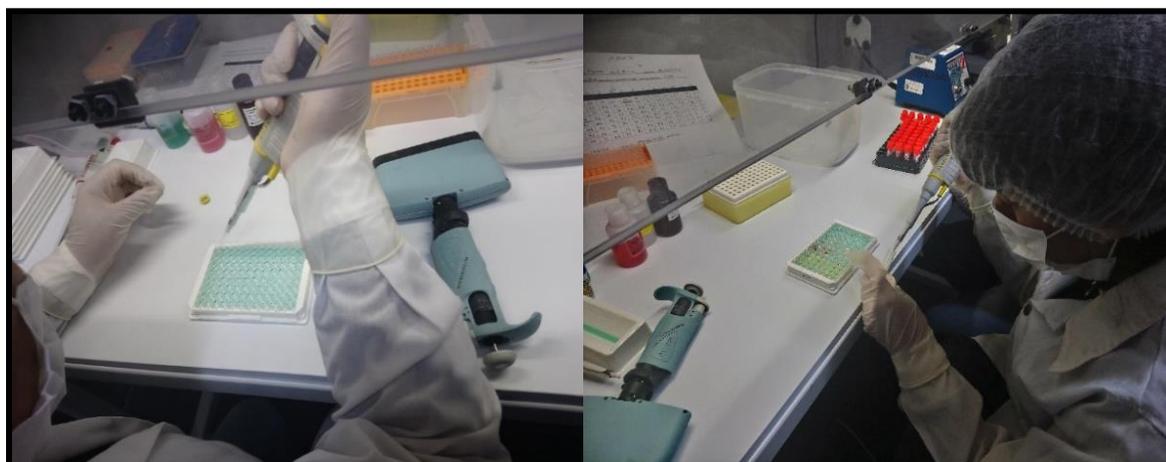
Reactivos y muestras estables a una temperatura ambiente ($21\pm 4^{\circ}\text{C}$).



Homogeneizando las muestras y los controles en el vortex.



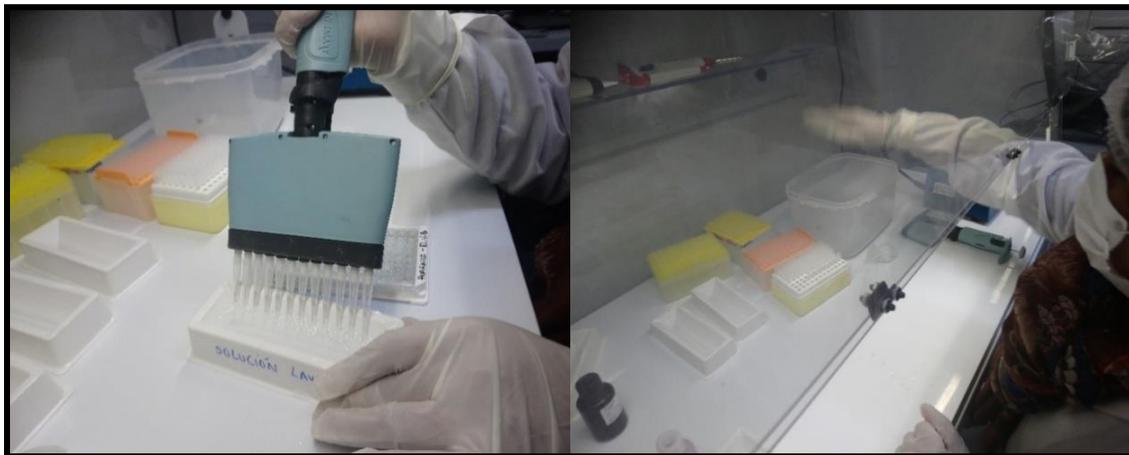
Preparación de solución de lavado y conjugado con agua destilada.



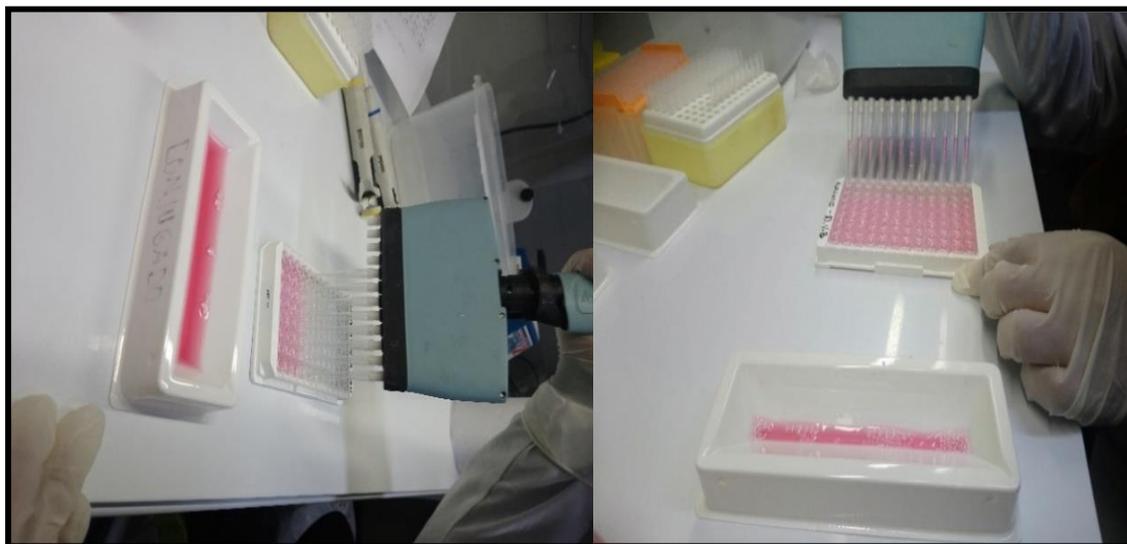
Dilución de 10 μ l de suero controles y suero de la muestra en los pocillos propios.



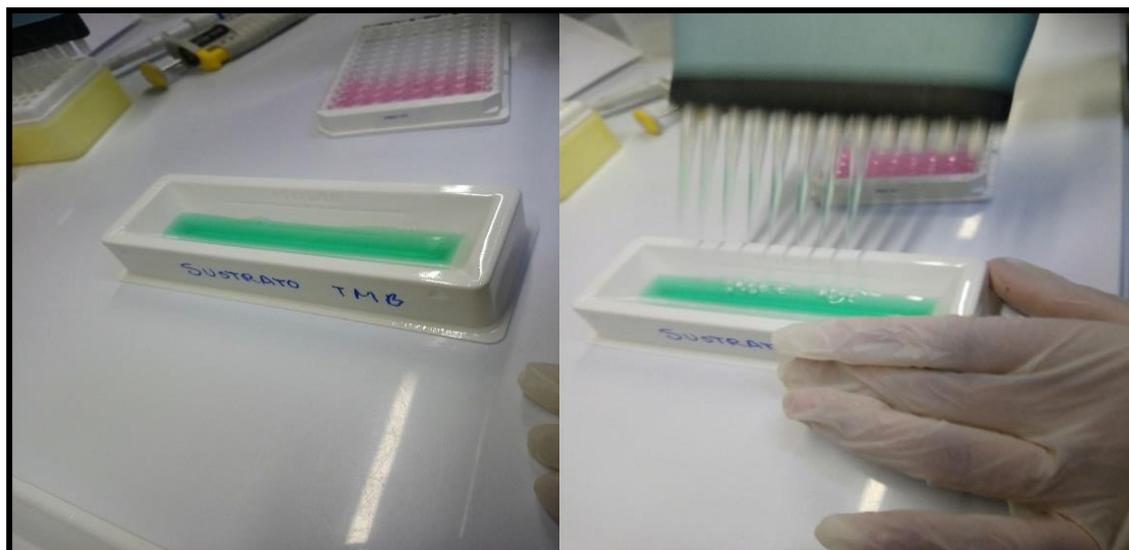
Incubación de la placa a $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ por una hora.



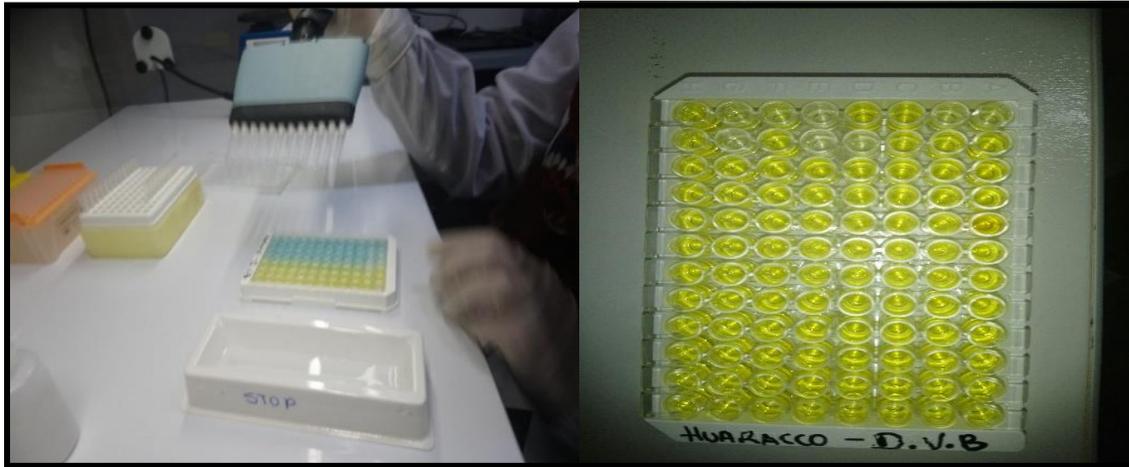
Lavado de las placas con $300\mu\text{l}$ de la solución de lavado por cada pocillo, se realiza el lavado por cuatro veces.



Adición de 100 μ l de conjugado a cada pocillo e incubación durante una hora a 37 \pm 2 $^{\circ}$ C.



Adición de 100 μ l de solución de sustrato TMB a cada pocillo e incubación por diez minutos a una temperatura ambiente (21 \pm 4 $^{\circ}$ C).



Añadir de 100µl de solución de frenado o stop a cada pocillo y lectura a 450nm.

5.4.3.3.1. Validación de la prueba

La prueba se valida si el % de inhibición del control positivo (CP) es > del es 60% y el promedio de la densidad óptica de los controles negativos (ODm CN) > de 0.650.

a) Cálculos

▪ Media del control positivo

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

▪ Media del control negativo

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

▪ % inhibición

$$\%Inh = \left[\frac{DOmCN - DO muestra}{DOmCN} \right] * 100$$

5.4.3.3.2. Interpretación de resultados

El diagnóstico del VDVB en muestras individuales de suero se ejecuta de la siguiente manera (*life technologies*).

- ✓ Muestras con un porcentaje de inhibición mayor o igual a 80 son considerados positivos fuerte ($\%Inh \geq 80$).
- ✓ Muestras con porcentaje de inhibición mayor o igual que 50% y menor a 80% son considerados como positivo débil ($50 \leq \%Inh < 80$).
- ✓ Muestra con un porcentaje de inhibición < 50 se considera negativo ($\%Inh < 50$).

5.4.3.4. Metodología de ELISA indirecta para persistentemente infectados (PI) con el virus de la DVB

5.4.3.4.1. Principio de la prueba PI a DVB (Kit de laboratorio IDEXX)

El kit DVBV PI X2 detecta antígeno DVBV en muestras bovinas de suero individual y en muestras individuales de tejido de muesca de la oreja obtenidas de animales persistentemente infectados. Se procede a la incubación de la muestra con el anticuerpo detector biotinilizado, manteniendo la placa a 37°C; los pasos restantes del análisis se realizan a 18-26°C. Este kit se basa en la técnica de inmunoabsorción ligada a enzima, empleando un anticuerpo de detección y mezclándolo con un conjugado de HRPO-estreptavidina. La proteína E^{ms} es sumamente eficaz para identificar el DVBV en muestras sanguíneas y tejido. Se encuentra tanto dentro de las células infectadas como en su exterior Idexx (2015).

5.4.3.4.2. Preparación de la solución de lavado

La solución de lavado concentrada (10x) debe mezclarse con una parte de agua destilada por cada diez partes de solución. Antes de usarla, debe estar a una temperatura entre 18 y 26°C y agitarse suavemente para asegurarse de que todas las sales se disuelvan.

5.4.3.4.3. Preparación de muestras y reactivos

- Dejar que todos los reactivos adquieran 18-26°C antes de usar, luego homogenizar cada reactivo agitándolo suavemente.
- Se descongelan las muestras de suero sanguíneo y se homogenizan.

Tabla 8. Distribución de la placa de ELISA Indirecta para PI en vacunos en la Comunidad de Huaracco del distrito de Colquemarca (placa I).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	CN	104	70	66	83	102	10	07	06	05	04
B	CP	CP	64	61	90	76	81	17	25	15	14	35

CP = control positivo.

