



Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA IBR GB X3 blocking

Rodriguez Anilema, Sofia Jacqueline

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

01 de septiembre de 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Certificación:

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA IBR GB X3 blocking**, fue realizado por la señorita: **Rodriguez Anilema, Sofia Jacqueline**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 01 de septiembre de 2023



Firmado electrónicamente por:
JORGE
WASHINGTON
RON ROMAN

Dr. Ron Román, Jorge Washington. MSc.

C.I. 1709505125

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos



Tesis_Rodriguez Sofia_VF (1).docx

Scan details

Scan time:
September 1th, 2023 at 18:32 UTC

Total Pages:
60

Total Words:
14853

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	2.1%	315
Minor Changes	1.8%	267
Paraphrased	0%	0
Omitted Words	2.9%	424

AI Content Detection



Text coverage
● AI text
○ Human text



Dr. Ron Román, Jorge Washington. MSc.

C.I. 1709505125



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de autoría:

Yo, **Rodriguez Anilema, Sofia Jacqueline**, con cédula de ciudadanía No. 1726480880 declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA IBR GB X3 blocking**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 01 de septiembre de 2023

Rodriguez Anilema, Sofia Jacqueline

C.I. 1726480880



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de publicación:

Yo, **Rodriguez Anilema, Sofia Jacqueline**, con cédula de ciudadanía No.1726480880 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA IBR GB X3 blocking** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 01 de septiembre de 2023

Rodriguez Anilema, Sofia Jacqueline

C.I. 1726480880

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a mi familia, mis padres Carmen Anilema y Orlando Rodríguez, porque ustedes son el motor de mi vida, sin ustedes no hubiera podido lograr nada de esto y nunca podré pagarles por todo lo que me han dado. Para Diego Rodríguez, hermanito logramos el sueño que nos propusimos años atrás, este año completamos un logro más, graduándonos y me alegra que sea juntos.

También quiero dedicar este trabajo a mis abuelitos que desde el cielo me brindan su guía y sus bendiciones para ser mejor cada día.

Y por último quiero dedicar mi tesis a mi tía Obdulia por ser mi segunda madre, cuidándome y apoyándome en todo momento.

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a Dios por permitirme llegar hasta aquí y por todas las bendiciones que me ha dado a lo largo de la vida.

Agradezco a mis padres por su apoyo incondicional, sus noches de desvelo y sus palabras de aliento en todo momento, porque son una guía importante para todos mis logros.

A mi hermano por ser mi mejor amigo, por su apoyo y motivación, por ser mi ejemplo a seguir y por estar conmigo siempre que lo necesito.

A mis amigos Jonathan, Jenifer, Johany, Jorge y Álvaro, por acompañarme en este trayecto de la vida y alegrarme los días con momentos de risa y complicidad. Ustedes hicieron mis días más divertidos y siempre me apoyaron cuando quería rendirme.

A mi tutor de tesis Doc. Jorge Ron Román por su guía para la realización del proyecto y por ser un ejemplo de lo que significa ser un docente de excelencia.

A la técnica del Laboratorio de Mejoramiento y Sanidad Animal, ingeniera Michelle Yugcha por su guía y acompañamiento, ya que contribuyó significativamente en el desarrollo de la investigación.

A mis compañeros de trabajo a través del proyecto de vinculación con la sociedad “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomiasis en Ecuador” y practicantes de laboratorio, por todas las tardes llenas de risas y entretenimiento que compartimos a lo largo del desarrollo de esta tesis.

A la Academia de Investigación y Enseñanza Superior (ARES) y la Universidad de Lieja Bélgica, por el financiamiento del proyecto de investigación.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y a la Carrera Agropecuaria IASA 1 por ser el epicentro de mi formación y aprendizaje superior. Mi reconocimiento se extiende a los profesores por su dedicación al enseñarnos con amor y respeto.

Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de autoría	4
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	13
Índice de figuras.....	15
Resumen.....	16
Abstract	17
CAPÍTULO I.....	18
INTRODUCCIÓN	18
Antecedentes.....	18
Justificación	19
Objetivos	20
Objetivo general.....	20
Objetivos específicos.....	20
Hipótesis	21
Hipótesis nula	21
Hipótesis de investigación	21
CAPÍTULO II.....	22
REVISIÓN DE LITERATURA.....	22

Generalidades de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina	22
Etiología.....	22
Taxonomía	23
Especies susceptibles	23
Ciclo evolutivo	23
Latencia	24
Transmisión y vectores.....	24
Patogenia y signos clínicos.....	25
Forma conjuntival	26
Forma respiratoria	26
Forma genital.....	26
Otros signos asociados a IBR	27
Diagnóstico	28
Métodos de detección indirecta	28
cELISA	28
Distribución mundial de IBR.....	29
Distribución y prevalencia de IBR en América latina	30
Distribución y prevalencia de IBR en Ecuador	31
Prevención y control de IBR.....	33
Erradicación de IBR.....	33
CAPÍTULO III.....	34
METODOLOGÍA.....	34

Contexto del proyecto BruTryp.....	34
Zona de trabajo del proyecto BruTryp.....	34
Contexto del banco de muestras serológicas del proyecto BruTryp	34
Generalidades del banco serológico	34
Parámetros de muestreo en bovinos	35
Categorización de las fincas de interés	36
Determinación del tamaño de la muestra y estrategia de submuestreo	36
Toma de muestras sanguíneas	38
Trabajo de laboratorio	38
Prueba diagnóstica utilizada.....	38
Equipos y materiales de laboratorio utilizados.....	39
Procedimiento de la prueba ELISA	40
Procedimiento de la prueba cELISA	41
Lectura de resultados	42
Interpretación de resultados	43
Análisis estadístico	44
Diseño no experimental.....	44
Operatividad de las variables	44
Medidas epidemiológicas	45
Determinación de los factores de riesgo.....	47
Determinación de la distribución geográfica	48

CAPÍTULO IV	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
Estadística descriptiva de la muestra	49
Distribución de los animales muestreados en base al tamaño de la finca.....	49
Distribución de los animales muestreados en base a la región, provincia y tamaño de la finca	50
Distribución de los animales muestreados en base al sexo.....	52
Distribución de los animales muestreados en base a la edad y sexo.....	52
Distribución de animales por raza.....	54
Prevalencia general de IBR.....	55
Prevalencia por tamaño de finca.....	56
Prevalencia por región, provincia y tamaño de la finca	58
Prevalencia en base a la provincia y el sexo	61
Prevalencia según la edad	62
Prevalencia por raza.....	64
Dependencia de variables.....	65
Medidas epidemiológicas según el sexo	66
Medidas epidemiológicas según la edad.....	67
Medidas epidemiológicas según la raza	69
Factores de riesgo.....	70
Georreferenciación	71
CAPÍTULO V	77

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	77
Conclusiones	77
Recomendaciones.....	78
Bibliografía	79

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) a nivel de Ecuador</i>	32
Tabla 2 <i>Constantes necesarias para el cálculo de la submuestra</i>	37
Tabla 3 <i>Tabla resumen del número mínimo de muestras necesarias por provincia para el estudio</i>	37
Tabla 4 <i>Interpretación de resultados del kit ELISA IBR GB X3 blocking</i>	44
Tabla 5 <i>Distribución de individuos y exposición a un factor de riesgo para calcular medidas epidemiológicas</i>	46
Tabla 6 <i>Distribución de las muestras en base al tamaño de la finca</i>	49
Tabla 7 <i>Distribución de las muestras en base a la región, provincia y tamaño de la finca</i> ...	50
Tabla 8 <i>Distribución de las muestras en base al sexo</i>	52
Tabla 9 <i>Distribución de las muestras por edad y sexo</i>	53
Tabla 10 <i>Distribución de las muestras por categorías de raza</i>	54
Tabla 11 <i>Prevalencia general de rinotraqueitis infecciosa bovina</i>	55
Tabla 12 <i>Prevalencia de IBR en función del tamaño de la finca</i>	57
Tabla 13 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la región, provincia y tamaño de la finca</i>	59
Tabla 14 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la provincia y el sexo</i>	61
Tabla 15 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la edad</i>	63
Tabla 16 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la raza</i>	64
Tabla 17 <i>Análisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio</i>	65
Tabla 18 <i>Distribución de individuos según el sexo para el cálculo de medidas epidemiológicas</i>	66
Tabla 19 <i>Distribución de individuos según la edad para el cálculo de medidas epidemiológicas</i>	67

Tabla 20 *Distribución de individuos según la raza para el cálculo de medidas*

epidemiológicas69

Índice de figuras

Figura 1 <i>Distribución mundial de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR)</i>	30
Figura 2 <i>Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal</i>	35
Figura 3 <i>Diseño de placa mantenida durante los ensayos</i>	41
Figura 4 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según el tamaño de la finca</i>	58
Figura 5 <i>Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en Ecuador</i>	60
Figura 6 <i>Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Manabí</i>	72
Figura 7 <i>Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas</i>	73
Figura 8 <i>Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Pichincha</i>	74
Figura 9 <i>Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Napo</i>	75
Figura 10 <i>Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Orellana</i>	76

Resumen

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) es causada por el *Herpesvirus* bovino tipo 1 (HVB-1), de carácter infectocontagioso. La verdadera magnitud de su prevalencia aun es limitada, lo que resalta la importancia de tener datos actualizados. Por estas razones la presente investigación se enfoca en la determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp proveniente de 5 provincias del Ecuador (Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana) mediante la aplicación del kit ELISA IBR GB X3 blocking de la casa comercial IDEXX. Se emplearon 892 muestras de suero bovino para determinar anticuerpos frente al virus HVB-1. Los resultados de esta investigación revelan que en Ecuador existe una prevalencia del 52.35%. En cuanto a la distribución regional, la costa presenta una prevalencia notablemente alta del 60.62%. Además, al considerar el tamaño de la finca, se encontró una prevalencia del 78.45%, siendo más elevada en fincas grandes. No obstante, al analizar factores como la edad, el sexo y la raza, se obtuvieron prevalencias elevadas en animales mayores de 37 meses de edad y pertenecientes a razas derivadas del género *Bos indicus*. Se concluyó que la presencia de IBR se relaciona con la edad y sexo de los animales, sin embargo, no se relaciona con la zona geográfica, tipo de finca y sexo.

Palabras clave: BOVINOS, IBR, MEDIDAS EPIDEMIOLÓGICAS, cELISA

Abstract

Bovine Infectious Rhinotracheitis (IBR) is caused by Bovine Herpesvirus type 1 (BHV-1), with an infectious and contagious nature. The true extent of its prevalence is still limited, emphasizing the importance of having up-to-date data. For these reasons, this research focuses on determining the prevalence, geographical distribution, and risk factors of bovine infectious rhinotracheitis (IBR) using a subset of samples from the biological bank of the BruTryp linkage project, originating from 5 provinces in Ecuador (Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo, and Orellana) through the application of the IDEXX commercial ELISA IBR GB X3 blocking kit. A total of 892 bovine serum samples were used to determine antibodies against the BHV-1 virus. The results of this research reveal a prevalence of 52.35% in Ecuador. Regarding regional distribution, the coastal region shows a significantly high prevalence of 60.62%. Furthermore, when considering farm size, a prevalence of 78.45% was found, with larger farms having a higher prevalence. However, when analyzing factors such as age, sex, and breed, elevated prevalences were observed in animals older than 37 months and belonging to *Bos indicus*-derived breeds. It was concluded that the presence of IBR is related to the age and sex of the animals; however, it is not related to the geographic region, farm type, or sex.

Keywords: BOVINE, IBR, EPIDEMIOLOGICAL MEASURES, cELISA

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) es una enfermedad de distribución mundial (Donoso y Ortega, 2022), causada por el virus DNA que pertenece a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae, género *Varicellovirus*, correspondiente a la especie *Herpesvirus* bovino tipo 1 (HVB-1), de carácter infectocontagioso (Jara, 2008).