CN = control negativo

 = vacunos

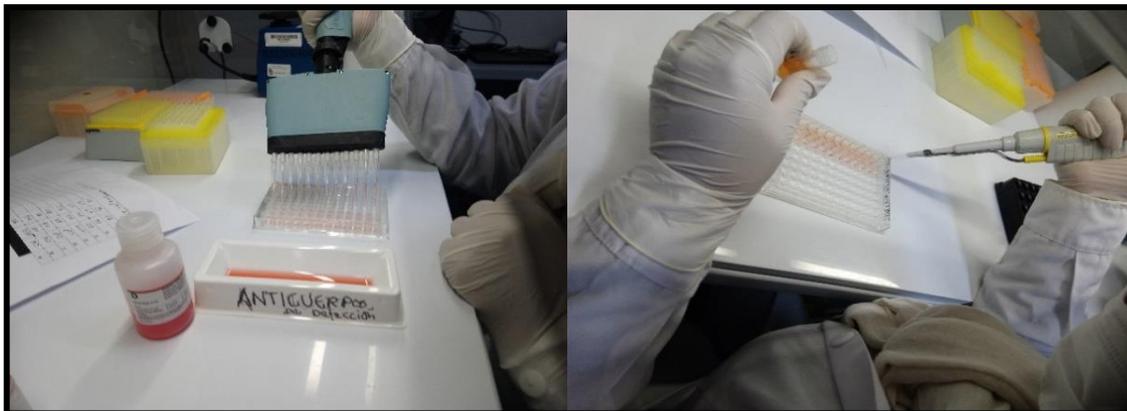
 = ovinos

5.4.3.4.4. Procedimiento de la prueba para detección de antígenos de la diarrea viral bovina (DVB)

1. Seleccionar las placas recubiertas con anticuerpos y anotar la ubicación de las muestras.
2. Dispensar 50µl de anticuerpos de detección en cada pocillo.
3. Dispensar con una pipeta 50µl de un control positivo en dos pocillos de las placas tapizadas de anticuerpos.

4. Dispensar con una pipeta 50µl de control negativo en dos pocillos de las placas tapizadas de anticuerpos.
5. En los micropocillos restantes, dispensar con una pipeta 50µl de muestra de suero sin diluir.
6. Mezclar el contenido del pocillo, cubrir el pocillo e incubar a 37°C por 1 hora.
7. Realizar la eliminación o aspirar el líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo cerca de 300µl de solución de lavado, fue realizado 4 veces.
8. Dispensar con una pipeta 100µl de conjugado en cada pocillo.
9. Cubrir los pocillos con la cinta parafilm e incubar a 26°C por media hora.
10. Retirar el líquido y lavar los pocillos un total de 4 veces.
11. Dispensar con una pipeta 100µl de solución de sustrato TMB en cada pocillo.
12. Cubrir los pocillos con cinta parafilm e incubar a 26°C durante 10 minutos.
13. Dispensar con una pipeta 100µl de la solución de frenado en cada una del pocillo.
14. Proceder a la lectura de la absorbancia a 450nm en un lector de microplacas.

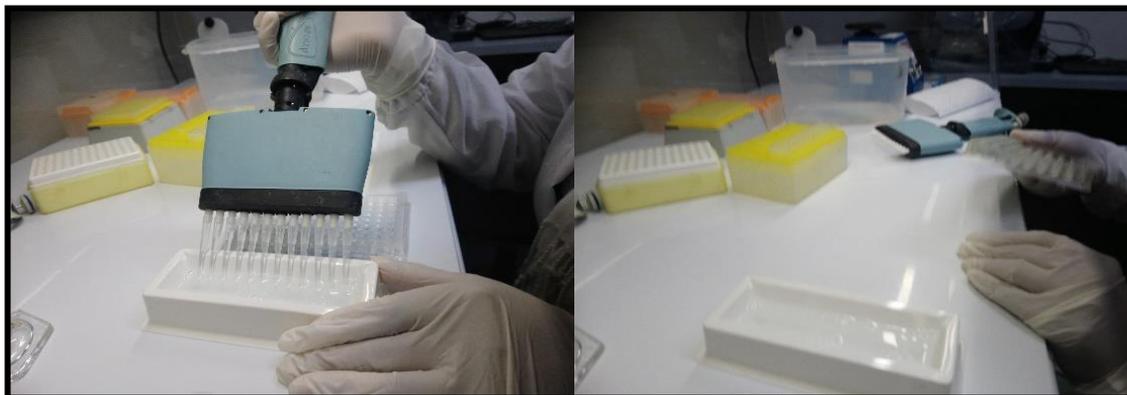
Flujograma de la metodología de ELISA indirecta para persistentemente infectados (PI) con DVBV



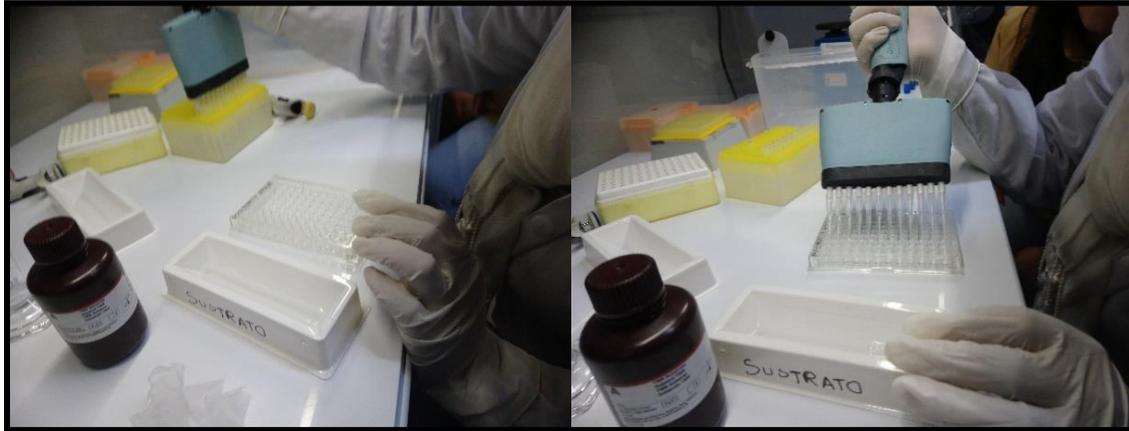
Adición de 50µl de: anticuerpos de detección, controles positivos, controles negativos y muestras en los pocillos correspondientes.



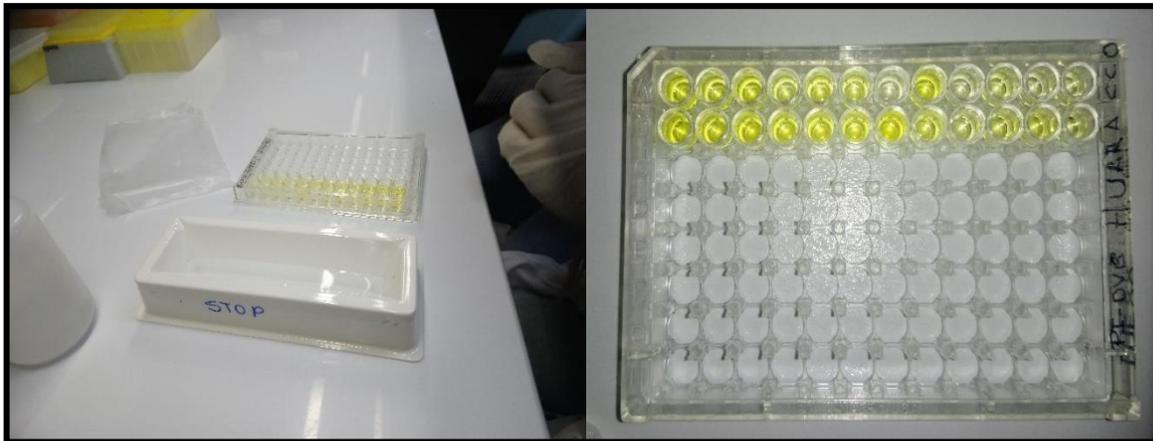
Mezclado del contenido de los pocillos e incubación a 37°C durante 60 minutos.



Lavado de las placas con 300µl de solución de lavado por cada pocillo por 4 veces.



Lavado de los pocillos un total de 4 veces y adición de 100 μ l de solución de sustrato TMB en cada pocillo.



Adición de 100 μ l de una solución de frenado en cada una del pocillo y lectura de la absorbancia a 450 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

5.4.3.4.5. Validación de la prueba

Según Idexx (2015) para que el test sea válido, los promedios de la densidad luminosa que se obtienen para controles del kit deben encontrarse considerando los siguientes límites:

- Promedios de la densidad óptica (DO) para el control negativo.

DO (450nm) <0,200

- Promedios de la densidad óptica (DO) de: media control positivo-media control negativo.

DO (CP)-DO (CN) ≥0,300

Para saber si hay DVBV, se calcula dividiendo el resultado de la muestra en comparación con el control positivo (M/P).

a) Cálculos

- **Media del control negativo**

$$CNx = \frac{DO(450)CN1 + DO(450)CN2}{2}$$

- **Media del control positivo**

$$CPx = \frac{DO(450)CP1 + DO(450)CP2}{2}$$

- **% M/P de muestra**

$$\% \frac{M}{P} = \frac{Muestra - CNx}{CPx - CNx}$$

5.4.3.4.6. Interpretación de resultados

- Cociente M/P Para negativo a PI a DVBV <0,15.
- Cociente M/P Para positivo a PI a DVBV >0,15.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Seroprevalencia del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en crianza mixta de ovinos, vacunos y alpacas en la Comunidad de Huaracco del Distrito de Colquemarca, Chumbivilcas – Cusco

Tabla 9. Resultado Cualitativo para DVB de la crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) de la Comunidad Huaracco del Distrito de Colquemarca.

ELISA Competitiva	Comunidad Huaracco			
	Ovino	Vacuno	Alpacas	Total
Amarrillo (Negativos)	63	25	63	151
Incoloro(positivos)	0	15	0	15
Total	63	40	63	166

De acuerdo a la tabla N° 09, se detectó visualmente de un total de 166 animales de crianza mixta muestreada de la Comunidad Huaracco, teniendo un resultado Positivo (15 vacunos) y Negativo (25 vacunos) que son sospechosos a PI, pero en ovinos y alpacas no muestra ningún anticuerpo contra el VDVB.

6.1.1. Anticuerpos contra el VDVB cuantitativamente en crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) del Distrito Colquemarca de la Comunidad Huaracco.

Al realizar el análisis de 166 muestras de la Comunidad de Huaracco en Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco. Se detectó a través del método de ELISA competitiva para determinar la seroprevalencia del virus de la DVB y se obtuvo el siguiente resultado.

Tabla 10. Seroprevalencia de anticuerpo dirigido contra el virus de la Diarrea Viral Bovina en crianza mixta de vacunos, ovinos y alpacas en la Comunidad Huaracco.

Especie	Comunidad Huaracco Distrito de Colquemarca			Total de Seroprevalencia
	Ovinos	Vacunos	Alpacas	Total de especie
N° muestras	63	40	63	166
Positivos a DVB	0	15	0	15
Seroprevalencia	0 ± 0 %	62.5 ± 0.13%	0 ± 0 %	15.06 ± 0.05 %

De acuerdo a la tabla N°10, se puede apreciar que la seroprevalencia cuantitativa para la presencia de inmunoglobulina contra el VDVB en crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) en vacunos fue del 62.5% de un total de 40, y para los ovinos no se encontraron anticuerpos contra el DVB de 63 animales muestreados. De igual manera, en alpacas de 63 animales muestreados no se detectaron inmunoglobulina contra el VDVB. Esto mantiene que en las dos especies no se detectó ningún anticuerpo contra el VDVB. Para la infección de la DVB en la Comunidad Huaracco del Distrito Colquemarca, Álvarez *et al.*, (2002) en Canchis, Cusco, realizado por el método de neutralización viral y Cabellos (2006) en Calca, Cusco, mediante pruebas de neutralización viral. Encontraron una seroprevalencia de 11.5±4.4% y 15.8±16.4% en alpacas, 73.7±13.9% y 90.9±6.9% en bovinos, y 13.3±9.9% y 28.29±7.1% en ovinos que presentaron anticuerpos contra la VDVB, cuyos resultados son altamente superiores al presente trabajo. La diferencia puede darse de acuerdo a la zona de estudio, que son altamente endémicas al VDVB y la presencia de vacunos PI. La afección subclínica se determina en el 70% o más de los bovinos contaminados con el VDVB Houe (1999). De la misma forma, Soto (2010) del Centro de Investigación y Producción Carolina de la Universidad Nacional del Altiplano, fue seropositiva al anticuerpo contra el VDVB. Estos resultados son similares al presente trabajo; resulta que la Comunidad de Huaracco es

superior en vacunos y la enfermedad existe solo en esta especie. Esto indica Rivera (2008) que la diarrea en vacas es una enfermedad comúnmente encontrada en la población bovina del país.

Los resultados obtenidos en ovinos son seronegativos para la Comunidad Huaracco, lo que indica que no se encontraron anticuerpos contra el VDVB. Esta deducción es similar a la de Flores *et al.* (2010) en la empresa ovejera, donde se detectó mediante pruebas de neutralización viral, y también similar a la de Llancares *et al.* (2012) en reproductores provenientes de la empresa ovina de la sierra central, recolectados mediante el método de neutralización viral. Se obtuvo una seroprevalencia del $69.5 \pm 4.4\%$ y del $2.1 \pm 1.5\%$ de ovinos reproductores que tenían inmunoglobulinas contra el VDVB. Es muy alta la detección contra el virus de la VDVB en comparación con el resultado de la Comunidad de Huaracco. El tipo de crianza mixta influye mucho en la enfermedad de DVB. Esto se relaciona con la disminución en bovinos lecheros de crianza y de tasa que aumenta en una cuenca limeña Rivera *et al.*, (2000).

Anco (2016) en Chamaca-Chumbivilcas, atribuimos que los resultados muestran una Seroprevalencia del 61.29%. Esto indica que son similares al trabajo realizado en la Comunidad de Huaracco, ya que la enfermedad se manifiesta en mayor proporción en vacunos que en las otras especies, coincidiendo con lo expresado por Rivera (2008), quien menciona que el VDB es una patología de gran incidencia. Concordamos también con Villafuerte (2017) en Santo Tomas, Chumbivilcas-Cusco, a través del método ELISA competitivo, quien alcanzó un $71.74 \pm 0.08\%$, y con Bautista (2011) en Cangallo, Ayacucho, cuyo método de ELISA indirecto obtuvo un $75.3 \pm 4.3\%$ de positividad al anticuerpo contra el VDBV. Los resultados obtenidos son superiores a los de la Comunidad de Huaracco, lo que indicaría que la enfermedad se manifiesta principalmente en bovinos, y coincidimos con Lértora (2003) en que los animales PI son el principal foco infeccioso; ya que, a lo largo de su vida, liberan elevadas concentraciones de virus en sus fluidos corporales.

El trabajo realizado por Guzmán (2018) en Quispicanchis, Cusco, mediante el método ELISA Competitivo, arrojó un resultado del $54.48 \pm 0.13\%$. Cárdenas (2011) en Espinar, Cusco, mediante el método de neutralización, obtuvo un 58.8%, mientras que Huacasi (2018), también en Espinar, Cusco, utilizando el método ELISA, obtuvo un $56.2 \pm 4.8\%$. Estos resultados son inferiores al resultado obtenido en la Comunidad de Huaracco. Según Houe (1999), la cantidad de DVB presente depende del tipo de ganado, del número de animales en la zona, de sus condiciones de cuidado, de si se compran o venden animales, y de otros aspectos.

Asimismo, Quispe *et al.* (2008) en Melgar, Puno, utilizando el método de neutralización, obtuvieron un resultado del $48.7 \pm 0.1\%$. Lennes (2018) en Anta, Cusco, mediante el método ELISA Competitivo, registró un resultado de $45.18 \pm 0.07\%$. Por otro lado, Huamán (2007) en Majes, Arequipa, a través del método ELISA Indirecta, encontró un 47.2%. Estos campos con datos obtenidos son considerablemente inferiores a los mantenidos en la Comunidad de Huaracco, donde los animales son más propensos a contraer la patología del DVB. Además, se ha encontrado que cuando el virus pasa a través de animales susceptibles, se generan nuevas formas del virus que causan una infección aguda Bolin y Ridpath, (1992).

Herrera *et al.*, (2011) realizó la Seroprevalencia de la DVB en 385 muestra de sangre y encontró $27.7 \pm 4.4\%$ en los bovinos criollos de San Pablo en Cajamarca. Los resultados mostrados son mínimos a la Comunidad de Huaracco.

Risco *et al.* (1998), en la Estación Experimental del IVITA-Marangani- Universidad Nacional Mayor de San Marcos, llevaron a cabo su investigación mediante el método de neutralización y no detectaron la presencia del VDVB en alpacas. Por otro lado, Huayhua (2018), en la Comunidad Campesina de Iñapata, Santo Tomas, Chumbivilcas, utilizando el método ELISA

competitivo, tampoco encontró evidencia del VDVB. El estudio realizado en la Comunidad de Huaracco, donde se practica la crianza mixta, arrojó un resultado similar: no se encontraron anticuerpos contra el VDVB en las alpacas, coincidiendo con los hallazgos de ambos autores.

Los resultados obtenidos mediante pruebas de ELISA Competitiva en la Comunidad de Huaracco, muestran la existencia de esta patología solo en vacunos en dicha zona. Asimismo, se observó la detección de anticuerpos contra el VDVB en los bovinos, lo cual se atribuye a la existencia de vacunos persistentemente infectados (PI) que propagan la enfermedad en la Comunidad y a la falta de medidas preventivas. Sin embargo, en el caso de las alpacas y ovinos, no se encontraron evidencias de infección con VDVB. A partir de estos resultados, se puede inferir que estos animales son más resistentes a la enfermedad. Los bovinos son susceptibles a la contaminación por el virus de la diarrea viral bovina, mientras que las alpacas parecen ser resistentes al virus, posiblemente debido a la baja prevalencia del virus en la región y a condiciones específicas del Perú, en comparación con otros lugares Carman *et al* (2005).

6.2. Seroprevalencia de los vacunos persistentemente infectados (PI) con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en crianza mixta en vacunos de la Comunidad de Huaracco Distrito de Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco

Para determinar cuántos animales están infectados persistentemente con este virus, se está evaluando la seroprevalencia. Se realizó una evaluación inicial a todos los vacunos que resultaron negativos en la primera prueba de globulina contra el VDVB. A partir de estos resultados, se llevó a cabo una segunda prueba de confirmación 21 días después en los vacunos que arrojaron resultados positivos (sospechosos) para identificar verdaderamente a los portadores persistentes (PI) del VDVB.

Tabla 11. Resultado para PI a VDVB a la primera prueba en los vacunos de la Comunidad de Huaracco.

	seronegativos	Prueba positiva a PI	Seroprevalencia
Primera prueba	15	4	10 ± 0.078 %

6.2.1. Determinación cuantitativa de grado de infección en vacunos de la Comunidad de Huaracco Distrito Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco

Las lecturas de las densidades ópticas se realizan con el lector de microplacas Elisa (Epoch2) a 450 nm. Asimismo, se realiza el cálculo de los M/P (relación entre muestras positivas y muestras negativas) basado en la densidad óptica de cada muestra, lo que contribuye al diagnóstico final de la evaluación para detectar la presencia del VDVB.

Tabla 12. Reprueba de seroprevalencia de los vacunos persistentemente infectados (PI) a diarrea viral bovina en crianza mixta en la Comunidad Huaracco del Distrito Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco.

	N° muestras	Prueba positivo PI a DVB	Seroprevalencia %
Reprueba	4	3	7.5 ± 0.04 %

En la Tabla 12 se observa la Seroprevalencia en la reprueba del VDVB en animales de la Comunidad de Huaracco, distrito de Colquemarca, Chumbivilcas, Cusco, la cual corresponde al 7.5 ± 0.04% (3/40). Se evidencia la presencia de vacunos persistentemente infectados (PI) en esta Comunidad (total del 0.04% de 40 muestras), lo que sugiere, según Moennig y Liess (1995), la transmisión vertical de madres a crías. La infección transplacentaria afecta a hembras que pueden

contagiarse durante la preñez. Si el feto se infecta con biotipos NCP antes de desarrollar su inmunidad (aproximadamente antes del día 125 de gestación), puede ser PI. También puede ocurrir la transmisión horizontal entre ganado de diferentes rebaños.

Los resultados obtenidos mostraron que en los vacunos, 3 de ellos resultaron positivos, con una Seroprevalencia del $7.5 \pm 0.04\%$ (3/40) para la Comunidad de Huaracco en el distrito de Colquemarca, Chumbivilcas, Cusco. Este ambiente obtenido al trabajo compuesto por Quispe *et al.* (2008) en Melgar, Puno y Cárdenas, (2011) en Espinar, Cusco, ambos mediante el técnica de neutralización viral, donde reportaron una prevalencia en la que no se encontró el antígeno para el VDBV. Además, según Houe (1999), se ha observado que la propagación del la presencia del VDVB en estos animales puede ser tan extensa que en un periodo de 3 a 4 meses consiguen contagiar al 90% de los animales con los que conviven.

Villafuerte (2017) mediante el método de ELISA competitivo, detectó una prevalencia de $15.38 \pm 0.05\%$ (4/26) de vacunos que ya están con la infección (PI) con la DVB. En comparación con el presente trabajo realizado en la Comunidad de Huaracco, tienden a ser valores superiores a los que obtuvimos en nuestro estudio.

Los resultados obtenidos por Huamán (2007) en Majes, Arequipa; Sánchez (2012) en Jorge Basadre Tacna; Lennes (2018) en Zurite, Cusco, y Guzmán (2018) en Quispicanchis, Cusco; obtenidos mediante la prueba de ELISA, encontraron una incidencia, prevalencia y seroprevalencia de 3.30%, 0.61%, 1.52 % y 1.24%, respectivamente, de animales que están infectados (PI) con la Diarrea Viral Bovina (DVB). Estos resultados son inferiores a los obtenidos en este estudio, lo que indica la existencia de vacunos PI con VDVB, ya que hay vacunos portadores de la enfermedad que la transmiten a vacunos susceptibles.

Los hallazgos de este estudio usando el análisis de ELISA Indirecta en la Comunidad de Huaracco, en Colquemarca de Chumbivilcas, departamento del Cusco, muestran que hay vacas que son portadoras de la enfermedad o están persistentemente infectadas (PI). Estos animales son los principales responsables de propagar la DVB.

VII. CONCLUSIONES

- Se ha detectado anticuerpos contra el virus de la diarrea viral en bovinos (VDVB) en los vacunos, mas no se encontró anticuerpos contra el virus de la diarrea en bovinos (VDVB) en los ovinos y alpacas, esto significa que en los vacunos pasaron la enfermedad de la diarrea en bovinos, el cual habría traído consecuencias propias de la enfermedad en la comunidad de Huaracco.
- Se ha encontrado persistentemente infectados (PI) en un grupo de vacunos que son los diseminadores del virus de la diarrea viral en bovinos, mas no se halló el virus de la diarrea viral en bovinos (VDVB) en los ovinos y alpacas en la comunidad de Huaracco.

VIII. RECOMENDACIONES

- Implementar acciones de control y vigilancia mediante la prevención, como la vacunación, y separar a los animales positivos, luego proceder a su eliminación.
- Prevenir el estrés constante en los animales para reducir su susceptibilidad al VDVB.
- Realizar capacitaciones a los productores en la Comunidad de Huaracco, distrito de Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco, ya que en su mayoría desconoce las consecuencias de la enfermedad.
- Realizar la compra de reproductores de hatos ganaderos que poseen certificación del SENASA.
- Es necesario establecer protocolos de bioseguridad (ferias).

REFERENCIAS

Alvarez, S., Rivera, H., Pezo, D., & Garcia, W. (Enero-junio de 2002). Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*.

Anco, M. J. (2016). “*Incidencia de la Diarrea Viral Bovina en Vacas de las Comunidades de Sihuincha y Añahuichi del Distrito de Chamaca, Provincia de Chumbivilcas.*”. Tesis., Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco., Cusco, Chumbivilcas.

Baker, J. C. (1995). The Clinical Manifestations of Bovine Viral Diarrhea Infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 425-445. doi:org/10.1016/S0749-0720(15)30460-6

Bautista, F. (2011). *Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en las cuencas ganaderas de cinco distritos de la región Ayacucho.* tesis, Ayacucho, Ayacucho. Obtenido de <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2971>

Becher, P., Orlich , M., Shannon, A. D., Horner, G., König, M., & Thiel, H. J. (JUNIO de 1997). Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *J Gen Virol.*, 78(6), 1357-1366. doi:10.1099/0022-1317-78-6-1357

Becher, P., Orlich, M., & Thiel, H. J. (2000). Mutations in the 5' nontranslated region of bovine viral diarrhea virus result in altered growth characteristics. *J Virol.*, 74(17), 7884-7894. doi:10.1128/jvi.74.17.7884-7894.2000

Berriatua, E., Álvarez, V., Extramiana, B., González, L., Daltabuit, M., & Juste, R. (12 de septiembre de 2003). Transmission and control implications of seroconversion to Maedi-Visna virus in Basque dairy-sheep flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 60(4), 265-279. doi:https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00163-6

Bolin, S. R., & Ridpath, J. F. (Noviembre de 1992). Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves. *Am J Vet Res.*, 53(11), 2157-2163.

Bolin, S. R., & Grooms, D. L. (Marzo de 2004). Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, 20(1), 51-68. doi: 10.1016/j.cvfa.2003.11.009

Bolin, S. R., & Grooms, D. L. (Marzo de 2004). Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, 20(1), 51-68. doi:10.1016/j.cvfa.2003.11.009

Brownlie , J., Clarke , M. C., & Howard, C. J. (JUNIO de 1984). Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet Rec.*, 2;114(22), 535-6. doi:10.1136/vr.114.22.535

Brownlie, J. (1991). The pathways for bovine virus diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch Virol Suppl.*, 3, 79- 96. doi:10.1007/978-3-7091-9153-8_10

Brownlie, j., Clarke, M. C., & Howard, C. J. (Mayo de 1989). Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Research in Veterinary Science*, 46(3), 307- 311. doi:https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)31171-8

Cabellos, K. O. (2006). *Seroprevalencia de los virus: Parainfluenza 3, respiratorio sincitial, diarrea viral bovina, en un rebaño mixto de una comunidad campesina de la provincia de Calca, Cusco*. Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos., Lima, Lima. Obtenido de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/684>

Calderon, P. (2007). *Anticuerpos y Antigenos*. Instituto de Biotecnología de La Universidad Autónoma de México.