Mediante técnicas serológicas realizadas por los Laboratorios Veterinarios Izquieta Pérez, Zona Norte, en el año 2004, la enfermedad IBR fue detectada en Ecuador en 41 rebaños afectados, con un total de 168 casos de una población controlada de 343 animales (Organización Mundial de Sanidad Animal [OMSA], 2023).

El HVB-1 no se considera zoonótico (OMSA, 2023), teniendo un estrecho rango de hospedadores, infectando solo al ganado vacuno, e *in vitro* a células de origen bovino. Otros alfa herpesvirus relacionados antigénicamente con el HVB-1 son el *Herpesvirus* bovino 5 causante de Meningoencefalitis en terneros, el *Herpesvirus* caprino 1 y diversos *Herpesvirus* aislados de bovinos silvestres (Álvarez, 2006). La transmisión de la enfermedad se puede dar de manera directa mediante contacto directo entre animales, e indirecta mediante el uso de semen contaminado, o a través de objetos contaminados, también conocidos como fómites (Martínez y Riveira, 2008).

La IBR se caracteriza por signos clínicos del tracto respiratorio superior, como secreción nasal (mucopurulenta, hiperemia del hocico y conjuntivitis). Los signos de enfermedad general son: fiebre, depresión, falta de apetito, abortos y reducción de la producción de leche (Martínez y Riveira, 2008). Cuando se practica el apareamiento natural, la infección genital puede provocar vulvovaginitis pustulosa o balanopostitis (OMSA, 2023).

Para diagnosticar la presencia del virus causante de IBR, se llevan a cabo una variedad de pruebas que pueden clasificarse en directas e indirectas. Las pruebas directas comprenden

métodos como el aislamiento viral, la detección de antígeno virales, la detección de ácidos nucleicos del virus, así como la detección de anticuerpos específicos (Zacarías *et al.*, 2002).

Varios estudios realizados en países sudamericanos han detectado la presencia del virus que causa la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). Argentina, Uruguay y Chile han aislado el virus de diferentes fuentes, como fetos abortados y tejidos oculares (Yari, 2022).

En Colombia también se han llevado a cabo investigaciones para determinar la prevalencia de IBR en diferentes áreas, encontrando tasas variables, como el 35,65% en hembras en Toca-Boyacá y 0,62% en Cajamarca, Perú (Torre, 2012). En México, se realizaron estudios en Veracruz y Puebla, revelando prevalencias de IBR que oscilan entre el 45% y el 96% en Veracruz, y entre el 34% y 41,2% en Puebla (Flechas *et al.*, 2022).

En Ecuador, la presencia de IBR se ha registrado desde 1976 cuando se analizaron muestras bovinas de la hacienda San Antonio en Uyumbicho-Pichincha. En 2004, pruebas serológicas en laboratorios Veterinarios Izquieta Pérez, identificaron la enfermedad en 41 rebaños, totalizando 168 casos en 343 animales controlados en el país cuyo resultado determinó una prevalencia de 48.9% (Luzuriaga, 2012).

La prevención de IBR se logra a través de programas de vacunación. En estos programas, se emplean varios tipos de vacunas, tanto convencionales como marcadas. Estas vacunas pueden ser de tipo vivo o inactivo. Es importante destacar que el uso de vacunas marcadas posibilita distinguir entre animales que han sido vacunados y aquellos que están infectados en situaciones reales. Esto resulta especialmente útil en el ámbito de la práctica veterinaria (Torre, 2012).

Justificación

En Ecuador, la carencia de una adecuada guía técnica ha llevado a que los ganaderos no cuenten con la formación necesaria acerca de las enfermedades de notificación obligatoria, como es el caso de la IBR. Esta enfermedad conlleva pérdidas tanto en términos de producción como las generadas por diagnóstico y tratamientos. La verdadera magnitud de su prevalencia

aun es limitada, lo que resalta la importancia de tener datos actualizados. Adquirir conocimiento sobre los factores de riesgo y la distribución geográfica de IBR en las tres regiones del país, permitiría reunir información esencial para desarrollar un programa adaptado, que tenga como objetivo controlar eficazmente esta enfermedad en los hatos ganaderos de Ecuador.

Dado que se dispone de sueros de ganado bovino recolectados en 5 provincias que abarcan las 3 regiones del territorio ecuatoriano continental, fue posible valorar el banco de muestras biológicas del proyecto de vinculación con la sociedad BruTryp, de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Esto permitirá determinar la prospección de la prevalencia de IBR, la identificación de cómo se distribuyen los casos geográficamente y la determinación de los factores de riesgo.

Los análisis para determinar la prevalencia de IBR fueron posibles de realizarse en una muestra específica derivada del proyecto de vinculación con la sociedad “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomiasis en Ecuador” BruTryp, de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador.

Objetivos específicos

Determinar la prevalencia de IBR de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp, provenientes de las provincias Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana, mediante la aplicación del kit ELISA - IBR GB X3 blocking de la casa comercial IDEXX.

Determinar la distribución de IBR, mediante la generación de mapas en el programa

Qgis, de puntos GPS recolectadas en el Proyecto BruTryp a través de la aplicación Epicollect5.

Determinar los factores de riesgo de IBR, mediante el análisis de encuestas epidemiológicas aplicadas a productores agropecuarios, durante la ejecución del proyecto BruTryp.

Hipótesis

Hipótesis nula

La prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina es nula o baja en la zona de muestreo constituida por las provincias de Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana.

Hipótesis de investigación

La prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina es alta en la zona de muestreo constituida por las provincias de Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina

La enfermedad rinotraqueitis infecciosa bovina, más reconocida como IBR por sus iniciales en inglés (Infectious Bovine Rhinotracheitis), fue inicialmente documentada por Richert en 1841 en Alemania. En su informe, Richert describió una enfermedad de transmisión sexual en un toro y varias vacas, conocida en ese entonces como Exantema Vesiculosum Coitale. Posteriormente, en 1955, fue nombrada oficialmente como Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (Donoso y Ortega, 2022).

Etiología

La enfermedad conocida como IBR es causada por el *Herpesvirus* bovino de Tipo 1 (HVB-1), aunque no se han registrado variantes antigénicas, se han identificado cepas con mayor capacidad patógena (Donoso y Ortega, 2022).

Las reacciones cruzadas observadas al utilizar diversos métodos de diagnóstico convencionales, pueden originarse debido a la estrecha relación entre los virus pertenecientes a la familia alfa herpesvirus. Ejemplos de estos virus incluyen el HVB-1, el *Herpesvirus* bovino tipo-2 (causante de la mamilitis bovina), el *Herpesvirus* bovino tipo-4, *Herpesvirus* bovino tipo-5 (recientemente asociado con signos neurológicos) y otros alfa herpesvirus presentes en rumiantes (Obando y Rodríguez, 2005).

Obando y Rodríguez (2005) señalan la existencia de tres subtipos diferentes de HVB-1: el respiratorio (HVB-1.1), el genital (HVB-1.2) y el neuro patogénico (HVB-1.3), aunque este último actualmente está clasificado como *Herpesvirus* bovino tipo 5 (HVB-5).

Según Betancur *et al.* (2006), se han descrito 2 subtipos de HVB-1: el HVB-1 subtipo 1 representa cepas que causan enfermedad respiratoria como IBR; mientras el subtipo 2 incluye cepas que causan enfermedad genital, como vulvovaginitis pustular infecciosa (VPI) y balanopostitis infecciosa (BPI).

Taxonomía

Según Ávila *et al.* (2008) el HVB-1, también conocido como virus del complejo rinotraqueitis infecciosa bovina o vulvovaginitis pustular infecciosa presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Familia: Herpesviridae

Subfamilia: Alphaherpesvirinae

Género: *Varicellovirus*

Especie: *Herpesvirus* bovino tipo 1

Especies susceptibles

Los alphaherpesvirus presentan un rango amplio de posibles hospederos, y alta capacidad para establecer infecciones latentes (Ávila *et al.*, 2008). El *Herpesvirus* bovino tipo 1 es un importante patógeno de los bovinos, aunque también de otras especies como caprinos, ovinos y cerdos (Donoso y Ortega, 2022).

Las infecciones experimentales y naturales pueden afectar a bovinos de todas las razas. Generalmente, estas infecciones ocurren en animales mayores de seis meses, posiblemente porque están más expuestos al agente viral (Obando y Rodríguez, 2005).

Ciclo evolutivo

La replicación de HVB-1 se produce en células epiteliales del tracto respiratorio como reproductivo y se inicia a las 2 horas post infección (Torre, 2012); la expresión de los antígenos en la superficie celular ocurre entre la hora 3 y 4 post infección, y la liberación de partículas virales y dispersión a las 8 horas post infección (Ruiz *et al.*, 2008).

El HVB-1 entra a las células por fusión de su envoltura con la membrana plasmática celular, este es un proceso independiente de pH y dependiente de la unión de glicoproteínas virales presentes en la envoltura del virus con los receptores en la membrana celular. Diversos estudios han demostrado que las diferentes glicoproteínas virales (gB, gC, gD, gE, gH, gK y gL) son requeridas en el proceso de entrada del virus a la célula (Ruiz *et al.*, 2008).

Una vez que el virus ha ingresado al núcleo de la célula, se detiene la síntesis macromolecular de la célula hospedera y comienza la replicación del ADN vírico. El genoma de los *herpesvirus* solo codifica proteínas que son esenciales para la replicación viral; el resto de los materiales son adquiridos de la célula hospedera (Torre, 2012).

El ADN viral sintetizado se ensambla en las cápsidas, y el virus adquiere su envoltura a medida que brota a través de la membrana nuclear (Torre, 2012). El virión maduro se acumula en vacuolas en el citoplasma, y es liberado mediante exocitosis o citólisis, o puede ser transferido de una célula a otra a través de los puentes intercelulares (Ruiz *et al.*, 2008).

Latencia

El HVB-1, al igual que la gran mayoría de miembros de la subfamilia *Alfaherpesvirinae*, entra en un estado de latencia que perdura a lo largo de toda la vida del hospedero en las neuronas ganglionares del sistema nervioso periférico (Ruiz *et al.*, 2008).

El virus ingresa al animal a través de la nariz, y comienza a replicarse en las membranas de la mucosa del tracto respiratorio superior, luego se desplaza a lo largo de las prolongaciones nerviosas hasta alcanzar el ganglio trigémino (Ávila *et al.*, 2008).

En el ganglio trigémino, el ADN del virus se inserta en el núcleo de la neurona del huésped, entrando en un estado de transcripción restringida, lo cual le permite evadir la respuesta inmunológica del hospedador de manera efectiva (Ruiz *et al.*, 2008).

La reactivación del virus puede ser debido a factores estresantes, ya sean de origen natural o artificial, entre estos factores se incluyen el parto, el transporte, el tratamiento con corticoides, la irradiación ultravioleta y la super infección con otros virus o microorganismo (Ávila *et al.*, 2008).

Transmisión y vectores

La transmisión del HVB-1 ocurre de manera directa por el contacto con animales infectados, que puede ser a través de secreciones respiratorias, oculares y del tracto reproductivo. Así mismo, existe la posibilidad de transmisión indirecta, la cual puede ocurrir a

través de personas o equipos (Donoso y Ortega, 2022).

La salivación de animales portadores del virus sobre el alimento y su movimiento hacia grupos de animales que no han sido infectados, representa una fuente esencial en la transmisión viral en unidades de cría (Donoso y Ortega, 2022).

El HVB-1 también puede transmitirse durante la transferencia de embriones y mediante el semen, ya sea en la monta natural o en la inseminación artificial. El ganado se presenta como la única fuente significativa de propagación viral, aunque es posible que otras especies se vean infectadas, es poco probable que contribuyan a la dispersión del virus (Ávila *et al.*, 2008).