Calle , A. (05 de juli de 2018). Tres años En chumbivilcas. *Revervet*, 5-22.

Cardenas, C., Rivera, H., Arainga, M., Ramirez, M., & De Paz, J. (Julio-Septiembre de 2011). Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y de animales portadores del virus en bovinos en la provincia de espinar, Cusco. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 22(3), 261-267.

Carman, S., Carr, N., DeLay, J., Baxi, M., Deregt, D, & Hazlett, M. (2005). Bovine viral diarrhoea virus in alpaca: abortion and persistent infection. *J Vet Diagn Invest*, 17(6), 589-593. doi:org/10.1177/104063870501700613

Choquenaira, A. R. (2018). *Seroprevalencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) en la Raza Brown Swiss del Distrito de Paucarcolla*. Tesis, Universidad Nacional Del Altiplano., Puno, Puno.

Collet, M., Heinz, F., Purcell, R., & Howard, C. (1988). Family Flaviviridae In: Van Regenmortel M; Fauquet C; Bishop D (Eds). Virus taxonomy; classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. London, England. *Academic press.*, 859 – 879.

Daniel, w. (1996). Bioestadística:. En *Base para el análisis de las ciencias de la salud* (3ra ed., págs. 198 – 206). México: Limusa.

DIA, D. (2012). *Ubicacion Geografica Chumbivilcas*. Manual, Elaboración Equipo Formador UFPI-DRAC, Cusco.

Fernández , S., Díaz , S., & Cañedo , F. (2004). *Medidas de frecuencia de enfermedad- Medidas de frecuencia de enfermedad: incidencia y prevalencia .* Manuel, Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario-Universitario Juan, España. Obtenido de http://www.fisterra.com/MBE/INVESTIGA/MEDIDAS_FRECUENCIA/MED_FRECUENCIA_REC2.PDF

Flores, d., Rivera, H., Gavidia, C., & Manchengo, A. (2010). Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina y su asociación con problemas reproductivos en borregas de una empresa ovejera de la sierra central del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(1), 113-118.

Flores, E. F., Gil, L. H., Botton , S. A., Weiblen, R., Ridpath, J. F., Kreutz , L. C., . . . Wendelstein, A. C. (NOVIEMBRE de 2000). Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. *Vet Microbiol.*, 15;77(1-2), 175-183. doi: 10.1016/s0378-1135(00)00274-1

Fredriksen, B., Sandvik, T., Løken , T., & Odegaard , S. A. (JUNIO de 1999). Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec*, 30;144(5), 111-114. doi:10.1136/vr.144.5.111

Fulton, R. W., Ridpath, J. F., Confer, A. W., Saliki, J. T., Burge, L. J., & Payton, M. E. (JUNIO de 2003). Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *Biologicals.*, 31(2), 89-95. doi: 10.1016/s1045-1056(03)00021-6

Gallastegui, C., Bernardez, B., Regueira, A., Dávila, C., & Leboreiro, B. (2002). *Inmunologia*. In Farmacia Hospitalaria.

Goyal, M. S., & Ridpath, J. F. (2005). Bovine Viral diarrhea virus. Diagnosis, management, and control. *Blackwell Publishing*, 260 pp.

Gripshover, E. M., Givens, M. D., Ridpath, J. F., Brock, K. V., Whitley, E. M., & Sartin, E. A. (15 de Noviembre de 2007). Variation in Erns viral glycoprotein associated with failure of immunohistochemistry and commercial antigen capture ELISA to detect a field strain of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Microbiology*, 125(1-2), 11-21. doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.05.014>

Grooms, D. L. (MARZO de 2004). Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, 20(1), 5- 19. doi:10.1016/j.cvfa.2003.11.006

Grooms, D. L., Brock, K. V., Pate, J. L., & Day, M. L. (FEBRERO de 1998). Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhea virus. *Theriogenology.*, 49(3), 595-605. doi: 10.1016/s0093-691x(98)00010-7

Guzman, F. (2018). “*Deteccion de Anticuerpos y Antigenos del Virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en Vacunos de las Comunidades de Ccolcca y Lauramarca del Distrito de Ocongate - Cusco, 2016*”. Tesis., Universidad San Antonio Abad Del Cusco., Cusco, Cusco.

Herrera, A., Manchengo, A., Ramirez, M., More, J., & Rivera, H. (julio-diciembre de 2011). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral en bovinos de crianza extensiva de la provincia de San Pablo, Cajamarca. *Revista de Investigaciones Pecuarias*, 22(2), 171-175.

Houe, H. (Junio de 1999). Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet Microbiol.*, 64(2-3), 89-107. doi:10.1016/s0378-1135(98)00262-4

Huacasi, V. B. (2018). “*Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) y Diarrea Viral Bovina (BVD) en Vacunos Brown Swiss de la Comunidad de Huisacollana del Distrito de Yauri - Espinar – Cusco*”. Tesis, Universidad Nacional del Altiplano., Puno, Puno. Obtenido de <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/8060>

Huaman, J. C. (2006). *Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina, y animales persistentemente infectados con el virus, en hatos productores de leche de*

la irrigación de Majes, Arequipa. Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos., Lima, Lima. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12672/686>

Huayhua, E. (2018). *Deteccion de Anticuerpos del Virus de la Diarrea Viral Bovina en Alpacas de la Comunidad Campesina de Iñapata – Santo Tomas – Chumbivilcas - Cusco*. Tesis, Universidad Nacional de San Anatonio Abad del Cusco., Cusco, Cusco.

Huo, H. (1995). Epidemiology of Bovine Viral Diarrhea Virus. En R. A. Smith, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* (págs. 521-547).

Elsevier. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749072015304655>

Idexx. (2015). *Laboratorios Idexx*. Estados Unidos.

Idexx. (2013). *Laboratorios Idexx*.

IGN. (2010). *Instituto Geográfico Nacional*. Cusco, Chumbivilcas. Obtenido de <http://www.map-peru.com/es/mapas/ficha-distrito-de-santo-tomas>

INIA. (2012). *IV censo Nacional Agropecuario*. Perú.

INIA), I. N. (2005). La investigación en sistemas Extensivos de producción. *Portal veterinaria*, 2, 3-6.

Instituto Nacional de Investigación Agraria, I. (2005). *La investigación en sistemas Extensivos de producción*. Portal veterinaria No 2.

Iqbal, M., Flick-Smith, H., & McCauley, J. W. (01 de FEBRERO de 2000). Interactions of bovine viral diarrhoea virus glycoprotein Erns with cell surface glycosaminoglycans. *Journal of General Virology*, 81(2). doi:<https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-2-451>

Johnson , C. M., Perez, D. R., Merrick, W. C., & Donis , R. O. (Diciembre de 2001). The NS5A protein of bovine viral diarrhoea virus interacts with the alpha subunit of translation elongation factor-1. *J Gen Virol.*, 82(12), 2935- 2943. doi:10.1099/0022-1317-82-12-2935

Lennes, E. (2018). *Deteccion de Anticuerpos y Antigenos de la Diarrea Viral Bovina (DVB) en Vacunos del Distrito de Zurite*". Tesis, Cusco, Cusco.

Leon, N. D., Potgiete, B., M, S., & Ph D. (Noviembre de 1995). Immunology of Bovine Viral Diarrhea Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 501-520. doi:[https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30464-3](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30464-3)

Lertora, W. J. (2003). virus diarrea viral bovina. *Reviste veterinaria*, 14(1), 42-50. doi:<http://dx.doi.org/10.30972/vet.141684>

Leyssen, P., De Clercq, E., & Neyts, J. (JUNIO de 2000). Perspectives for the treatment of infections with Flaviviridae. *Clin Microbiol Rev.*, 13(1), 67- 82. doi:10.1128/cmr.13.1.67-82.2000

Li, Y., & McNally, J. (2001). Characterization of RNA synthesis and translation of bovine viral diarrhea virus (BVDV). *Virus Genes.*, 23(2), 149-155. doi: 10.1023/a:1011836003128

Life. (2013). Life Technologies. USA.

Llancares, N., Rivera, H., Arainga, M., & Falcno, N. (2012). Seroprevalencia de pestivirus de rumiantes en ovinos reproductores de una empresa de la sierra central del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(4), 504-509.

Marco, R, R., O, C., M, B., G, M., E, C., . . . S, L. (aug de 2009). Serologic and virologic investigations into pestivirus infection in wild and domestic ruminants in the Pyrenees (NE Spain). *Res Vet Sci.* 2009 Aug;87, 149-153. doi:10.1016/j.rvsc.2008.10.014

Maurer , K., Krey, T., Moennig , V., Thiel, H. J., & Rümenapf, T. (FEBRERO de 2004). CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhea virus. *J Virol.*, 78(4), 1792-1799. doi: 10.1128/jvi.78.4.1792-1799.2004

McClurkin, A. W., Littledike, E. T., Cutlip , R. C., Frank , G. H., Coria, M. F., & Bolin , S. R. (Abril de 1984). Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. *Can J Comp Med*, 48(2), 156-161.

Moennig, V., & Liess, B. (Noviembre de 1995). Pathogenesis of Intrauterine Infections With Bovine Viral Diarrhea Virus. *Veterinary Clinics of North America:*

Food Animal Practice, 11(3), 477- 487. doi:[https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30462-X](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30462-X)

Morales, S. (2003). Terneros persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa. *Rev Acad Peru Cien Vet*, 3(1), 8- 13.

Nettleton, P. F., & Entrican, G. (November–December de 1995). Ruminant pestiviruses. *British Veterinary Journal*, 151(6), 615-1642. doi:[https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(95\)80145-6](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(95)80145-6)

Nettleton, P. F., Gilray, J. A., Russo, P., & Dliissi, E. (01 de JUNIO de 1998). Border disease of sheep and goats. *Veterinary Research, BioMed Central*, 29(3-4), 327- 340. doi:<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00902531/document>

Obando, C. (2008). *Dinámica de infección natural por virus de diarrea viral*. Libro, Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito.

Obando, C. A., & Rodriguez, J. M. (2005). Diarrea Viral Bovina. *Manual de ganadería de Doble Propósito.*, 317-322. Obtenido de http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo7-s5.pdf

Ochoa, R. F. (2012). Tecnicas Inmunoenzimaticas para ensayos clinicos de vacunas y estudios inmunoepidemilogicos.

OIE. (2008). *Manual de la OIE sobre animales terrestres*.

Olivera, L. S. (julio de 2002). Diarrea Viral Bovina. *El Pornguito*(250), 3.

Obtenido de http://www.gloria.com.pe/poronguito_anteriores.html

OnSalus. (12-04-2012.). *OnSalus.com. Diccionario médico virtual*. Obtenido de <http://www.onsalus.com/diccionario/seroprevalencia/27371>.

Orsel, K., Antonis, A., Oosterloo, J., & Vellema, P. (2009). Seroprevalence of antibodies against pestiviruses in small ruminants in the Netherlands. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 134(9), 382-384.

Parra, J. L., Vera, V. J., Villamil, L. C., & Ramirez, G. C. (1994). SEROEPIDEMIOLOGIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN EXPLOTACIONES LECHERAS DE LA SABANA DE BOGOTA. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 42(1), 29-44. doi:10.15446/rfmvz

Pedraza, M., Risalde, M. A., Romero, J. L., Da Silva, A., Nuñez, A., Ruiz, E., . . . Sanchez, P. J. (Diciembre de 2007). Diarrea Virica Bovina: Etiologia, Formas Clinicas, Distribucion del Virus y Patogenia. *Real Academia de Andalucía Oriental, Anales*, 20(1), 136-149.

Pellerin, C., van den, H. J., Lecomte, J., & Tijssen, P. (Septiembre de 1994). Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with

severe outbreaks and high mortalities. *Virology.*, 203(2), 260-268.
doi:10.1006/viro.1994.1483

producción., I. L. (2005). La investigación en sistemas Extensivos de
producción., (págs. 3-6).

Quispe, R., Ccama, A., Rivera, H., & Arainga, M. (julio-diciembre de 2008).
El virus de la diarrea viral en bovinos criollos de la Provincia de Melgar, Puno. *Rev.
investig. vet. Perú* , 19(2), 176-182.

Ramsey, F. K., & Chivers, W. H. (1953). Mucosal disease of cattle. *North Am
Vet*, 34, 629-634.

Reinhardt, V. G. (Julio de 1992). Diarrea viral bovina/ Enfermedad mucosa.
(M. S. Morales, Ed.) *Monografías de Medicina Veterinaria*, 14(1).