Patogenia y signos clínicos

La duración del período de incubación varía en función del modo de infección, la virulencia, la cantidad de virus que penetra al organismo, lo cual puede ocurrir a través de la cavidad nasal, la orofaringe, ojos y tracto genital (Donoso y Ortega, 2022).

El virus se multiplica en las células epiteliales de las puertas de entrada al hospedador, lo cual provoca la aparición de los síntomas clínicos. Después de la viremia, el virus se transporta hacia los órganos donde se produce una multiplicación secundaria, este transporte se realiza a través de puentes intercelulares, así como por el sistema sanguíneo y el sistema nervioso (Donoso y Ortega, 2022).

La lesión primaria se refiere a un área de necrosis que se localiza en la membrana nasal, laríngea, de la tráquea o de la mucosa genital, siendo el resultado directo de la replicación viral y su consiguiente efecto citopático. Con el tiempo, estas lesiones pueden evolucionar y transformarse en pústulas más grandes, que se caracterizan por la presencia de infiltrados masivos de leucocitos (Ávila *et al.*, 2008).

Los signos clínicos de la enfermedad se pueden presentar a través de diferentes cuadros clínicos:

Forma conjuntival

En este contexto, es posible que la infección pueda presentarse sola o acompañada por una afectación respiratoria. Los signos observables incluyen: inflamación de la conjuntiva palpebral y la membrana nictitante, edema subconjuntival, secreción en los ojos y nariz, que puede ser inicialmente serosa y después volverse mucopurulenta, así como opacidad corneal y queratitis secundaria a la inflamación conjuntival, con o sin ulceración (Ávila *et al.*, 2008).

Forma respiratoria

El periodo de incubación del virus en el individuo varía entre 5 a 10 días, durante esta fase, es común observar una fiebre que oscila entre los 40°C a 42° C. Los síntomas más prominentes incluyen un incremento de la frecuencia respiratoria, anorexia y depresión, tos seca y persistente, exudado nasal bilateral claro, salivación exuberante; la mucosa nasal se muestra hiperémica logrando formarse membranas difteroides sobre ella. En casos más graves, estas membranas pueden secarse y llegar a incrustarse en la zona nasal (Ávila *et al.*, 2008).

Según Obando y Rodríguez (2005), el virus afecta principalmente el tracto respiratorio superior, ocasionando rinitis, traqueítis, fiebre, y conjuntivitis, estas infecciones pueden hacerse severas, incluso llegar a ocasionar neumonía, como consecuencia de coinfecciones con otros virus respiratorios o bacterias secundarias.

En vacas preñadas, pueden presentarse reabsorciones embrionarias y abortos a partir de 3 a 6 semanas después de iniciada la infección. Los abortos suelen ocurrir en animales durante el 5to y 8vo mes de gestación (Obando y Rodríguez, 2005).

Forma genital

Los signos más frecuentes son la vulvovaginitis postular, en la que la mucosa de la vulva muestra una apariencia hiperémica con zonas puntiformes de color rojo oscuro, posteriormente, se pueden observar la formación de nódulos, vesículas y pústulas en estas áreas. La vulva también puede presentar edema y ocasionalmente puede visualizarse úlceras.

En el caso de los machos, puede desarrollarse balanopostitis (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación [MAPA], 2020).

Por lo general, el exudado mucopurulento del tracto respiratorio superior no suele presentar mal olor. Los animales enfermos muestran síntomas de fiebre, una disminución en el apetito y una reducción en la producción de leche. En las hembras gestantes, también se pueden observar casos de abortos (MAPA, 2020)

Según Obando y Rodríguez (2005), en la forma genital de la infección, la cual se produce como resultado del coito entre un animal susceptible al HVB-1 y otro que está infectado con el virus de IBR, es posible observar la aparición de dos tipos de afecciones:

- 1) La Vulvovaginitis Pustular Infecciosa (IPV) en hembras
- 2) La Balanopostitis Pustular Infecciosa (IPB) en machos

Los síntomas de IPV y IPB suelen manifestarse en un periodo de 1 a 3 días después de la copula.

Un análisis visual detallado del animal, revela la presencia de edema, enrojecimiento y pequeñas pústulas en la mucosa de la vulva en hembras, o en el pene en machos, pudiendo estar acompañadas en algunos casos por una secreción mucopurulenta. La fase aguda de esta infección tiene una duración de alrededor de 2 a 4 días, mientras que las lesiones presentes tienden a sanar en un lapso de 10 a 14 días a partir del inicio de la enfermedad (Obando y Rodríguez, 2005).

Otros signos asociados a IBR

La enfermedad también puede manifestarse de diversas maneras, incluyendo afectaciones en el sistema nervioso. IBR se encuentra asociado a casos de meningoencefalitis, principalmente en terneros menores de 6 meses de edad, los cuales exhiben síntomas como ataxia, movimientos frenéticos, salivación profusa, rechinar de dientes, postración e incluso pueden llegar a la muerte (Jara, 2008). Por otro lado, en su forma digestiva, la enfermedad impacta principalmente a terneros de 1 a 3 semanas de edad, los síntomas incluyen fiebre,

dificultad respiratoria y diarrea. Además, se observan lesiones necróticas de color blanco que aparecen en la mucosa del tracto digestivo (Jara, 2008).

Diagnóstico

El diagnóstico clínico de IBR no es sencillo, en virtud de la presencia de otras patologías que manifiestan síntomas clínicos similares. No obstante, es posible sospechar de esta enfermedad en casos en los que se evidencien afectaciones en el tracto respiratorio superior, acompañadas de un índice de morbilidad moderado a elevado y una tasa de mortalidad reducida, también se pueden observar complicaciones en términos de fertilidad, así como incidencias de reabsorción embrionaria y abortos (Obando y Rodríguez, 2005).

Métodos de detección indirecta

El fundamento de las pruebas de detección indirecta se basa en la detección de anticuerpos específicos contra el HVB-1. Por lo general, se utilizan dos métodos principales para llevar a cabo esta detección: la seroneutralización (SN) y el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Estos métodos son reconocidos a nivel internacional como pruebas de referencia debido a su alta sensibilidad y especificidad, por esta razón, son ampliamente empleados en los laboratorios de diagnóstico (Obando y Rodríguez, 2005).

cELISA

Los ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), se fundamentan en la capacidad que posee un anticuerpo ligado a una enzima de oxidación, para detectar un antígeno adherido a la superficie de una placa de ensayo. Cuando el anticuerpo está presente, se forma el complejo antígeno-anticuerpo. En este proceso, las enzimas permanecen sin ser eliminadas y desencadenan una reacción con un cromógeno, lo cual provoca un cambio de color. Este cambio cromático se cuantifica mediante un lector específico para ELISA (Osorio, 2022).

La prueba de ELISA competitivo (cELISA), es una variante donde la presencia y la cantidad de un antígeno presente en una muestra analizada, se determinan por su capacidad

para competir con un antígeno de referencia marcado para unión a un anticuerpo fijo en una placa (Guzmán, 2004).

Durante la incubación en una prueba cELISA, se observa que las muestras con alto contenido de antígeno dan como resultado que el antígeno no marcado se une en mayores cantidades que el antígeno conjugado. En consecuencia, cuando se introduce sustrato cromogénico en el ensayo para generar color, las muestras con una concentración elevada de antígeno exhiben una señal más tenue o nula, en contraste con las muestras que presentan una baja concentración de antígeno. En las pruebas cELISA existe una correlación inversa entre la concentración de antígeno en la muestra y el desarrollo de color en el ensayo (Guzmán, 2004).

La prueba cELISA, se destaca como uno de los escasos métodos disponibles para cuantificar la cantidad de antígenos de bajo peso molecular que cuentan con un número limitado de epítopes o sitios de unión a anticuerpos. Esta técnica es especialmente relevante para la detección y estimación precisa de moléculas pequeñas y otros antígenos con características similares (Guzmán, 2004).

Distribución mundial de IBR

La rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), se posiciona como una de las principales causas de infertilidad y aborto en el ganado vacuno, a la par de provocar una notable merma en la producción de carne y leche. La mayoría de los casos se han diagnosticado en América, África y Europa, donde la detección de la enfermedad ha sido más elevada, acarreando considerables pérdidas económicas (Flechas *et al.*, 2022).

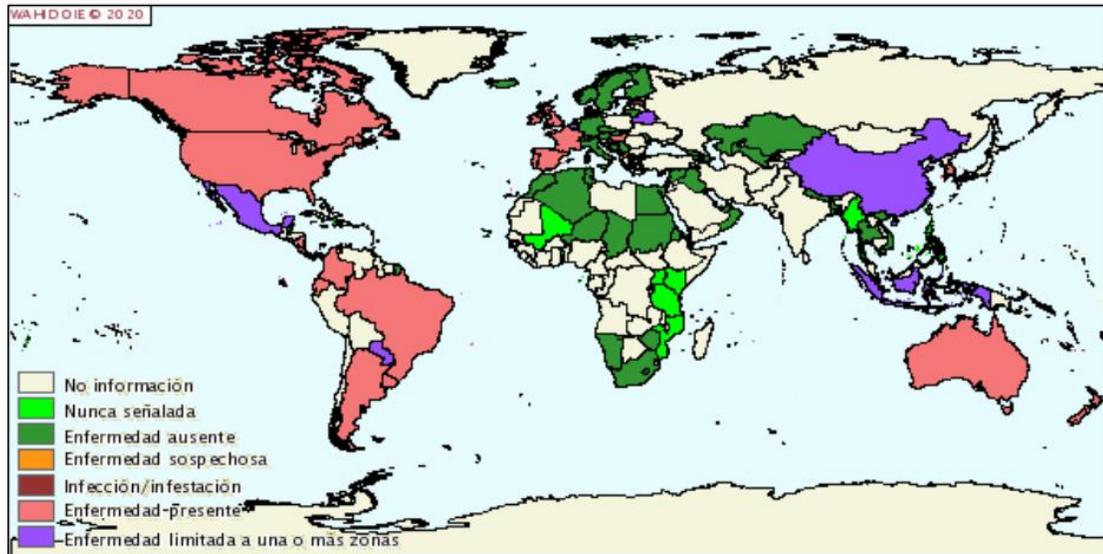
Las pérdidas económicas generadas por IBR, se originan tanto en los costos asociados al cuidado, diagnóstico y tratamiento de los animales infectados, como en los gastos vinculados a los planes nacionales implementados para controlar su propagación (Flechas *et al.*, 2022).

En la actualidad, en Europa se está observando una creciente tendencia hacia la erradicación de IBR. Oficialmente, Suiza, Dinamarca, Noruega, Suecia y Finlandia han sido

declarados libres de esta enfermedad, además, países como Francia, Alemania, Irlanda, Holanda, República Checa y Hungría han implementado planes con el objetivo de erradicarla (Flechas *et al.*, 2022).

Figura 1

Distribución mundial de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).



Nota. Mapa de la distribución a nivel mundial de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), causada por *Herpesvirus* bovino de Tipo 1 (HVB-1) en el año 2019. Recuperado de (MAPA, 2020).

Distribución y prevalencia de IBR en América latina

Varios estudios llevados a cabo en países sudamericanos, han evidenciado la presencia del virus causante de IBR. Entre los países más afectados se destaca Argentina, donde en el año de 1972 se logró aislar el virus de IBR a partir de fetos abortados y de un carcinoma ocular. En 1981, en Uruguay, este virus fue aislado del prepucio de un bovino sano, en tanto que, en 1982 en Chile, se aisló el virus a partir de fetos abortados (Yari, 2022).

En países como Colombia, se llevan a cabo investigaciones exhaustivas con el objetivo de conocer la prevalencia de IBR en diferentes municipios del país, por ejemplo, en el año 2012, en Toca-Boyacá, se determinó que la prevalencia de IBR fue de 35,65 % en un grupo de

80 hembras. Por lo contrario, según Cuadros *et al.* (2021) en Cajamarca (Perú), se estudiaron 480 animales y se determinó una prevalencia del 0,62 %. Estos estudios reflejan el esfuerzo contante por comprender la situación de la enfermedad en distintas regiones y poblaciones (Torre, 2012).

De manera similar, en Veracruz (México), se llevó a cabo un estudio en hembras bovinas que determinó una prevalencia de IBR entre el 45% y 96%. Por otro lado, en el estado de Puebla, se encontraron prevalencias de IBR en vacas de producción que oscilaron entre el 34 % hasta 41.2%. En conjunto, estos estudios reportaron una prevalencia promedio de 40.1% en todo México (Flechas *et al.*, 2022).

Distribución y prevalencia de IBR en Ecuador

En Ecuador, la presencia de IBR ha sido reportado desde el año de 1976, cuando se estudiaron 4 muestras bovinas procedentes de la hacienda San Antonio en Uyumbicho-Pichincha. Estas muestras fueron analizadas en la Universidad de Kentucky, y de las cuales 3 sueros resultaron positivos a la enfermedad, con lo que se determinó una prevalencia del 75% (Luzuriaga, 2012).

Las pruebas serológicas llevadas a cabo en el año 2004 por los laboratorios Veterinarios Izquieta Pérez, arrojaron como resultado la detección de la enfermedad en 41 rebaños. Esto se tradujo en un total de 168 casos dentro de una población controlada de 343 animales en el país obteniendo una prevalencia de 48.9% (Luzuriaga, 2012).

No existe información oficial por parte de instituciones como la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonitario (AGROCALIDAD), sin embargo, gracias a las investigaciones realizadas por parte de las universidades de Ecuador, se han logrado recopilar datos que se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1*Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) a nivel de Ecuador*

Año	Autor	Provincia	Cantón	N	n (+)	Método de diagnóstico	P (%)
2008	Jara,2008	Loja	Loja	734	104	iELISA	14.17
			Catamayo				
			Saraguro				
			Chaguarpamba				
			Olmedo				
			Zapotillo				
			Celica				
			Espindola				
			Pindal				
			Calvas				
			Gonzanamá				
			Sozoranga				
			Puyango				
			Paltas				
			Quilanga				
			Macará				
2012	Luzuriaga, 2012	Loja	Quilanga	200	9	iELISA	4.5
2012	Torre, 2012	Manabí	Chone	430	135	iELISA	31.4
2018	Balarezo y Poveda, 2018	Bolívar	Guaranda	552	148	iELISA	26.81
2021	Narváez y Sangucho, 2021	Tungurahua	Píllaro	500	260	iELISA	52
2022	Yari, 2022	Morona Santiago	Morona	158	37	cELISA	23.4

Nota. iELISA: ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima indirecto; cELISA: ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima competitivo; P: prevalencia; N: número de animales muestreados; n (+): número de animales positivos; %: porcentaje. Autoría propia

Prevención y control de IBR

La efectividad en el control y prevención del HVB-1, radica en la implementación de medidas higiénicas adecuadas en la granja. Es fundamental asegurarse de que solo se introduzca en el rebaño, ganado que haya resultado negativo en las pruebas serológicas para el HVB-1, y después de haber pasado por un período de cuarentena (Ávila *et al.*, 2008).

Ante una alta incidencia de la enfermedad en un predio, es esencial tomar medidas de control de manera rápida y efectiva, entre las cuales destaca la aplicación de la inmunización activa. En este contexto, se han utilizado diversas estrategias vacunales, incluyendo vacunas vivas atenuadas e inactivadas (Ávila *et al.*, 2008).

La vacunación demuestra su capacidad para reducir la severidad de la enfermedad, disminuir la replicación viral y limitar la transmisión de la misma. Es importante tener en cuenta que, aunque la vacunación no puede prevenir la infección en su totalidad, ni evitar la latencia del agente patógeno, tampoco proporciona protección contra la reactivación de la infección (Ávila *et al.*, 2008).

Erradicación de IBR

La ejecución de programas de erradicación únicamente se lleva a cabo en países que cuentan con políticas adecuadas y sistemas de explotación desarrollados, que permiten el control y erradicación de este tipo de enfermedades tales como Estados Unidos, Alemania, Australia y Reino Unido (Jara, 2008).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

Contexto del proyecto BruTryp

El proyecto, “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomiasis en Ecuador”, es un proyecto de vinculación con la sociedad e investigación, el mismo que cuenta con el respaldo financiero de la Academia de Investigación y Enseñanza Superior ARES de Bélgica, y la Universidad de Lieja de Bélgica.

Con la finalidad de valorar el banco de muestras biológicas existente en el Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal, de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, especialmente las muestras de suero sanguíneo de bovinos recolectados en las 3 regiones del territorio continental del Ecuador, dentro del proyecto BruTryp, se propuso la realización de la presente investigación sobre Rinotraqueitis Infecciosa bovina.

Zona de trabajo del proyecto BruTryp

Se consideró como zona de trabajo del proyecto BruTryp, a 5 provincias del Ecuador de las diferentes regiones, en las cuales se seleccionó Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas de la región costa; Pichincha de la región Sierra; Napo y Orellana correspondientes a la región Amazónica.

Contexto del banco de muestras serológicas del proyecto BruTryp

Generalidades del banco serológico

A la fecha de realización de la presente investigación, el banco serológico del proyecto BruTryp cuenta con un total de 4683 muestras, de las cuales 1439 son muestras provenientes de fincas ubicadas en Manabí, 267 provenientes de Santo Domingo de los Tsáchilas, 2097 provenientes de Pichincha, 412 provenientes de Napo y 468 provenientes de Orellana.

Las muestras del banco serológico se conservan mediante congelación a -20°C en el Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal, ubicado en la hacienda El Prado

IASA 1, situado en la parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha, el cual ha sido el epicentro de todas las actividades llevadas a cabo en el transcurso de la presente investigación.

Figura 2

Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal



Nota. Adaptado de Google Earth (2023).

Parámetros de muestreo en bovinos

Se muestrearon bovinos provenientes de las 5 provincias del Ecuador del área de interés del proyecto BruTryp, los animales muestreados presentaron edades mayores a 6 meses con la finalidad de evitar reacciones cruzadas por anticuerpos vacunales contra brucelosis.

Categorización de las fincas de interés

Las fincas muestreadas se clasificaron según el número de animales presentes considerándose así: fincas pequeñas si contenían de 1 a 20 animales, fincas medianas si poseían entre 21 y 70 animales, finca grande las que tenían más de 70 animales.

Determinación del tamaño de la muestra y estrategia de submuestreo

Para el presente estudio, debido a las limitaciones económicas, se realizó un submuestreo aleatorio estratificado mediante la utilización de la fórmula 1; de las muestras recolectadas con asignación proporcional al tamaño del estrato en base a las diferentes provincias de Ecuador, tal como se presenta en la Tabla 2 y 3.

Fórmula 1: Asignación proporcional al tamaño del estrato

$$n_{\pi}(1 - \alpha) = \frac{Nz_{1-\alpha/2}^2 \sum_{i=1}^k N_i s_{\pi i}^2}{D_{\pi}}; \omega_i = N_i/N$$

Donde:

$$D_{\pi} = E^2_{\pi} N^2 + z^2_{1-\alpha/2} \sum_{i=1}^k N_i s^2_{\pi i}$$

$s^2_{\pi i} = p_i(1 - p_i)$ varianza muestral de la proporción en el estrato i

N= tamaño poblacional total

N_i = tamaño muestral

n_i = número mínimo de animales por provincia para el estudio

p_i = prevalencia estimada por provincia (criterio de varianza máxima)

ω_i = peso muestral del estrato

Tabla 2*Constantes necesarias para el cálculo de la submuestra*

Constantes	Valores a reemplazar
N	4683
NdC	96,77%
$z_{1-\alpha/2}$	2,1406
E_{π}	0,032

Nota. N: tamaño poblacional total; NdC: nivel de confianza; $z_{1-\alpha/2}$: cuantil de orden $1 - \alpha/2$; E_{π} : error de muestreo. Autoría propia

Tabla 3*Tabla resumen del número mínimo de muestras necesarias por provincia para el estudio.*

Provincia	Estrato "i" (provincias)	N _i	p _i	ω _i	s _{π_i} ²	N _i s _{π_i} ²	n _i
Manabí	1	1439	0,5	0,307	0,25	359,75	274
Santo domingo de los Tsáchilas	2	267	0,5	0,057	0,25	66,75	51
Pichincha	3	2097	0,5	0,447	0,25	524,25	399
Napo	4	412	0,5	0,087	0,25	103	79
Orellana	5	468	0,5	0,099	0,25	117	89
Total		4683		1		1170,75	892

Nota. N_i: tamaño muestral; p_i: prevalencia estimada por provincia; ω_i: peso muestral del estrato; s_{π_i}²: varianza muestral de la proporción en el estrato i; n_i: número mínimo de animales por provincia para el estudio. Autoría Propia

Posterior al proceso de aleatorización se obtuvo un total de 892 muestras de las cuales 274 pertenecen a Manabí, 51 muestras de Santo Domingo de los Tsáchilas, 399 muestras de

Pichincha, 79 muestras de Napo y 89 muestras de Orellana; estos valores cumplieron con los tamaños mínimos de muestras calculados según los estratos establecidos.

Toma de muestras sanguíneas

Las muestras de sangre recolectadas durante la fase de campo del proyecto BruTryp, fueron obtenidas a partir de la vena caudal o coccígea del bovino. Para este procedimiento se utilizó agujas Vacutainer calibre 21 instaladas en un capuchón, tubos con tapa roja (sin anticoagulante) y alcohol al 70%. Después de inmovilizar al animal y manteniéndolo de pie, se levantó la cola en posición horizontal para limpiar la zona ventral de la cola del bovino, hasta la 7ma vértebra y ubicar el área de punción entre las vértebras coccígeas 6-7. Se obtuvieron alrededor de 10 mL de sangre en tubos tapa roja, los cuales fueron almacenados en una caja térmica por máximo 4 horas, para la posterior obtención del suero.

Trabajo de laboratorio

Para la realización de la prueba diagnóstica Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), primero se verificó la existencia de los sueros sanguíneos correspondientes al sub muestreo en el banco de muestras biológicas del proyecto BruTryp, y se comprobó la existencia de la cantidad requerida correspondiente a 50 µL de suero por cada muestra; en el caso de no presentar la cantidad suficiente se procedió a tomar la siguiente muestra.

Prueba diagnóstica utilizada

Se realizó un ensayo cELISA, para lo cual se utilizó el kit comercial Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (BHV-1) gB Antibody Test kit IBR gB X3; proveniente de la casa comercial IDEXX.