Ridpath, J. F. (Junio de 2003). BVDV genotypes and biotypes: practical
implications for diagnosis and control. *Biologicals*, 31(2), 127-131.
doi:10.1016/s1045-1056(03)00028-9

Ridpath, J. F., Neill, J. D., Edward , D., & Carman, S. (Diciembre de 2005).
Multiple outbreaks of severe acute BVDV in North America occurring between
1993 and 1995 linked to the same BVDV2 strain. *Veterinary Microbiology* 114, 31;
114(3-4), 196-204. doi:10.1016/j.vetmic.2005.11.059

Risco, v., Rivera, H., Sandoval, N., Pezo, D., Garcia, W., & Rosadio, R. (1998). Detección de Anticuerpos y Virus de la Diarrea Viral Bovina en Alpacas Durante una Campaña Reproductiva. *Investigaciones Pecuarias*, 9(2), 59-64. Obtenido de http://ateneo.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/123456789/3970/revista_de_investigaciones_veterinarias_del_peru08v9n2_1998.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Rivera, H. (julio-diciembre de 2008). Evolución del Conocimiento Sobre la Enfermedad de la Diarrea Viral Bovina y su Agente Etiológico. *Revista de Investigaciones Veterinarias*, 19(1), 93-112. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838849001>

Rivera, H., Dennis, N., & Tabacchi, L. (2000). Neospora caninum y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 11(1), 1-7. doi:<https://doi.org/10.15381/rivep.v11i1.6766>

Rondon, B. L. (Enero-Junio de 2006). Diarrea viral bovina: patogénesis e inmunopatología. *Revista MVZ Córdoba*, 11(1), 694-704. doi:<https://doi.org/10.21897/rmvz.454>

Rüfenacht, J., Schaller, P., Audigé, L., Knutti, B., Küpfer, U., & Peterhans, E. (JULIO de 2001). The effect of infection with bovine viral diarrhoea virus on the

fertility of Swiss dairy cattle. *Theriogenology.*, 15;56(2), 199-210.
doi:10.1016/s0093-691x(01)00556-8

Sanchez, A. L. (2012). *Seroprevalencia de Animales Persistentemente Infectados (PI) con el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en el Distrito de Locumba- Tacna, 2012.* tesis, Universidad Nacional Jorge Basad Re Grohmann • Tacna., Tacna, Tacna.

Sandvik, T. (Junio de 1999). Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Veterinary Microbiology*, 64(2- 3), 123-134. doi:[https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(98\)00264-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(98)00264-8)

SENAMHI-. (2012). *Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología.*

SENAMHI. (2018). *Condiciones Meteorológicas Del Cp.* Informe Técnico N°002-2018/Senamhi/Dma/Spm, Lutto, Distrito Llusco, Provincia De Chumbivilcas, Cusco. Obtenido de <https://www.senamhi.gob.pe/load/file/01403SENA-2.pdf>

Sharp, M. W., & Rawson, B. C. (Agosto de 1986). The cost of Border disease infection in a commercial flock. *Vet Rec.*, 9;119(6), 128-1230.
doi:10.1136/vr.119.6.128

Soto, A. (2010). *Prevalencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en el Centro de Investigacion y Produccion Carolina UNA , Puno.* Tesis, Universidad

Nacional del Altiplano Puno., Puno. Obtenido de <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/609>

Tajima, M., & Dubovi, E. J. (2005). Genetic and clinical analyses of bovine viral diarrhoea virus isolates from dairy operations in the United States of America. *J Vet Diagn Invest*, 17, 10-15.

Thomson, R. G., Savan, M., & Malmquist, W. A. (Septiembre; de 1963; 1986). Studies on Virus Diarrhoea and Mucosal Disease of Cattle. *Can J Comp Med Vet Sci*, 27;18(9;2), 207-214.; 763-768. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1583701/>

Tizard, L. R. (2009). *Immunologia Veterinaria*. LIBRO, Immunologia-Veterinaria, Elsevier España,.

Tremblay, R. (1996). Transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Med.*, 91, 858- 866.

Valdazo, B., Álvarez, M., & Sandvik, T. (30 de Abril de 2008). Prevalence of border disease virus in Spanish lambs. *Veterinary Microbiology*, 128(3-4), 269-278. doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.10.032>

Vega, G. B. (2009). *Anticuerpos-Inmunología para el médico general*. Rev Fac Med, Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM.

Villafuerte, f. (2017). *Deteccion de Anticuepos y Antigenos del Virus de la Diarrea Vviral Bovina (DVB) En Vacunos de la Comunidad de Vista Alegre, Santo Tomas - Chumbivilcas - Cusco*. tesis, Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco., Cusco.

Villafuerte, f. (2017). *Detección de anticuerpos y antígenos del virus de la diarrea viral bovina (DVD) en vacunos de la comunidad de vista alegre, Santo Tomas - Chumbivilcas - Cusco*. Tesis, Universidad Nacional san Antonio Abad de Cusco, cusco, Cusco. Obtenido de <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/1770>

ZikaVirus(ZIKV). (31 de diciembre de 2017). An Uncommon Zoonotic Virus. *Biochemistry & Molecular Biology Letters*, 3(3), 122.

Zuñiga, A., Rivera, H., Arainga, M., & Manchego, A. (2006). Evaluacion de Anticuerpos Contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina de un Hato en Proceso de Erradicacion de la Enfermedad. *Rev Investigacion Veterinario Perú* 17(2), 44-50.

ANEXOS

Anexo 1. *Calculo para tamaño de muestra de ovinos, vacunos y alpacas de la Comunidad de Huaracco del Distrito Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco.*

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

TAMAÑO DE MUESTRA OVINOS

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

$$n = \frac{870 (1.65)^2 (0.5) (0.5)}{(870 - 1) (0.1)^2 + (1.65)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = \frac{870 (2.7225) (0.25)}{(869) (0.01) + (2.7225) (0.25)}$$

$$n = \frac{592.14375}{9.370625}$$

$$n = 63.1914$$

$$n = 63$$

TAMAÑO DE MUESTRA ALPACAS

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

$$n = \frac{900(1.65)^2 (0.5) (0.5)}{(900 - 1) (0.1)^2 + (1.65)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = \frac{900 (2,7225) (0.25)}{(899) (0.01) + (2.7225)(0.25)}$$

$$n = \frac{612.5625}{9.670625}$$

$$n = 63.3425$$

$$n = 63$$

TAMAÑO DE MUESTRA VACUNO

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

$$n = \frac{150 (1.65)^2 (0.28) (0.72)}{(150 - 1) (0.1)^2 + (1.65)^2(0.28)(0.72)}$$

$$n = \frac{150 (2,7225) (0.2016)}{(149) (0.01) + (2.7225)(0.2016)}$$

$$n = \frac{82.3284}{2.038856}$$

$$n = 40.3797031272$$

$$n = 40$$

Anexo 2. Ficha de Trabajo en Campo.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROPECUARIA

REGISTRÓ DE MUESTRAS DE SANGRE

COMUNIDAD:.....

DISTRITO:..... **PROVINCIA:**.....

DEPARTAMENTO:.....

PROPIETARIO:.....**FE**

CHA:.....

SECTOR:.....

N° ORDEN	N° DE MUESTRA	NOMBRE Y/O SEÑAL DEL ANIMAL	EDAD	CATEGORIA	OBSERVACION
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					

Anexo 3. Registro de los animales y resultados a la prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina y persistentemente infectados en crianza mixta en los vacunos en la Comunidad Huaracco del distrito Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco.

Nº De Orden	Nº De Muestra	Nombre Del Animal	CAT. O Especie	Nombre Del Propietario	Anexo	Observación	DVB	PI
1	1	MARIA	5 AÑOS	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	Aborto	POSITIVO FUERTE	
2	2	MARTHA	5 AÑOS	URBINA ANCALLA, Bacilia	huaracco	RETENCION	POSITIVO DEBIL	
3	3	KARINA	4 AÑOS ½	CHALLA URBINA, Sandra	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
4	4	ROSITA	2 AÑOS ½	URBINA ANCALLA, Bacilia	huaracco	Vaca	NEGATIVO	NEGATIVO
5	5	MARIA	1 AÑO ½	CHAVEZ CHICCAÑA, Cesilio	huaracco	Vaca	NEGATIVO	NEGATIVO
6	6	MARIA	7 AÑOS	PANIHUARA HUAMANI, Abelardo	huaracco	ABORTO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	7	SEÑORITA	5 AÑOS	URBINA SALHUA, Margarita	huaracco	Vaca	NEGATIVO	NEGATIVO
8	8	GRINGA	5 AÑOS	ANCCASI CHAVEZ, Edgar	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
9	9	INES	6 AÑOS	PANIHUARA HUAMANI, Abelardo	huaracco	Vaca	POSITIVO FUERTE	
10	10	10	6 AÑOS	SALHUA CHALLA, Rosaura	huaracco	Vaca	NEGATIVO	POSITIVO
11	11	11	2 AÑOS ½	SALHUA CHALLA, Rosaura	huaracco	Vaca	POSITIVO FUERTE	
12	12	12	2 AÑOS	SALHUA CHALLA, Rosario	huaracco	No se correo la muestra		
13	77	SHIRLY	4 AÑOS	LLAMOCCA SALHUA, Rivaldo	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
14	102	LOMBA	5 AÑOS	VARGAS SANJA, Karina	huaracco	Vaca	NEGATIVO	NEGATIVO
15	83	MARLYA	2 AÑOS ½	LLAMOCCA SALHUA, Maria Esabel	huaracco	Vaca	NEGATIVO	NEGATIVO
16	66	SARITA	6 AÑOS	CHACO NINAQUISPE, Margarita	huaracco	Vaca	NEGATIVO	NEGATIVO
17	101	MELIZA	5 AÑOS	CHAVEZ SALHUA, Edulfunsio	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	

18	75	BLANCA	4 AÑOS ½	CHAVEZ CHACO, Sayda	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
19	70	LUCIA	5 AÑOS	CHAVEZ CHACO, Jhon Alex	huaracco	Vaca	NEGATIV O	NEGATIV O
20	63	BLANCA	4 AÑOS	SALHUA VARGAS, Vartola	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
21	104	NATY	7 AÑOS	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	Vaca	NEGATIV O	POSITIVO
22	64	SARA HIJADE BLANCA	7 MESES	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	Vaca	NEGATIV O	POSITIVO
23	69	BLANQUIT A HIJA DE PRADO	11 MESES	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	Vaca	POSITIVO DEIL	
24	91	TENKE	3 AÑOS	SALHUA VARGAS, Vartola	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
25	96	KATY	2 AÑOS	CHAVEZ PANIHUARA, Percy	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
26	84	ANA	3 AÑOS	PANIHUARA HUAYHUA, Cristina	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
27	61	LOLA	4 AÑOS	QUISPE JANAMPA, Marleny	huaracco	Vaca	NEGATIV O	NEGATIV O
28	98	RASA MARIELA	2 AÑOS	CHAVEZ QUISPE, Miguel angel	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
29	93	YOLA	5 AÑOS	CHAVEZ QUISPE, Shirley	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
30	90	FRICIALIN DA	4 AÑOS	JANAMPA QUISPE, Marti na	huaracco	Vaca	NEGATIV O	NEGATIV O
31	SN	SUSI	4 AÑOS	QUISPE FLORES, Ruben	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
32	76	YANDI	11 MESES	QUISPE JANAMPA, Vernaldo	huaracco	Vaca	NEGATIV O	NEGATIV O
33	81	GIRASOL	3 AÑOS ½	QUISPE FLORES, Ruben	huaracco	Vaca	NEGATIV O	POSITIVO
34	71	FARISA	4 AÑOS	JANAMPA QUISPE, Marti na	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
35	78	BLANCA	7 AÑOS	QUISPE JANAMPA, Vernaldo	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
36	95	ROCIO	4 AÑOS	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
37	97	BLANQUIT A	2 AÑOS	HUAYHUA APFATA, Natal ia	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
38	89	PEQUEÑA	2 AÑOS	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	

39	99	GLORIA	6 AÑOS	HUAYHUA APFATA, Natalia	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
40	73	YAQUELIN	6 AÑOS	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
41	68	PRODO	5 AÑOS	QUISPE JANAMPA, Marleny	huaracco	Vaca	POSITIVO DEBIL	
42	60	CH"SKA	3 AÑOS	FLORES CHAUCA, Sepriano	huaracco	No se correo la muestra		

Anexo 4. Registro de los animales y resultados a la prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina de ovinos en la Comunidad Huaracco del distrito Colquemarca, Chumbivilcas- Cusco.