El kit ELISA usado en la presente investigación correspondió a los lotes AD871 y AD751, con fecha de caducidad el día 11 de octubre del año 2023; cada kit contenía los siguientes elementos:

Placa tapizada con antígeno BHV-1 de 96 pocillos

Control positivo

Control negativo

Conjugado

Substrato TMB n°12

Substrato de parada n°3

Solución de lavado concentrada (10 X)

Equipos y materiales de laboratorio utilizados

Los equipos utilizados para la realización de la prueba de diagnóstico cELISA fueron:

Incubadora de placas (Awareness technology inc- Star fax 2200)

Lector de ELISA (Awareness technology inc)

Lavador de placas (Stat Fax-2600)

Vórtex (Mixer)

Micropipetas de 0.1 a 1000 μ L (Boeco Germany)

Pipeta Multicanal (30-300 μ L)

Centrifuga (Spinplus- Topscien)

Autoclave

Los equipos antes mencionados, fueron calibrados y verificados antes de realizar la prueba diagnóstica para minimizar las posibles fuentes de error que pudieran alterar los resultados; con la misma finalidad; todos los materiales utilizados fueron desinfectados con alcohol al 70%, y auto clavados en donde fueron sometidos a una presión de 15 PSI a 120°C durante un periodo de 30 minutos, para evitar contaminaciones en la prueba, los principales recursos que se emplearon fueron:

Puntas de micropipetas de 0.1 a 1000 μ L

Canaletas

Todos los insumos utilizados para la realización de la prueba fueron nuevos para evitar contaminaciones, entre los cuales se ocupó:

Probetas graduadas

Cubiertas de placas (nunc)

Alcohol 70%

Guantes de nitrilo

Jabón neutro

Procedimiento de la prueba ELISA

Preparación de muestras. Las muestras usadas previamente seleccionadas fueron extraídas del congelador en gradillas y colocadas en el refrigerador a 4°C el día previo a la realización de la prueba ELISA, con la finalidad de asegurar una correcta descongelación del material biológico.

Preparación de la solución de lavado. La solución de lavado concentrada (10x) se mantuvo a 18-26°C antes de su utilización y fue agitada para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. Esta solución fue diluida 1/10 con agua destilada/desionizada antes de emplearla; preparándose en condiciones estériles, la solución de lavado se almacenó durante una semana a 2-8°C (IDEXX, 2018).

Diseño de la placa. La placa de ELISA cuenta con 96 pocillos, distribuidos en 8 filas (A... H) y 12 columnas (1...12), el control positivo se colocó en los pocillos A1 y B1, el control negativo se colocó en los pocillos C1 y D1, en el resto de los pocillos se colocó los sueros a investigar. (Figura 3)

Figura 3

Diseño de placa mantenida durante los ensayos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP											
B	CP											
C	CN											
D	CN											
E	M1											...
F	M2											M90
G	M3											M91
H											M92

Nota. CP: control positivo por duplicado; CN: control negativo por duplicado; M1...M92: muestras a analizar. Autoría propia

Procedimiento de la prueba cELISA

Siguiendo el inserto del kit, IDEXX (2018), se dejó que todos los reactivos adquieran una temperatura de 18-26 °C antes de usarlos. Los reactivos fueron mezclados invirtiéndolos o agitándolos suavemente.

Se realizó el diseño de la placa donde se registró la posición de cada suero en la placa tapizada con antígeno, seguido de esto se dispensó 50 µL de solución de lavado en cada pocillo mediante una micropipeta multicanal (30-300 µL).

Posteriormente se dispensó 50 µL de control positivo (CP) en dos pocillos siendo A1 y B1 y se realizó el mismo procedimiento con el control negativo (CN) con los pocillos siguientes C1 y D1, en el resto de la placa se dispensó 50 µL de las muestras a analizar, todas estas siendo colocadas con una micropipeta, el contenido de los pocillos fue homogenizado mediante un agitador de placas de micro titulación a velocidad débil, durante 1 minuto.

Después de la homogeneización, se selló firmemente la placa con cubiertas plásticas

adhesivas. A continuación, la placa fue incubada durante un periodo de 2 horas (± 5 min) a $+ 37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$). Este proceso de incubación se llevó a cabo en el incubador de placas de la marca Awareness technology inc- Star fax 2200.

Transcurrido el tiempo de incubación (2 horas), se colocó la placa en el lavador de placas (Star fax – 2600) con la solución de lavado y se lavó 5 veces, con 300 μL de la solución; después del lavado final se dio pequeños golpes a la placa sobre un papel absorbente para asegurar que se eliminó todo el fluido de lavado residual de los pocillos.

Posteriormente, se dispensó 100 μL de conjugado en cada pocillo utilizando una micropipeta multicanal, se cubrió la placa con una cubierta plástica adhesiva de la marca nunc y se incubó durante 1 hora (± 5 min) a 26°C ; una vez finalizado el tiempo de incubación se eliminó el contenido de cada pocillo en el lavador de placas (Star fax – 2600) y se repitió el lavado de la placa 5 veces con 300 μL de la solución. Una vez concluido el último lavado, se eliminó el fluido residual de cada placa mediante pequeños golpes sobre material absorbente.

Finalmente se dispensó 100 μL de sustrato TMB n.º12 en cada pocillo, se incubó la placa durante 10 minutos (± 1 min) a 26°C en obscuridad, finalizado el tiempo de incubación de manera inmediata se dispensó 100 μL de solución de parada n.º3 en cada pocillo. Una vez colocado el reactivo de parada se realizó la lectura de cada muestra en el lector de placas (Awareness technology inc) a una densidad óptica de 450 nm.

Lectura de resultados

Se aplicó las siguientes fórmulas para la verificación de la eficacia de los controles usados en la prueba de diagnóstico ELISA:

- Controles negativos

$$\text{CN}\bar{X} = \frac{\text{CN 1} + \text{CN 2}}{2}$$

Donde:

$\text{CN}\bar{X}$: Promedio del resultado de absorbancia de los dos controles negativos

CN 1: Resultado de absorbancia del control negativo en el pocillo 1 con lectura a 450 nm

CN 2: Resultado de absorbancia del control negativo en el pocillo 2 con lectura a 450 nm

- Controles positivos

$$CP\bar{X} = \frac{CP\ 1 + CP\ 2}{2}$$

Donde:

CP \bar{X} : Promedio del resultado de absorbancia de los dos controles positivos

CP 1: Resultado de absorbancia del control positivo en el pocillo 1 con lectura a 450 nm

CP 2: Resultado de absorbancia del control positivo en el pocillo 2 con lectura a 450 nm

Los criterios de validación según la casa comercial IDEXX, (2018) fueron:

$$CN\bar{X} \geq 0,500\ DO$$

$$CP\bar{X}\ \%Bloqueo > 80\ DO$$

Donde:

DO: Densidad óptica

Interpretación de resultados

Se calculó el porcentaje de bloqueo de cada muestra procesada mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ bloqueo} = 100 * \frac{CN\bar{X} + \text{Muestra}}{CN\bar{X}}$$

Donde:

% bloqueo: porcentaje de bloqueo

CN \bar{X} : Promedio del resultado de absorbancia de los dos controles negativos

Muestra: Resultado de la absorbancia de la muestra a investigar

La presencia o ausencia de anticuerpos frente a IBR-gB en la muestra se determinó mediante el porcentaje de bloqueo de cada muestra (IDEXX, 2018).

Para la interpretación de resultados se consideró el siguiente criterio proporcionado en el inserto del kit ELISA IBR GB X3 blocking.

Tabla 4

Interpretación de resultados del kit ELISA IBR GB X3 blocking.

% de Bloqueo	Interpretación
% de bloqueo < 45	Negativo
$45 \leq$ % de bloqueo < 55	Dudoso
% de bloqueo \geq 55	Positivo

Nota. %: porcentaje; <: menor que; \leq :menor o igual que; \geq

: mayor o igual que. Obtenido de (IDEXX, 2018).

Análisis estadístico

Diseño no experimental

Determinación de la prevalencia. Para la determinación de la prevalencia se analizaron los resultados obtenidos de la prueba de diagnóstico cELISA, considerando a los animales positivos y negativos sobre el total del número de muestras por cada provincia de estudio (n=5).

Cálculo de la prevalencia:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de animales muestreados positivos}}{\text{Número total de animales muestreados}} * 100$$

La prevalencia fue descrita en función de las siguientes variables: zona geográfica (costa, sierra y oriente), provincia (Manabí, Santo domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana); tipos de finca (grandes, medianas y pequeñas), sexo (macho y hembra), edad (grupos etarios: para hembras en terneras, vaconas fiero, vaconas vientre y hembras adultas; para machos en, terneros, toretes, toros jóvenes y toros adultos), así como la prevalencia general.

Operatividad de las variables

Raza. Variable nominal, que se mide mediante registros de los ganaderos y pasaportes de los animales. Las categorías estudiadas en esta variable fueron: Indicus, Taurus, Indicus x Taurus.

Sexo. Variable binomial, se determinó mediante registro de los ganaderos. Las categorías en esta variable fueron: machos (M) y hembras (H).

Edad. Variable cuantitativa discreta, medida en meses mediante los registros de los ganaderos y pasaporte de los animales. Esta variable se clasificó en grupos etarios de la siguiente manera: para hembras de 1 a 9 meses con el nombre de terneras (1er grupo), vaconas fiero de 10 a 18 meses (2do grupo), vaconas vientre de 19 a 36 meses (3er grupo) y hembras adultas de 37 a 180 meses (4to grupo). En el caso de los machos se clasificaron con los mismos rangos de edad, terneros de 1 a 9 meses (1er grupo), toretes de 10 a 18 meses (2do grupo), toros jóvenes de 19 a 36 meses (3er grupo) y toros adultos de 37 a 180 meses (4to grupo) (Osorio, 2022).

Zona geográfica. Variable nominal, se consideró la ubicación de las fincas según provincia (Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo, Orellana) y región (costa, sierra, oriente).

Categorización de las fincas. Se ordenó a las fincas según el tamaño, para lo cual se tomó en cuenta el número de animales que tenía cada finca, de esta manera se clasificó como fincas pequeñas aquellas que contenían entre 1 y 20 bovinos, como fincas medianas entre 21 y 70 bovinos y como fincas grandes aquellas que contenían más de 70 bovinos (Paucar *et al.*, 2021).

Medidas epidemiológicas

Al considerarse un estudio de cohorte debido a que la prevalencia de la enfermedad es superior al 10%, se calculó las medidas epidemiológicas: riesgo relativo, riesgo atribuible, fracción etiológica de exposición a nivel de población, a partir de los resultados tabulados posterior a la realización de la prueba ELISA.

Riesgo relativo (RR). Esta medida se utilizó para conocer el riesgo de padecer la enfermedad en función de la exposición a determinado factor. Se obtuvo mediante la comparación del riesgo a enfermar del grupo de expuestos, con el riesgo de enfermar del grupo

de no expuestos.

Tabla 5

Distribución de individuos y exposición a un factor de riesgo para calcular medidas epidemiológicas

	Enfermos	Sanos	Total
Expuestos	A	B	A+B
No expuestos	C	D	C+D
Total	A+C	B+D	Total

Nota. Autoría propia

$$IE = \frac{A}{A + B}$$

$$InE = \frac{C}{C + D}$$

$$RR = \frac{IE}{InE}$$

Donde:

RR = Riesgo relativo

IE = riesgo de enfermar del grupo de expuestos

InE = riesgo de enfermar del grupo de no expuestos

A = casos positivos expuestos a la variable de interés

B = casos negativos expuestos a la variable de interés

C = casos positivos no expuestos a la variable de interés

D = casos negativos no expuestos a la variable de interés

El valor obtenido de riesgo relativo se interpretó de la siguiente forma:

Valor = 1 indicó ausencia de asociación, no-asociación o valor nulo.

Valores <1 indicó asociación negativa, factor de protección.

Valores >1 indicó asociación positiva, factor de riesgo.

Riesgo atribuible (RA). El riesgo atribuible estima la proporción de enfermedad que puede disminuirse al ser eliminado el factor de riesgo, consiste en restar el riesgo en expuestos y el riesgo de no expuestos.

$$RA = IE - InE$$

Donde:

RA = Riesgo atribuible

IE = riesgo de enfermar del grupo de expuestos

InE = riesgo de enfermar del grupo de no expuestos

Fracción etiológica a nivel de población (FEP). Esta medida comprende la proporción de casos nuevos, en una población estable, que son atribuibles a un factor de riesgo.

$$IP = \frac{A + C}{\text{Total}}$$

$$FEP = \frac{IP - InE}{IP}$$

Donde:

FEP = Fracción etiológica a nivel de población

IP = riesgo de enfermar del grupo de la población

InE = riesgo de enfermar del grupo de no expuestos

Determinación de los factores de riesgo

Se analizó las encuestas realizadas a los dueños de las fincas muestreadas para determinar los factores en común entre las locaciones que presentaron animales positivos a la prueba de diagnóstico cELISA.

Las variables consideradas para la identificación de los factores de riesgo y la probabilidad de ocurrencia de IBR en fincas se definieron en base a los parámetros:

1. Zona geográfica (región, provincia)
2. Tamaño de finca (grande, mediana, pequeña)

3. Sexo (M, H)
4. Edad (grupos etarios)
5. Raza (Indicus, Taurus, Indicus x Taurus)

Determinación de la distribución geográfica

El proyecto de vinculación BruTryp mediante el uso de la aplicación Epicollect5 obtuvo coordenadas para la georreferenciación de las fincas muestreadas, así como información adicional que incluye propietario, nombre de la propiedad, número de animales del predio y el número de animales muestreados. Con la ayuda del software de sistemas de información geográfica Qgis 3.30 utilizando los puntos GPS recolectados, se realizaron mapas de ubicación de las fincas que presentaron animales con resultados positivos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estadística descriptiva de la muestra

Distribución de los animales muestreados en base al tamaño de la finca

En el presente estudio, se trabajó con un total de 892 muestras de suero bovino proveniente de 5 provincias del Ecuador correspondientes a Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo, y Orellana. El número total de muestras se encuentran distribuidas en 25% de fincas pequeñas; 31.50% fincas medianas y 43.50% fincas grandes como se puede observar en la Tabla 6.

Tabla 6

Distribución de las muestras en base al tamaño de la finca

Tamaño de la finca	Número de fincas	Número de muestras	Porcentaje de muestreo
Pequeñas	97	223	25
Medianas	67	281	31.50
Grandes	35	388	43.50
Total	199	892	100

Nota. Autoría propia

A pesar de que el mayor número de predios evaluados corresponden a la categoría de fincas pequeñas ($n = 97$), el mayor porcentaje de muestras analizadas (43.5 %) en el presente trabajo, pertenecen a las fincas caracterizadas como grandes. Este efecto del submuestreo puede ser explicado en base a lo planteado en el estudio de Paucar *et al.* (2021) quienes recomiendan la categorización de las Unidades de Producción Agropecuaria (UPA's) en base al número de bovinos y un porcentaje de muestreo que oscila entre un rango del 50% para fincas pequeñas hasta el 20% para fincas grandes.

Considerando que el proyecto BruTryp se basó en esta categorización para la definición de las muestras a obtener en cada predio, de cada provincia; en su banco de biológicos las

fincas pequeñas llegan a presentar un número máximo de 8 muestras, mientras que las fincas grandes mínimo 18 muestras, por lo cual a pesar de tener un mayor volumen de predios pequeños, estos aportan con un menor porcentaje de muestras en comparación con los predios de tamaño mediano y grande quienes abarcan el mayor porcentaje de muestras almacenadas.

Distribución de los animales muestreados en base a la región, provincia y tamaño de la finca

La distribución geográfica de las fincas se determinó en base a la provincia de ubicación (Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo, y Orellana) y la región a la que corresponde dicha provincia (costa, sierra, amazónica).

En la tabla 7 se puede observar cómo se encuentran distribuidas las muestras, correspondientes a 36.43% de la región costa; 44.73% en la región sierra y 18.83% en la región amazónica. En el contexto de las provincias, las muestras se encuentran distribuidas el 30.72% en Manabí; 5.72% en Santo Domingo de los Tsáchilas; 44.73% en Pichincha; 8.86% en Napo y 9.98% en Orellana.

Tabla 7

Distribución de las muestras en base a la región, provincia y tamaño de la finca

Distribución geográfica	Número de fincas	Número de muestras	Porcentaje de muestreo
Región costa	74	325	36.43
Manabí	58	274	30.72
Finca pequeña	26	53	5.94
Finca Mediana	22	105	11.77
Finca grande	10	116	13.00
Santo Domingo de los Tsáchilas	16	51	5.72
Finca pequeña	8	23	2.58
Finca Mediana	5	13	1.46
Finca grande	3	15	1.68

Distribución geográfica	Número de fincas	Número de muestras	Porcentaje de muestreo
Región sierra	67	399	44.73
Pichincha	67	399	44.73
Finca pequeña	27	61	6.84
Finca Mediana	24	98	10.99
Finca grande	16	240	26.91
Región amazónica	58	168	18.83
Napo	25	79	8.86
Finca pequeña	14	35	3.92
Finca Mediana	9	34	3.81
Finca grande	2	10	1.12
Orellana	33	89	9.98
Finca pequeña	22	51	5.72
Finca Mediana	7	31	3.48
Finca grande	4	7	0.78
Total	199	892	100

Nota. Autoría propia.

El mayor número de muestras se encuentra abarcado por las provincias de Manabí y Pichincha, mismas que según la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020 (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos [INEC], 2020), poseen las mayores poblaciones de ganado (>252 000 bovinos) en contraste con las provincias amazónicas como Orellana y Napo. Sin embargo al analizar la distribución por región, se puede observar que la provincia de Pichincha misma que representa a la región sierra posee un mayor porcentaje de muestras que la región costa conformada por dos provincias (Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas), este hecho se ve influenciado por las actividades inherentes al proyecto BruTryp, mismas que durante el año 2022 se enfocaron en mayor proporción dentro de Pichincha obteniendo de esta provincia el mayor número de muestras (n = 2097) del banco de biológicos como se evidencia en los trabajos realizados por Osorio (2022) y Moreira (2022).

Distribución de los animales muestreados en base al sexo

En la tabla 8 se puede observar que 72.98% de animales muestreados fueron hembras y que tan solo el 10.43% fueron machos, esto se debe a que las fincas muestreadas en su mayoría se dedican a la producción lechera, por lo cual el interés productivo de cada finca es tener un mayor porcentaje de bovinos hembras y menor porcentaje de machos, sin embargo, algunas fincas conservan los machos debido a su valor como animales para engorde y ceba o incluso como reemplazos (Osorio, 2022).

Por otra parte, el 16.59% corresponde a muestras de animales sin registro por lo que no se puede determinar el sexo del mismo.

Tabla 8

Distribución de las muestras en base al sexo

Provincia	Sexo					
	Hembras		Machos		ND	
	Número muestra	Porcentaje muestreo	Número muestra	Porcentaje muestreo	Número muestra	Porcentaje muestreo
Manabí	206	23.09	32	3.59	36	4.04
Santo Domingo	41	4.60	3	0.34	7	0.78
Pichincha	303	33.97	40	4.48	56	6.28
Napo	27	3.03	3	0.34	49	5.49
Orellana	74	8.30	15	1.68	0	0.00
Total	651	72.98	93	10.43	148	16.59

Nota. ND: número de animales sin registro. Autoría propia

Distribución de los animales muestreados en base a la edad y sexo

En el estudio epidemiológico se obtuvieron 388 muestras de hembras adultas; 127 muestras de hembras correspondientes a vaconas vientre; 48 muestras de vaconas fierro, y 24 muestras de terneras. En cuanto a los machos se recolectaron con los mismos rangos de edad, 10 muestras de terneros; 19 muestras de toretes, 27 muestras de toros jóvenes y 25 muestras

de toros adultos.

Por otra parte, el 10.22% corresponde a muestras de animales sin registro por lo que no se puede determinar la edad de los mismos.

Tabla 9

Distribución de las muestras por edad y sexo

Edades (meses)	Sexo					
	Hembras		Machos		Total	
	Número muestras	Porcentaje muestreo	Número muestras	Porcentaje muestreo	Número muestras	Porcentaje muestreo
1-9	24	3.69	10	10.75	34	4.57
10-18	48	7.37	19	20.43	67	9.01
19-36	127	19.51	27	29.03	154	20.70
37-180	388	59.60	25	26.88	413	55.51
ND	64	9.83	12	12.90	76	10.22
Total	651	100	93	100	744	100

Nota. ND: número de animales sin registro. Autoría propia

Esta distribución esta influenciada por las prácticas y el manejo tradicional de una finca lechera o de doble propósito, esto debido a que en el ámbito productivo y reproductivo en relación a la edad y al sexo, para el productor es de mayor importancia contar con un alto porcentaje de hembras adultas mayores a los 18 meses de edad, capaces de reproducirse y por consiguiente producir leche según lo explica Cabezas *et al.* (2019).

Aun así y como ya fue mencionado, muchas fincas optan por conservar los machos cuyo propósito es servir como animales de engorde o reemplazos (Osorio, 2022). Además, es necesario recalcar que el manejo reproductivo de la mayoría de fincas se basa en una combinación entre monta natural e inseminación artificial, por lo cual es de considerar que cada finca al menos poseerá un todo adulto como se puede identificar en el trabajo de Rivadeneira (2022).

Distribución de animales por raza

En Ecuador, es posible encontrar una diversidad de animales pertenecientes a diferentes razas, como, por ejemplo, Holstein, Jersey, Gyr, Brahman y mestizas. Con el propósito de simplificar la categorización de estas razas, se clasificó en base a sus tipos: Bos Indicus y Bos Taurus, además de los híbridos resultantes de cruces entre ambas categorías. Tal como se evidencia en la Tabla 10, el 30.61% de las muestras corresponde a animales Bos Taurus, mientras que el 8.07 % de muestras proviene de animales Bos Indicus. Por otra parte, el 27.58% de las muestras corresponde a animales nacidos como resultado de cruces genéticos entre Indicus y Taurus.

Por otra parte, el 33.74% corresponde a muestras de animales sin registro por lo que no se puede determinar la raza a la que corresponden.

Tabla 10

Distribución de las muestras por categorías de raza

Raza	Número de muestras	Porcentaje de muestreo
Bos taurus	273	30.61
Bos indicus	72	8.07
Taurus x Indicus	246	27.58
ND	301	33.74
Total	892	100

Nota. ND: número de animales sin registros. Autoría propia

El alto porcentaje de animales del grupo Bos Taurus está relacionado al tipo de producción que manejan la mayor parte de fincas que conforman el banco de biológicos del proyecto BruTryp. Al ser en su mayoría fincas lecheras o de doble propósito es preciso considerar que existirá un gran número de individuos de razas lecheras tales como Holstein, Jersey, Brown Swiss y sus cruces, pertenecientes al tipo Bos Taurus (Osorio, 2022). Sin embargo Cabezas *et al.* (2019), resalta que una de las principales estrategias para el

mejoramiento genético en predios lecheros ubicados en zonas cálidas del Ecuador es mediante el cruce de razas lecheras con animales *Bos indicus*, lo que explicaría el considerable porcentaje de bovinos pertenecientes al grupo *Indicus x Taurus*. Estas proporciones obtenidas son comparables y similares con las presentadas por Osorio (2022) y Rivadeneira (2022) en sus respectivos estudios realizados en la provincia de Pichincha.

Prevalencia general de IBR

Los resultados de las pruebas serológicas llevadas a cabo en las 892 muestras de suero bovino permitieron identificar la presencia de anticuerpos derivados de una infección causada por *Herpesvirus* Bovino tipo-1, el cual es responsable de la enfermedad conocida como rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR). Como se puede observar en la Tabla 11, con el método de diagnóstico cELISA se obtuvo 467 muestras positivas, por lo que se determinó una prevalencia general de IBR correspondiente a 52.35% (467/892).

Tabla 11

Prevalencia general de rinotraqueitis infecciosa bovina

Método de diagnóstico	Numero muestras	Muestras positivas	Muestras negativas	Muestras dudosas	Prevalencia (%)
cELISA	892	467	411	14	52.35

Nota. %: porcentaje; cELISA: ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima competitivo.