Nº De Orden	Nº De Muestra	CAT. O Especie	Nombre Del Propietario	Anexo	Nombre Del Animal	Observación	DVB
01	01	2 AÑOS	FLORES CHACNAMA, Amilcar pare	huaracco	ovino	No se correo la muestra	
02	02	2 AÑOS	FLORES CHACNAMA, Adelayda	huaracco	ovino	No se correo la muestra	
03	03	4 AÑOS	CHALLA FOLRES, Yerisa Lisbeth	huaracco	ovino		NEGATIVO
04	04	ADULTA	CHALLA ALCCA HUAMAN, Braulio	huaracco	ovino		NEGATIVO
05	05	ADULTA	CHACNAMA ANCCASI, Martina	huaracco	ovino		NEGATIVO
06	06	3 AÑOS	TINTAYA CHACNAMA, Yaquelin	huaracco	ovino	Aborto	NEGATIVO
07	07	ADULTA	TINTAYA CHACNAMA, Uriel	huaracco	ovino		NEGATIVO
08	08	4 AÑOS	TINTAYA ALCCA HUAMAN, Alipio	huaracco	ovino		NEGATIVO
09	09	2 AÑOS	LLAMOCCA CCALLO, Eduardo	huaracco	ovino		NEGATIVO
10	10	2 AÑOS	SALHUA CHALLA, Rosario	huaracco	ovino		NEGATIVO
11	11	2 AÑOS	LLAMOCCA SALHUA, Rivaldo	huaracco	ovino		NEGATIVO
12	12	2 AÑOS	VARGAS SANJA, Karina	huaracco	ovino		NEGATIVO

13	13	2 AÑOS	LLAMOCCA SALHUA, Maria Esabel	huaracco	ovino	Aborto	NEGATIVO
14	14	ADULT A	CHACO NINAQUISPE, Margarita	huaracco	ovino		NEGATIVO
15	15	ADULT A	CHAVEZ SALHUA, Edulfunsio	huaracco	ovino		NEGATIVO
16	16	ADULT A	CHAVEZ CHACO, Sayda	huaracco	ovino	No se correo la muestra	
17	17	ADULT A	CHAVEZ CHACO, Jhon Alex	huaracco	ovino		NEGATIVO
18	18	ADULT A	SALHUA VARGAS, Vartola	huaracco	ovino		NEGATIVO
19	19	ADULT A	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	ovino		NEGATIVO
20	20	3 AÑOS	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	ovino		NEGATIVO
21	21	2 AÑOS	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	ovino		NEGATIVO
22	22	3 AÑOS	SALHUA VARGAS, Vartola	huaracco	ovino		NEGATIVO
23	23	2 AÑOS	CHAVEZ PANIHUARA, Percy	huaracco	ovino		NEGATIVO
24	24	2 AÑOS	PANIHUARA HUAYHUA, Cristina	huaracco	ovino		NEGATIVO
25	25	3 AÑOS	QUISPE JANAMPA, Marleny	huaracco	ovino		NEGATIVO
26	26	ADULT A	CHAVEZ QUISPE, Miguel angel	huaracco	ovino	Aborto	NEGATIVO
27	27	ADULT A	CHAVEZ QUISPE, Shirley	huaracco	ovino		NEGATIVO
28	28	2 AÑOS	JANAMPA QUISPE, Martina	huaracco	ovino		NEGATIVO
29	29	4 AÑOS	QUISPE FLORES, Ruben	huaracco	ovino		NEGATIVO
30	30	3 AÑOS	QUISPE JANAMPA, Vernaldo	huaracco	ovino		NEGATIVO
31	31	2 AÑOS	QUISPE FLORES, Ruben	huaracco	ovino	Aborto	NEGATIVO
32	32	2 AÑOS	JANAMPA QUISPE, Martina	huaracco	ovino		NEGATIVO
33	33	2 AÑOS	QUISPE JANAMPA, Vernaldo	huaracco	ovino		NEGATIVO

34	34	ADULT A	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	ovino		NEGATIVO
35	35	ADULT A	HUAYHUA APFATA,Natalia	huaracco	ovino		NEGATIVO
36	36	ADULT A	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	ovino		NEGATIVO
37	37	ADULT A	HUAYHUA APFATA,Natalia	huaracco	ovino		NEGATIVO
38	38	2 AÑOS	QUISPE HUAYHUA, Alex	huaracco	ovino		NEGATIVO
39	39	ADULT A	APFATA CARATE, Elena	huaracco	ovino		NEGATIVO
40	40	ADULT A	QUISPE ANCCASI, Adrian	huaracco	ovino		NEGATIVO
41	41	ADULT A	APFATA CARATE, Elena	huaracco	ovino		NEGATIVO
42	42	ADULT A	TINTAYA HUAMANI, Ricardo	huaracco	ovino		NEGATIVO
43	43	ADULT A	LLAMOCCA CCALLO, Fernando	huaracco	ovino		NEGATIVO
44	44	2 AÑOS	LLAMOCCA CCALLO, Fernando	huaracco	ovino		NEGATIVO
45	45	3 AÑOS	TINTAYA HUAYHUA, Modista	huaracco	ovino		NEGATIVO
46	46	3 AÑOS	TINTAYA HUAYHUA, Modista	huaracco	ovino		NEGATIVO
47	47	ADULT A	TINTAYA HUAYHUA, Modista	huaracco	ovino		NEGATIVO
48	48	2 años	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	ovino		NEGATIVO
49	49	1 años	FLORES CHAUCA, Sepriano	huaracco	ovino		NEGATIVO
50	50	3 años	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	ovino		NEGATIVO
51	51	4 AÑOS	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	ovino		NEGATIVO
52	52	3 AÑOS	FLORES CHAUCA, Sepriano	huaracco	ovino		NEGATIVO
53	53	3 AÑOS	QUISPE AHUATE, Julver	huaracco	ovino		NEGATIVO
54	54	4 AÑOS	QUISPE FLORES,Maximiliano	huaracco	ovino		NEGATIVO
55	55	ADULT A	AHUATE QUISPE, Reyna	huaracco	ovino		NEGATIVO

56	56	ADULT A	QUISPE FLORES, Maximiliano	huaracco	ovino		NEGATIVO
57	57	ADULT A	AHUATE QUISPE, Reyna	huaracco	ovino		NEGATIVO
58	58	ADULT A	QUISPE AFPATA, Giorgina	huaracco	ovino		NEGATIVO
59	59	ADULT A	QUISPE AFPATA, Wilfredo	huaracco	ovino		NEGATIVO
60	60	3 AÑOS	QUISPE AFPATA, Wilfredo	huaracco	ovino		NEGATIVO
61	61	5 AÑOS	QUISPE AFPATA, Giorgina	huaracco	ovino	Aborto	NEGATIVO
62	62	ADULT A	QUISPE AFPATA, Alfonso	huaracco	ovino		NEGATIVO
63	63	ADULT A	QUISPE AHUATE, Julver	huaracco	ovino		NEGATIVO
64	64	ADULT A	SALHUA CHAVEZ, Aurelio	huaracco	ovino		NEGATIVO
65	65	ADULT A	SALHUA CHAVEZ, Aurelio	huaracco	ovino		NEGATIVO
66	66	ADULT A	SALHUA CHAVEZ, Aurelio	huaracco	ovino		NEGATIVO
67	67	ADULT A	CHALLA DE SALHUA, Petrolina	huaracco	ovino	No se correo la muestra	
68	68	4 AÑOS	CHALLA DE SALHUA, Petrolina	huaracco	ovino		NEGATIVO
69	69	5 AÑOS	CHALLA DE SALHUA, Petrolina	huaracco	ovino		NEGATIVO
70	70	ADULT A	ANCCASI PANIHUARA, Orlando	huaracco	ovino		NEGATIVO
71	71	ADULT A	CHAVEZ SALHUA, Grimaldina	huaracco	ovino		NEGATIVO
72	72	ADULT A	ANCCASI PANIHUARA, Orlando	huaracco	ovino		NEGATIVO
73	73	3 AÑOS	CHAVEZ SALHUA, Grimaldina	huaracco	ovino		NEGATIVO
74	74	2 AÑOS	ANCCASI PANIHUARA, Orlando	huaracco	ovino		NEGATIVO
75	75	3 AÑOS	SALHUA PANIHUARA, Marcelo	huaracco	ovino		NEGATIVO
76	76	2 AÑOS	SALHUA CHALLA, Alejo	huaracco	ovino		NEGATIVO
77	77	ADULT A	SALHUA PANIHUARA, Marcelo	huaracco	ovino		NEGATIVO

78	78	ADULT A	SALHUA CHALLA, Alejo	huaracco	ovino		NEGATIVO
79	79	ADULT A	SALHUA CHALLA, Alejo	huaracco	ovino		NEGATIVO
80	80	ADULT A	SALHUA PANIHUARA, Marcelo	huaracco	ovino		NEGATIVO
81	81	4 AÑOS	MOTTE FLORES, Maximiliano	huaracco	ovino		NEGATIVO
82	82	5 AÑOS	MOTTE FLORES, Maximiliano	huaracco	ovino		NEGATIVO
83	83	ADULT A	TINTAYA SALHUA, Milagros	huaracco	ovino		NEGATIVO

Anexo 5. Registro de los animales y resultados a la prueba de ELISA para el virus de la diarrea viral bovina en alpacas en la Comunidad Huaracco del distrito Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco.

Nº De Orden	Nº De Muestra	CAT. O Especie	Nombre Del Propietario	Anexo	Nombre Del Animal	Observación	DVB
1	1	2 Dientes	ANCCASI SALHUA, Marleny	Huaracco	alpaca		NEGATIVO
2	2	Boca Llena	FLORES CHAUCA, Sepriano	huaracco	alpaca	aborto	NEGATIVO
3	3	4 Dientes	FLORES CHACNAMA, Amilcar pare	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
4	4	Boca Llena	FLORES CHACNAMA, Adelaida	huaracco	alpaca	Aborto	NEGATIVO
5	5	Diente De Leche	CHALLA FOLRES, Yerisa Lisbeth	huaracco	alpaca		NEGATIVO
6	6	4 Dientes	CHALLA ALCCA HUAMAN, Braulio	huaracco	alpaca		NEGATIVO
7	7	Diente De Leche	CHACNAMA ANCCASI, Martina	huaracco	alpaca		NEGATIVO
8	8	Diente De Leche	TINTAYA CHACNAMA, Yaquelin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
9	9	Diente De Leche	TINTAYA CHACNAMA, Uriel	huaracco	alpaca		NEGATIVO
10	10	4 Dientes	TINTAYA ALCCA HUAMAN, Alipio	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	

11	11	Boca Llena	LLAMOCCA CCALLO, Edwardo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
12	12	Boca Llena	SALHUA CHALLA, Rosario	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
13	13	Boca Llena	LLAMOCCA SALHUA, Rivaldo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
14	14	Boca Llena	VARGAS SANJA, Karina	huaracco	alpaca		NEGATIVO
15	15	4 Dientes	LLAMOCCA SALHUA, Maria Esabel	huaracco	alpaca		NEGATIVO
16	16	Boca Llena	CHACO NINAQUISPE, Margarita	huaracco	alpaca		NEGATIVO
17	17	4 Dientes	CHAVEZ SALHUA, Edulfunsio	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
18	18	4 Dientes	CHAVEZ CHACO, Sayda	huaracco	alpaca		NEGATIVO
19	19	Boca Llena	CHAVEZ CHACO, Jhon Alex	huaracco	alpaca	Aborto	
20	20	Boca Llena	SALHUA VARGAS, Vartola	huaracco	alpaca		NEGATIVO
21	21	Boca Llena	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	alpaca		NEGATIVO
22	22	Boca Llena	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	alpaca		NEGATIVO
23	23	Boca Llena	CHAVEZ SALHUA, Efrain	huaracco	alpaca		NEGATIVO
24	24	Boca Llena	SALHUA VARGAS, Vartola	huaracco	alpaca		NEGATIVO
25	25	Boca Llena	CHAVEZ PANIHUARA, Percy	huaracco	alpaca		NEGATIVO
26	26	Boca Llena	PANIHUARA HUAYHUA, Cristina	huaracco	alpaca		NEGATIVO
27	27	Boca Llena	QUISPE JANAMPA, Marleny	huaracco	alpaca	Aborto	NEGATIVO
28	28	Boca Llena	CHAVEZ QUISPE, Miguel angel	huaracco	alpaca		NEGATIVO
29	29	Boca Llena	CHAVEZ QUISPE, Shirley	huaracco	alpaca		NEGATIVO
30	30	2 Dientes	JANAMPA QUISPE, Martina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
31	31	Boca Llena	QUISPE FLORES, Ruben	huaracco	alpaca		NEGATIVO

32	32	Boca Llena	QUISPE JANAMPA, Vernaldo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
33	33	Boca Llena	QUISPE FLORES, Ruben	huaracco	alpaca		NEGATIVO
34	34	Diente De Leche	JANAMPA QUISPE, Martina	huaracco	alpaca		NEGATIVO
35	35	Diente De Leche	QUISPE JANAMPA, Vernaldo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
36	36	Diente De Leche	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	alpaca		NEGATIVO
37	37	Diente De Leche	HUAYHUA APFATA, Natalia	huaracco	alpaca		NEGATIVO
38	38	4 Dientes	QUISPE ANCCASI, Bernardino	huaracco	alpaca		NEGATIVO
39	39	4 Dientes	HUAYHUA APFATA, Natalia	huaracco	alpaca		NEGATIVO
40	40	Boca Llena	QUISPE HUAYHUA, Alex	huaracco	alpaca		NEGATIVO
41	41	4 Dientes	APFATA CARATE, Elena	huaracco	alpaca		NEGATIVO
42	42	4 Dientes	QUISPE ANCCASI, Adrian	huaracco	alpaca		NEGATIVO
43	43	Boca Llena	APFATA CARATE, Elena	huaracco	alpaca		NEGATIVO
44	44	2 Dientes	TINTAYA HUAMANI, Ricardo	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
45	45	4 Dientes	LLAMOCCA CCALLO, Fernando	huaracco	alpaca		NEGATIVO
46	46	Diente De Leche	LLAMOCCA CCALLO, Fernando	huaracco	alpaca		NEGATIVO
47	47	4 Dientes	TINTAYA HUAYHUA, Modista	huaracco	alpaca		NEGATIVO
48	48	4 Dientes	TINTAYA HUAYHUA, Modista	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
49	49	Diente De Leche	TINTAYA HUAYHUA, Modista	huaracco	alpaca		NEGATIVO
50	50	4 Dientes	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	alpaca		NEGATIVO
51	51	Boca Llena	FLORES CHAUCA, Sepriano	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
52	52	Diente De Leche	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
53	53	2 Dientes	ANCCASI SALHUA, Marleny	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	