Según Balarezo y Poveda (2018), en su trabajo de titulación mencionan que la enfermedad de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) presenta una alta prevalencia debido a la falta de planes de vacunación y a los escasos o mal dirigidos planes sanitarios por partes de organismos de control, lo cual puede ser indicativo de una falta de información técnica a cerca de la situación nacional actual de esta enfermedad.

En el Ecuador se encuentra muy difundida la enfermedad de IBR por lo que en el

presente estudio se determinó una prevalencia del 52.35%, de igual manera Carbonero *et al.* (2011), determinó la prevalencia de IBR en hatos lecheros y doble propósito no vacunados en Ecuador con un resultado de 82.1%, lo cual concuerda con la presente investigación pudiendo decirse que el *Hesperivirus* bovino tipo 1 se encuentra muy difundido llegando a infectar a gran número de individuos.

La alta prevalencia encontrada en la presente investigación concuerda con las encontradas previamente en otros países sudamericanos como en la investigación de Astudillo y Franco (2019) , en donde evidenciaron que en dos municipios del departamento del Cauca-Colombia hay una prevalencia del 61.53% del virus IBR para los hatos de esa región, mientras que Saizar (1997) menciona que en Uruguay existe una prevalencia entre el 45% hasta 48% en un estudio realizado en rodeos de carne y leche mediante la técnica de iELISA para identificación de anticuerpos en suero. Complementando los estudios realizados en distintos países, Carpio (2013) evaluó muestras de suero sanguíneo mediante prueba Elisa en Perú obteniendo una prevalencia del 20.2% de una población de 1400 bovinos en donde se tomaron al azar 178 animales.

Cabe recalcar que en esta investigación se obtuvieron muestras con resultado dudoso, esto puede deberse a que algunos kits comerciales de la prueba de diagnóstico ELISA tienden a tener algunas reacciones de fondo (reacciones cruzadas) que dificultan tener un punto de corte claro (Ramírez, 2022), al presentarse estos casos hay que repetir el ensayo para asegurar una respuesta correcta.

Prevalencia por tamaño de finca

La prueba diagnóstica cELISA permitió obtener la prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en base al tamaño de finca y número de animales, cuyos resultados son presentados en la tabla 12.

Tabla 12

Prevalencia de IBR en función del tamaño de la finca

Tamaño de la finca	Número de muestras	Muestras positivas	Prevalencia por fincas (%)
Pequeñas	223	88	39.46
Medianas	281	141	50.18
Grandes	388	238	61.34
Total	892	467	52.35

Nota. %: porcentaje; n: número. Autoría propia

La prevalencia de la enfermedad de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en las fincas ganaderas pueden estar relacionadas con diversos factores, entre ellos el tamaño de las fincas. La relación entre el tamaño de las fincas y la presencia de enfermedades es un tema de interés en la investigación zootécnica, ya que el tamaño de las fincas puede influir en varios aspectos de la gestión y el manejo del ganado, así como en la propagación de enfermedades infecciosas.

Raaperi *et al.* (2010), menciona que la prevalencia real del BHV1 a nivel de rebaño era del 22,0%. En su trabajo de investigación se destacó que la prevalencia del rebaño aumentó significativamente en relación al tamaño del mismo, siendo del 3,4% en la categoría más pequeña (menos de 20 vacas) y del 85,7% en rebaños de más de 400 vacas. La prevalencia media dentro del rebaño fue del 37,8% (rango 1-100). La prevalencia media dentro del rebaño aumentó con el tamaño del mismo. Estos valores coinciden con los resultados de este estudio, donde se constató que las fincas grandes presentaron la prevalencia más alta, alcanzando un 61.34%.

Por otro lado, Quilla (2013) señala otro factor influyente, como la ubicación geográfica de los hatos. En algunas zonas, solo existen hatos pequeños con un bajo número de animales, en contraste con las áreas que cuentan con rebaños más grandes. En estos últimos casos, es necesario utilizar más de un toro para la monta natural, y este proceso se lleva a cabo varias

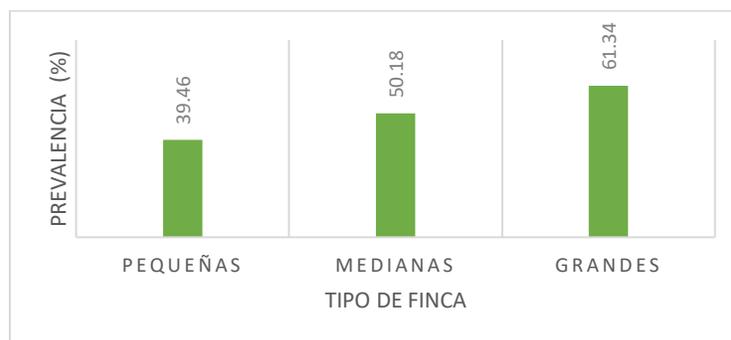
veces con diferentes vacas. Estas prácticas podrían facilitar la transmisión masiva del virus por ende un mayor número de animales positivos a la enfermedad.

La relación entre el tamaño del rebaño y la prevalencia del BHV1 es consistente con los hallazgos de Raaperi *et al.* (2010) y esta asociación puede explicarse por una serie de factores, incluyendo el aumento de las interacciones entre animales en rebaños más grandes y la mayor posibilidad de transmisión del virus. Además, la ubicación geográfica también puede influir en la prevalencia debido a las diferencias en las prácticas de manejo y la densidad de los rebaños en diferentes áreas. Estos resultados resaltan la importancia de considerar tanto el tamaño del rebaño como la ubicación geográfica al diseñar estrategias de prevención y control de enfermedades en la ganadería.

Aguilar *et al.* (2006) señalan que la velocidad de propagación de la enfermedad depende de la posibilidad de contacto entre los animales, por lo que la prevalencia de esta siempre será menor en explotaciones extensivas y mayor en las intensivas, esto concuerda con la prevalencia obtenida en el presente estudio donde se observa que las fincas grandes en donde se presentan más de 70 animales es mayor a comparación con las fincas pequeñas que tienen de 1 a 20 animales.

Figura 4

Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según el tamaño de la finca



Nota. %: porcentaje equivalente. Autoría propia

Prevalencia por región, provincia y tamaño de la finca

El análisis realizado por región permitió identificar una prevalencia para rinotraqueitis

infecciosa bovina del 60.62% (197/325) para la región costa, 46.87% (187/399) para la región sierra y 49.40% (83/168) para la región amazónica.

Adicionalmente, se obtuvieron prevalencias según la provincia de estudio cuyos resultados se pueden observar en la tabla 13.

Tabla 13

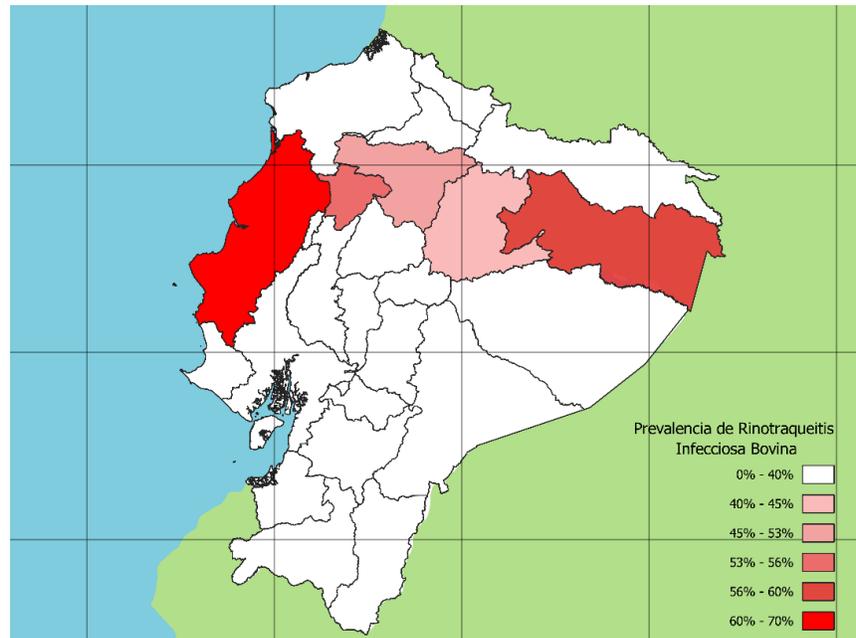
Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la región, provincia y tamaño de la finca

Distribución geográfica	Número de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (%)
Región costa	325	197	60.62
Manabí	274	169	61.68
Finca pequeña	53	22	41.51
Finca Mediana	105	56	53.33
Finca grande	116	91	78.45
Santo Domingo de los Tsáchilas	51	28	54.90
Finca pequeña	23	9	39.13
Finca Mediana	13	4	30.77
Finca grande	15	15	100
Región sierra	399	187	46.87
Pichincha	399	187	46.87
Finca pequeña	61	16	26.23
Finca Mediana	98	51	52.04
Finca grande	240	120	50.00
Región amazónica	168	83	49.40
Napo	79	32	40.51
Finca pequeña	35	10	28.57
Finca Mediana	34	15	44.12
Finca grande	10	7	70.00
Orellana	89	51	57.30
Finca pequeña	51	31	60.78
Finca Mediana	31	15	48.39
Finca grande	7	5	71.43
Total	892	467	52.35

Nota. %: porcentaje equivalente. Autoría propia

Figura 5

Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en Ecuador



Nota. %: porcentaje. Autoría propia

La enfermedad de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) causada por el agente causal *Herpesvirus* bovino tipo 1 (HVB-1) se encuentra distribuida en el Ecuador y a nivel mundial. Diversos estudios como el de Torre (2012), menciona que existe una prevalencia del 31.4% (135/430) para la provincia de Manabí mediante una prueba iELISA, mientras que en la presente investigación se determinó una prevalencia del 61.68% para la misma provincia con una muestra de 274 sueros bovinos mediante una prueba de diagnóstico cELISA.

Por otra parte, en la investigación realizada por Narváez y Sangucho (2021) se menciona que existe una prevalencia de 52% para la provincia de Tungurahua de una muestra de 50 muestras sanguíneas de vacas de producción lechera. Considerando que dicha provincia pertenece a la región sierra se podría asemejar los resultados obtenidos en la presente investigación para la provincia de Pichincha en donde se determinó una prevalencia del 46.87% de una muestra de 399 animales.

La región amazónica presenta una baja prevalencia de enfermedades infecciosas,

caracterizada por sistemas campesinos de producción que ofrecen condiciones naturales de aislamiento y exportan animales hacia los centros principales de consumo, ubicados en el litoral y la región centro norte andina. En las provincias de Zamora y Morona Santiago, en el sureste, la explotación de bovinos se realiza de forma extensiva, lo que resulta en menores oportunidades de contagio de la enfermedad (Agencia de regulación y control Fito y Zoonosanitario [AGROCALIDAD], 2016).

En comparación con los resultados obtenidos en el presente trabajo para la provincia de Napo se obtuvo una prevalencia del 40.51%, estos resultados se asemejan con los obtenidos por Moyano *et al.* (2015), el mismo que realizó una investigación de enfermedades infecciosas en la amazonia del Ecuador obteniendo una prevalencia del 54.16% para IBR de una muestra de 48 bovinos hembras a través de una prueba cELISA.

Prevalencia en base a la provincia y el sexo

Según el sexo se determinó una prevalencia en hembras del 49.31% mientras que los machos tuvieron una prevalencia del 49.46%. Cabe destacar que la provincia de Manabí presentó la mayor prevalencia en hembras correspondiente a 60.19%, mientras que la provincia de Orellana presentó la mayor prevalencia en machos correspondiente a 60%.