54	54	4 Dientes	FLORES CHAUCA, Sepriano	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
55	55	Boca Llena	QUISPE AHUATE, Julver	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
56	56	2 Dientes	QUISPE FLORES, Maximiliano	huaracco	alpaca		NEGATIVO
57	57	Boca Llena	AHUATE QUISPE, Reyna	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
58	58	4 Dientes	QUISPE FLORES, Maximiliano	huaracco	alpaca		NEGATIVO
59	59	Boca Llena	AHUATE QUISPE, Reyna	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
60	60	Diente De Leche	QUISPE AFPATA, Giorgina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
61	61	Diente De Leche	QUISPE AFPATA, Wilfredo	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
62	62	4 Dientes	QUISPE AFPATA, Wilfredo	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
63	63	Diente De Leche	QUISPE AFPATA, Giorgina	huaracco	alpaca		NEGATIVO
64	64	4 Dientes	QUISPE AFPATA, Alfonso	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
65	65	Diente De Leche	QUISPE AHUATE, Julver	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
66	66	Boca Llena	SALHUA CHAVEZ, Aurelio	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
67	67	Diente De Leche	SALHUA CHAVEZ, Aurelio	huaracco	alpaca		NEGATIVO
68	68	2 Dientes	SALHUA CHAVEZ, Aurelio	huaracco	alpaca		NEGATIVO
69	69	Boca Llena	CHALLA DE SALHUA, Petrolina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
70	70	4 Dientes	CHALLA DE SALHUA, Petrolina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
71	71	2 Dientes	CHALLA DE SALHUA, Petrolina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
72	72	2 Dientes	ANCCASI PANIHUARA, Orlando	huaracco	alpaca		NEGATIVO
73	73	4 Dientes	CHAVEZ SALHUA, Grimaldina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
74	74	Boca Llena	ANCCASI PANIHUARA, Orlando	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
75	75	4 Dientes	CHAVEZ SALHUA, Grimaldina	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	

76	76	Diente De Leche	ANCCASI PANIHUARA, Orlando	huaracco	alpaca		NEGATIVO
77	77	4 Dientes	SALHUA PANIHUARA, Marcelo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
78	78	4 Dientes	SALHUA CHALLA, Alejo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
79	79	Diente De Leche	SALHUA PANIHUARA, Marcelo	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	
80	80	Diente De Leche	SALHUA CHALLA, Alejo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
81	81	4 Dientes	SALHUA CHALLA, Alejo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
82	82	Boca Llena	SALHUA PANIHUARA, Marcelo	huaracco	alpaca		NEGATIVO
83	83	Diente De Leche	MOTTE FLORES, Maximiliano	huaracco	alpaca		NEGATIVO
84	84	Boca Llena	MOTTE FLORES, Maximiliano	huaracco	alpaca		NEGATIVO
85	85	4 Dientes	TINTAYA SALHUA, Milagros	huaracco	alpaca		NEGATIVO
86	86	Diente De Leche	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
87	87	Boca Llena	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
88	88	Boca Llena	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
89	89	Boca Llena	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
90	90	Boca Llena	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
91	91	Boca Llena	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca		NEGATIVO
92	92	Boca Llena	ACHINQUIPA CHACO, Edwin	huaracco	alpaca	No se correo la muestra	

Anexo 6. *Cálculos para determinar la incidencia de la DVB en crianza mixta en vacunos, ovinos y alpacas en la Comunidad de Huaracco del Distrito Colquamarca, Chumbivilcas- Cusco.*

- **VACUNOS**

$$I = \frac{C}{N} \times 100$$

$$I = \frac{25}{40} \times 100$$

$$I = 62.5\%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0.625 \times 0.375}{40}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0.25}{40}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{0.005859375}$$

$$IC \pm 1.65 \times 0.0765465544619743$$

$$IC \pm 0.1263018148622576$$

$$62.5 \pm 0.13\%$$

- **OVINOS**

$$I = \frac{C}{N} \times 100$$

$$I = \frac{0}{63} \times 100$$

$$I = 0 \%$$

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0 \times 0.63}{63}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0}{63}}$$

$$IC \pm 1.65\sqrt{0}$$

$$IC \pm 1.65 \times 0$$

$$IC \pm 0$$

$$0 \pm 0\%$$

-

ALPACAS

$$I = \frac{C}{N} \times 100$$

$$I = \frac{0}{63} \times 100$$

$$I = 0 \%$$

Entonces.

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0 \times 0.63}{63}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0}{63}}$$

$$IC \pm 1.65\sqrt{0}$$

$$IC \pm 1.65 \times 0$$

$$IC \pm 0$$

$$0 \pm 0\%$$

Anexo 7. *Cálculos finales de la diarrea viral bovina en crianza mixta en vacunos, ovina y alpacas en la Comunidad Campesina de Huaracco del Distrito Colquemarca, Chumbivilcas- cusco.*

$$I = \frac{C}{N} \times 100$$

$$I = \frac{25}{166} \times 100$$

$$I = 15.06024096\%$$

$$I = 15.06\%$$

Entonces.

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{15.06 \times 84.94}{166}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0.1506 \times 0.8494}{166}}$$

$$IC \pm 1.65\sqrt{0.0007706002}$$

$$IC \pm 1.65 \times 0.0277596865976545$$

$$\mathbf{IC \pm 0.0458034828861299}$$

$$\mathbf{15.06 \pm 0.05\%}$$

Anexo 8. *Cálculos para determinar en vacunos la Seroprevalencia en prueba de PI a virus de la diarrea viral bovina en la crianza mixta en vacunos en la Comunidad campesina de Huaracco.*

$$I = \frac{C}{N} \times 100$$

$$I = \frac{4}{40} \times 100$$

$$I = 10\%$$

Entonces.

$$\mathbf{IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{10 \times 90}{40}}}$$

$$\mathbf{IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0.1 \times 0.9}{40}}}$$

$$\mathbf{IC \pm 1.65 \sqrt{0.00225}}$$

$$\mathbf{IC \pm 1.65 \times 0.0474341649}$$

$$\mathbf{IC \pm 0.07826663721}$$

$$\mathbf{10 \pm 0.078\%}$$

Anexo 9. *Cálculos para determinar en vacunos la Seroprevalencia en Reprueba de PI a virus de la diarrea viral bovina en la crianza mixta en vacunos de la Comunidad campesina de Huaracco.*

$$I = \frac{C}{N} \times 100$$

$$I = \frac{3}{40} \times 100$$

$$I = 7.5\%$$

Entonces.

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{7.5 \times 2.5}{40}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{\frac{0.075 \times 0.025}{40}}$$

$$IC \pm 1.65 \sqrt{0.000046875}$$

$$IC \pm 1.65 \times 0.02165063509$$

$$IC \pm 0.0357235479061081$$

$$7.5 \pm 0.04\%$$

Anexo 10. Ficha de trabajo en laboratorio – Área de Sanidad Animal.

NOMBRE DE PRUEBA.....
SECTOR..... DISTRITO.....
PROVINCIA.....DEPARTAMENTO.....

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												

F												
G												
H												

Fecha..... **Especie**.....

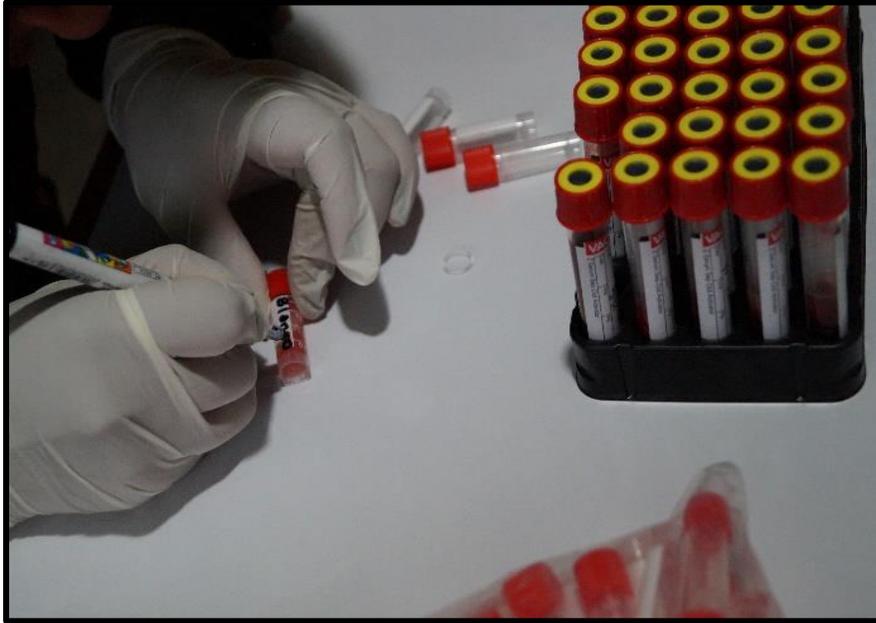
Propietario.....

Anexo 11. *Toma de muestra por endovenosa en alpacas ovinos y vacunos, en la Comunidad Campesina Huaracco distrito Colquemarca, Chumbivilcas- cusco.*





Anexo 12. *Obtención de suero sanguíneo en crioviales, para luego guardar en refrigeración hasta el momento de procesamiento.*



Anexo 13. *Kit completo para el diagnóstico de diarrea viral bovina.*

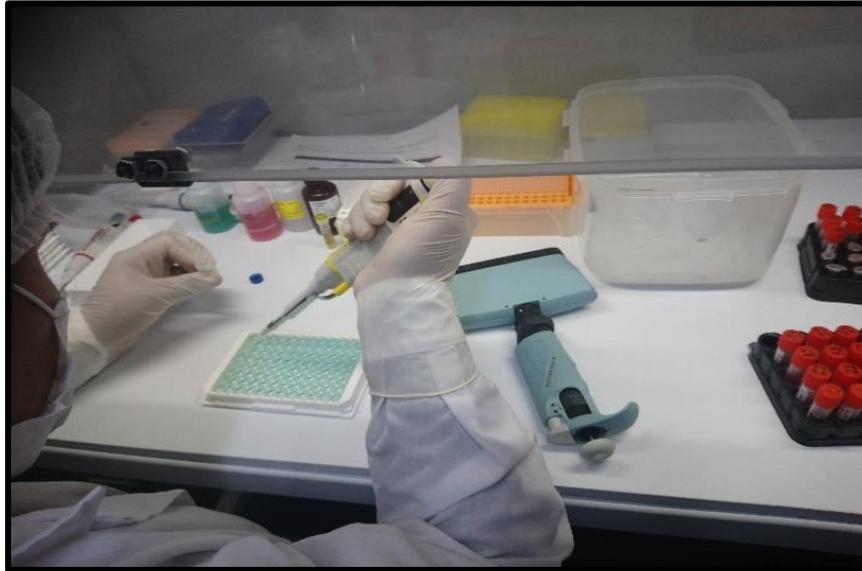




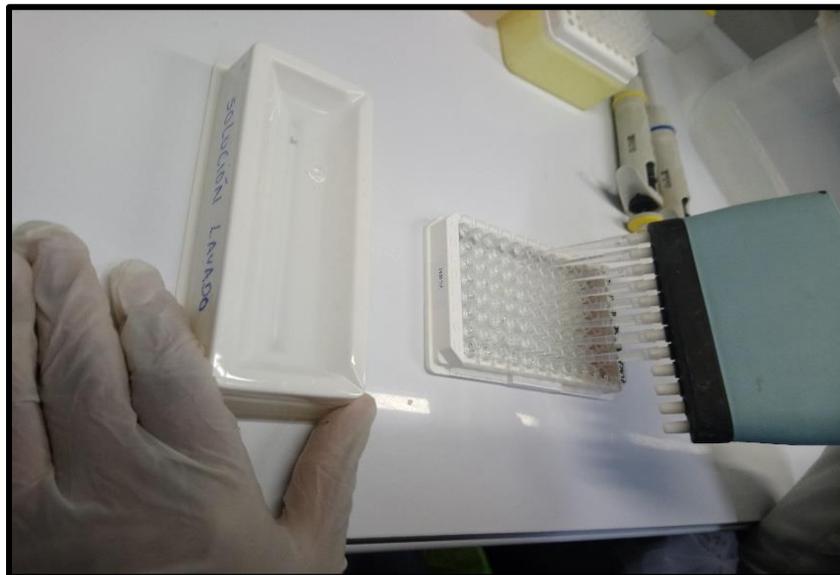
Anexo 14. *Homogeneizando las muestras y los reactivos en el vortex, listos para procesar las muestras.*



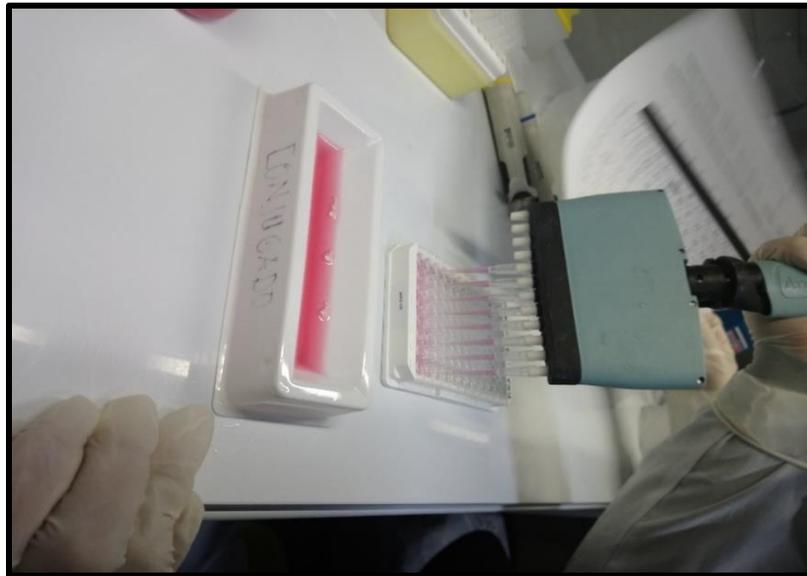
Anexo 15. Agregando las muestras de suero sanguíneo a la placa de ELISA.



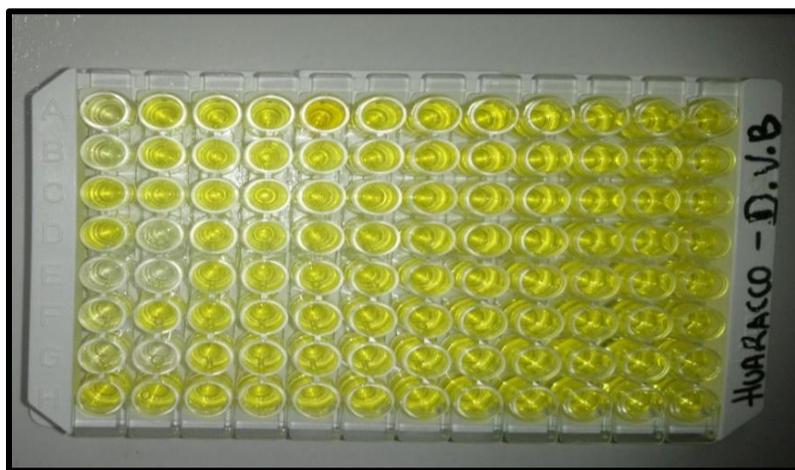
Anexo 16. Lavado de los pocillos con 300ul de solución de lavado, después de la incubación de 30 minutos 3 veces, luego se agregó 100ul de sustrato TMB n°9 en cada pocillo.



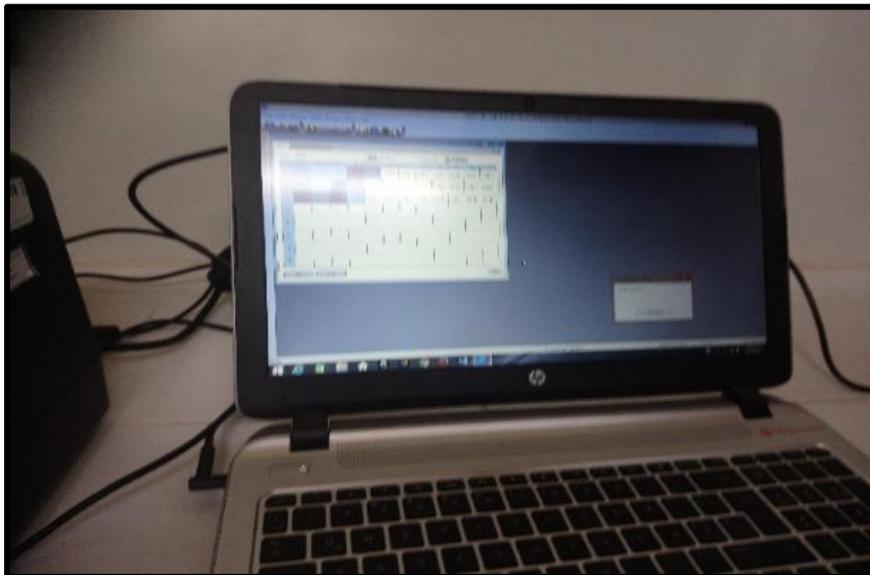
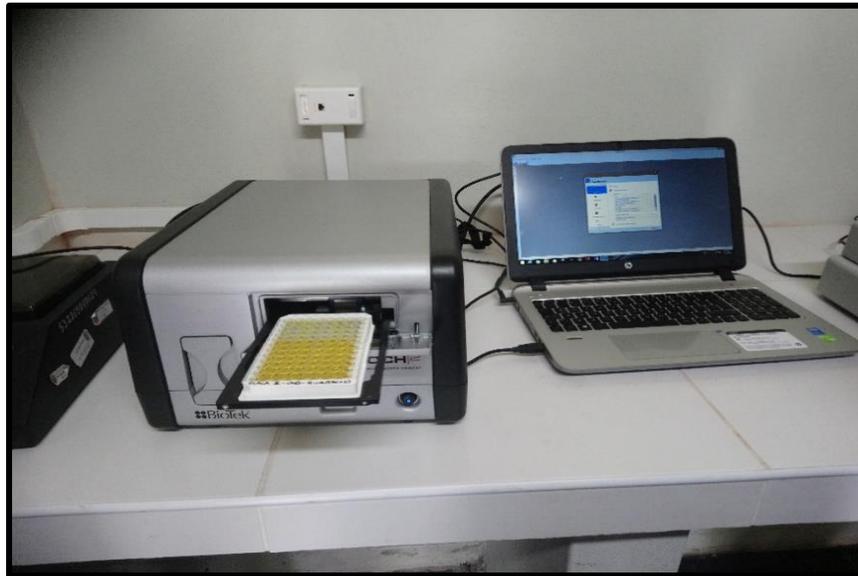
Anexo 17. Se agregó 100ul de conjugado diluido a cada pocillo, luego nuevamente se incubó 30 minutos a 26°C.



Anexo 18. Resultado cualitativo final en Placas de ELISA.



Anexo 19. Resultado final en la lectura de densidad óptica, Por el lector de microplacas.



Anexo 20. *Determinación de anticuerpos cuantitativa del grado de infección de la DVB en crianza mixta (ovinos, vacunos y alpacas) del distrito Colquamarca de la Comunidad Huaracco.*

Tabla Densidades ópticas para diarrea viral bovina en crianza mixta de ovino y vacuno (placa I)

Donde:



Control positivo.



Control negativo



Control de sueros ovinos.



Control de sueros vacunos.



Control de sueros vacunos.

A	0.129	0.972	1.069	0.906	3.664	0.969	0.97	1.082	0.917	0.909	0.949	0.979
B	0.14	0.926	0.946	0.873	0.921	0.873	0.892	0.907	0.848	0.976	0.854	0.876
C	0.988	0.773	0.918	0.871	0.854	0.824	0.887	0.776	0.846	0.911	0.945	0.977
D	1.047	0.21	0.872	0.825	0.783	0.817	0.823	0.813	0.87	0.89	0.997	0.925
E	0.174	0.134	0.914	0.78	0.824	0.831	0.872	0.839	0.877	0.893	1.053	0.885
F	0.384	0.852	0.895	0.863	0.803	0.822	0.898	0.921	0.884	1.01	0.922	0.909
G	0.344	0.153	0.852	0.754	0.757	0.746	0.827	0.917	0.88	0.951	0.928	0.892
H	1.023	0.889	0.876	0.887	0.812	0.831	0.969	0.971	0.885	0.968	0.776	0.936

Tabla De Densidades ópticas para diarrea viral bovina en crianza mixta de ovino y vacuno (placa II)

Donde:



Control positivo (+)



Control negativo (-)



Control de suero en las muestras de alpacas.



Control de suero en la muestra de vacunos.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.103	0.289	0.277	0.652	0.394	1.895	2.021	2.001	1.974	2.064	2.066	2.041
B	0.094	0.279	0.336	0.322	1.886	1.849	2.146	1.894	1.86	1.937	1.847	1.882
C	0.919	0.513	0.623	0.317	1.897	1.871	1.823	2.388	1.857	1.916	1.961	1.88
D	0.869	0.321	0.255	0.296	1.897	1.952	1.957	1.853	2.061	2.046	1.989	1.914
E	0.406	0.642	0.287	0.267	1.821	2.363	2.013	1.873	1.982	1.956	1.937	2.028
F	0.699	0.636	0.626	0.374	1.986	2.002	2.034	2.146	1.949	1.975	1.963	1.977
G	0.669	0.368	0.261	0.341	2.046	2.021	1.923	1.972	1.806	2.072	1.884	2.053
H	0.65	0.282	0.667	0.293	1.892	2.033	1.997	2.230	1.881	2.232	2.121	2.217

Tabla de Resultados del cálculo del porcentaje de inhibición (%inh) de las densidades ópticas para DVB en crianza mixta dela Comunidad de Huaracco, Distrito Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco (placa I)

POS	NEG										
87.322	4.4717	-5.0614	10.958	-260.10	4.7666	4.668	-6.339	9.8771	10.663	6.732	3.784
POS	NEG										
86.240 8	8.9926 3	7.0270 3	14.201 5	9.4840 3	14.201 5	12.334 2	10.860 0	16.658 5	4.0786 2	16.068 8	13.906 6
NEG											
2.8992 6	24.029 5	9.7788 7	14.398	16.068 8	19.017 2	12.825 6	23.734 6	16.855	10.466 8	7.1253 1	3.9803 4
NEG	POS	NEG									
-2.8993	79.361 2	14.299 8	18.918 9	23.046 7	19.705 2	19.115 5	20.098 3	14.496 3	12.530 7	2.0147 4	9.0909 1
POS	POS	NEG									
82.899 3	86.830 5	10.172	23.341 5	19.017 2	18.329 2	14.299 8	17.543	13.808 4	12.235 9	-3.4889	13.022 1
POS	NEG										
62.260 4	16.265 4	12.039 3	15.184 3	21.081 1	19.213 8	11.744 5	9.4840 3	13.120 4	0.7371	9.3857 5	10.663 4
POS	POS	NEG									
66.191 6	84.963 1	16.265 4	25.896 8	25.602	26.683	18.722 4	9.8771 5	13.513 5	6.5356 3	8.7960 7	12.334 2
NEG											
-0.5405	12.629	13.906 6	12.825 6	20.196 6	18.329 2	4.7665 8	4.5700 2	13.022 1	4.8648 6	23.734 6	8.0098 3

Tabla Resultados del cálculo del porcentaje de inhibición (%inh) de las densidades ópticas para DVB en crianza mixta dela Comunidad de Huaracco, Distrito Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco (placa II)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	POS	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	88.478	67.67	69.015	27.069	55.928	-111.96	-126.062	-123.82	-120.80	-130.87	-131.09	-128.29
B		POS	POS	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	89.485	68.79	62.41	63.98	-110.96	-106.82	-140.04	-111.85	-108.05	-116.66	-106.59	-110.51
C	NEG	NEG	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	-2.796	42.61	30.31	64.54	-112.19	-109.28	-103.91	-167.11	-107.71	-114.31	-119.35	-110.29
D	NEG	POS	POS	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	2.796	64.09	7.476	66.89	-112.19	-118.34	-118.90	-107.27	-130.53	-128.85	-122.48	-114.09
E	POS	NEGA	POS	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	54.586	28.18	67.89	70.13	-103.69	-164.31	-125.16	-109.50	-121.70	-118.79	-116.66	-126.84
F	NEG	NEG	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	21.812	28.85	29.97	58.16	-122.14	-123.93	-127.51	-140.04	-118.00	-120.91	-119.57	-121.14
J	NEG	POS	POS	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	25.16	58.83	70.80	61.85	-128.85	-126	-115.10	-120.58	-102.01	-131.76	-110.73	-129.64
H	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	27.293	68.45	25.39	67.22	-111.63	-127.40	-123.37	-149.44	-110.40	-149.66	-137.24	-147.98

ANEXO 19. Determinación cuantitativa de grado de infección en vacunos de la Comunidad de Huaracco Distrito Colquemarca, Chumbivilcas- cusco.

Tabla de Densidades ópticas para persistentemente infectados con el virus de la DVB a la reprueba Comunidad Huaracco distrito de Colquemarca, Chumbivilcas- cusco.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.625	0.482	0.575	0.351	0.438	0.391	0.212	0.589	0.194	0.313	0.229	0.344
B	0.759	0.6	0.62	0.55	0.539	0.537	0.717	0.452	0.269	0.424	0.493	0.314

- Control negativo.
- Control positivo.

- Muestras de vacunos

Tabla de resultados de cálculo del cociente M/P de las densidades ópticas de persistentemente infectado con el virus de la diarrea viral bovina a la reprobación de la Comunidad de Huaracco Distrito Colquemarca, Chumbivilcas-Cusco

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NEG	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG
A	-0.56	-0.56	0.167	-1.61	-0.91	-1.29	-2.71	0.28	-2.85	-1.91	-2.57	-1.6
B	POS	POS	POS	NEG	NEG	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
B	1.633	0.367	0.523	-0.02	-0.11	-0.13	1.29	-0.80	-2.25	-1.03	-0.48	-1.9