Tabla 14

Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la provincia y el sexo

Provincia	Sexo					
	Número muestras	Hembras Muestras positivas	Prevalencia (%)	Número muestras	Machos Muestras positivas	Prevalencia (%)
Manabí	206	124	60.19	32	18	56.25
Santo Domingo	41	20	48.78	3	1	33.33
Pichincha	303	126	41.58	40	17	42.50
Napo	27	9	33.33	3	1	33.33
Orellana	74	42	56.76	15	9	60.00
Total	651	321	49.31	93	46	49.46

Nota. %: porcentaje. Autoría propia

En el estudio de titulación realizado por Balarezo y Poveda (2018), se tomaron muestras de suero bovino de 552 hembras y 32 machos, determinando prevalencias del 27.7% y 12.5%, respectivamente, a través de una prueba de diagnóstico iELISA. Estos datos difieren de los resultados obtenidos en la presente investigación, en la que se observó una prevalencia mayor en los machos, alcanzando el 49.46%. Esta diferencia podría estar relacionada con el manejo aplicado en las fincas, ya que las hembras, especialmente las destinadas a la producción lechera, suelen recibir un seguimiento más constante en términos de signos clínicos y atención veterinaria. En contraste, los machos a menudo son utilizados para engorde o como sementales y podrían no estar sujetos a un control sanitario tan riguroso.

Es relevante destacar que, en la presente investigación, la prevalencia tanto en hembras como en machos es similar. Esto sugiere que las hembras tienen el mismo riesgo de contraer la enfermedad de IBR que los bovinos machos. Los hallazgos de este estudio refuerzan la importancia de considerar tanto a los machos como a las hembras en los programas de prevención y control de la IBR, ya que ambos sexos parecen estar igualmente susceptibles a la enfermedad.

Prevalencia según la edad

En el análisis de la edad, se obtuvo la prevalencia más alta de 58.35% en bovinos de 37 hasta 180 meses de edad, mientras que la prevalencia más baja siendo 23.88% correspondió a los bovinos de 10 hasta 18 meses de edad como se observa en la tabla 15.

Tabla 15

Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la edad

Edades (meses)	Número muestras	Muestras positivas	Prevalencia (%)
1-9	34	10	29.41
10-18	67	16	23.88
19-36	154	59	38.31
37-180	413	241	58.35
ND	76	41	53.95
Total	744	367	49.33

Nota. %: porcentaje; ND: número de animales sin registros. Autoría propia

La transmisión de la enfermedad de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) puede afectar a bovinos de todas las edades, desde los más jóvenes hasta los más viejos. En esta investigación, se determinó una alta prevalencia del 58.35% en bovinos adultos con edades entre 37 y 180 meses. Esto coincide con lo observado por Vidal (2016), quien en su trabajo de grado encontró que los mayores porcentajes de prevalencia se manifestaron en bovinos adultos de más de tres años, alcanzando un 56.35% en una muestra de 400 bovinos evaluados mediante la prueba iELISA.

De manera similar, Carpio (2013), señala que las vacas en producción equivalentes a vacas adultas presentaron una prevalencia del 75%, lo que respalda los resultados de esta investigación en donde se notó que la prevalencia más alta se encuentra en los animales adultos, alcanzando un 58.35%. Es plausible que la mayor prevalencia en las vacas en producción se deba a factores como el desgaste físico, el estrés, la experiencia reproductiva, el manejo y el mayor consumo de alimento, todos factores que podrían contribuir a una mayor prevalencia en esta categoría.

Por otro lado, Setién (1987), menciona que los recién nacidos no cuentan con la

protección del calostro materno y que las cepas patógenas del HVB-1 pueden causar infecciones agudas y generalizadas, altamente mortales en estos animales. Esto demuestra su susceptibilidad a la enfermedad, lo cual concuerda con los resultados de la presente investigación, donde se observó una prevalencia del 29.41% en bovinos con edades entre 1 y 10 meses.

En la investigación realizada por Aguilar *et al.* (2006), la prevalencia viral en función de la edad de los animales muestreados reveló que el virus fue más prevalente en animales mayores de 2 años, posiblemente debido a una mayor exposición a la infección a lo largo del tiempo.

Prevalencia por raza

El análisis de los resultados obtenidos permitió identificar que los bovinos de razas pertenecientes al tipo *Bos indicus* presentaron la prevalencia más alta correspondiente a 61.11%, mientras que la prevalencia más baja siendo 45.79% corresponde a bovinos de razas pertenecientes al tipo *Bos taurus*.

Tabla 16

Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina según la raza

Raza	Numero muestras	Muestras positivas	Prevalencia (%)
Bos taurus	273	125	45.79
Bos indicus	72	44	61.11
Taurus x Indicus	246	114	46.34
ND	301	184	61.13
Total	892	467	52.35

Nota. %: porcentaje; ND: número de animales sin registros. Autoría propia

La relación entre la raza de los bovinos y la prevalencia de la enfermedad de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) ha sido objeto de investigación y debate en el campo de la salud animal. Las diferencias genéticas y fisiológicas entre las razas de bovinos pueden influir

en su susceptibilidad a diversas enfermedades, incluida la IBR. Esta relación tiene implicaciones significativas tanto en la epidemiología de la enfermedad como en las estrategias de control y prevención.

En la presente investigación se determinó una mayor prevalencia para las razas del tipo *Bos indicus* siendo del 61.11%, cuya información difiere de Yari (2022), en donde menciona que las razas de *Bos taurus* como son Charolais, Pardo Suizo y Holstein, las cuales en su mayoría son destinadas a la ganadería de leche, y carne, son más susceptibles al desarrollo de enfermedades en especial en condiciones tropicales, esto podría relacionarse con factores como su origen geográfico y su adaptación a entornos específicos.

Dependencia de variables

El análisis de Chi-Cuadrado permitió identificar las variables que están relacionadas con la presencia de rinotraqueitis infecciosa bovina a nivel de zona geográfica y tipo de finca.

Tabla 17

Análisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio

Variable de exposición	Variable de respuesta	X²	p-valor
Región	Prevalencia	6.00	0.1991
Provincia	Prevalencia	20.00	0.2202
Tipo de finca	Prevalencia	6.00	0.1991

Nota. X²: Chi-Cuadrado; p: probabilidad asociada. Autoría propia

En cuanto a la zona geográfica, se ha observado que la prevalencia de IBR puede variar en diferentes regiones de Ecuador debido a las condiciones climáticas, la densidad de población bovina y las prácticas de manejo ganadero. Las áreas con climas más cálidos y húmedos pueden proporcionar un entorno propicio para la propagación de enfermedades infecciosas, incluida la IBR. Sin embargo, mediante el análisis de Chi-Cuadrado se determinó que no existe dependencia entre la prevalencia de la enfermedad rinotraqueitis infecciosa

bovina (IBR) en relación a la región ($X^2 = 6.00$; $p = 0.1991$); provincia de estudio ($X^2 = 20.00$; $p = 0.2202$); y tipo de finca ($X^2 = 6.00$; $p = 0.1991$).

Medidas epidemiológicas según el sexo

En la tabla 17 se observa la distribución de individuos enfermos y sanos, categorizados por sexo en hembras y machos, a partir de esta información, se determinó que el riesgo asociado a la enfermedad IBR no está condicionado por el género del animal.

Tabla 18

Distribución de individuos según el sexo para el cálculo de medidas epidemiológicas

	Enfermos	Sanos	Total
Hembras	321	330	651
Machos	46	47	93
Total	367	377	744

Nota. Autoría Propia

$$IE = \frac{321}{321 + 330} = 0.49$$

$$InE = \frac{46}{46 + 47} = 0.49$$

$$IP = \frac{321 + 46}{321 + 330 + 46 + 47} = 0.49$$

$$RR = \frac{0.49}{0.49} = 1$$

$$RA = 0.49 - 0.49 = 0$$

$$FEP = \frac{0.49 - 0.49}{0.49} = 0$$

Mediante el cálculo del riesgo relativo en este estudio, se concluyó que el sexo no constituye un factor de riesgo, ya que tanto las animales hembras como los machos presentan la misma probabilidad de infectarse. Sin embargo, una investigación realizada por Soto *et al.* (2015) demostró que la presencia de la enfermedad en toros no incide en la fertilidad de los sementales, esta ausencia de efecto podría convertir a los toros en factores de riesgo, ya que su uso en reproducción podría propagar la enfermedad a través del contacto directo y, por

supuesto, debido a que la rinotraqueitis infecciosa bovina es de transmisión sexual.

En concordancia con Setién (1987), es importante considerar que la transmisión del HVB-1 es exclusivamente horizontal, pues la transmisión vertical no tiene lugar. Incluso en el caso de la exposición fetal a cepas vacunales, esta situación resulta en abortos. No obstante, es crucial tener en cuenta que las hembras portadoras latentes del virus pueden verse infectadas en momentos de estrés, como durante el parto, el transporte o después de tratamientos con corticoides, tal como señalan Raaperi *et al.* (2014).

Medidas epidemiológicas según la edad

En la tabla 18, se observa la distribución de individuos enfermos y sanos, clasificados según la edad en bovinos jóvenes (1 a 18 meses de edad) y bovinos viejos (19 a 180 meses de edad).

Tabla 19

Distribución de individuos según la edad para el cálculo de medidas epidemiológicas

	Enfermos	Sanos	Total
Animales viejos (19-180 meses)	269	267	536
Animales jóvenes (1-18 meses)	26	75	101
Total	295	342	637

Nota. Autoría Propia

$$IE = \frac{269}{269 + 267} = 0.50$$

$$InE = \frac{26}{26 + 75} = 0.26$$

$$IP = \frac{269 + 26}{269 + 267 + 26 + 75} = 0.46$$

$$RR = \frac{0.50}{0.26} = 1.95$$

$$RA = 0.50 - 0.26 = 24\%$$

$$FEP = \frac{0.46 - 0.26}{0.46} = 44\%$$

A partir de este análisis, se destaca que los animales viejos tienen aproximadamente

1.95 veces más probabilidad de contraer la enfermedad IBR en comparación con los animales más jóvenes.

Al calcular el riesgo atribuible, se ha determinado que alrededor del 24% de los casos positivos en la población pueden atribuirse a animales de mayor edad y el 44% del riesgo se le atribuye a la variable de edad de los animales. Esto sugiere que los animales de mayor edad presentan un riesgo más elevado de contraer la enfermedad en comparación con los animales jóvenes. No obstante, es importante considerar que, a pesar de que se les atribuye este mayor riesgo, los animales de mayor edad no pueden ser excluidos de las operaciones ganaderas, ya que desempeñan un papel crucial en la producción bovina, tanto en hembras como en machos.

En relación a la edad de los bovinos, Romero *et al.* (2013), en su investigación señala que la seroprevalencia más baja se obtuvo en las hembras de 1 año (11.8%), mientras que la seroprevalencia más alta se encontró en el grupo de bovinos de 7 años en adelante. Se debe considerar que las enfermedades infecciosas afectan principalmente a las hembras bovinas en edad reproductiva de los hatos, lo que limita la productividad. Sin embargo, los machos enteros también pueden infectarse (Moyano *et al.*, 2015).

Una investigación realizada por Romero *et al.* (2013) determinó que las novillas púberes tuvieron la seroprevalencia más baja (19,4%), mientras que las vacas con ≥ 6 partos mostraron la seroprevalencia más alta (82,4%).

En Ecuador, en rebaños bovinos lecheros y de doble propósito no vacunados, Carbonero *et al.* (2011) reporta que los animales mayores de 4 años, la infección por BRSV, la altitud sobre el nivel del mar y la pendiente media son factores de riesgo asociados a la infección por BHV-1, mientras que una buena limpieza de las instalaciones es un factor protector.

La presente investigación difiere con el trabajo realizado por Quilla (2013) en el distrito de Umachiri-Perú donde se observó que las vacas de 3 a 4 años presentaron una prevalencia del 9.87%, en vacas de 4 a 5 años una prevalencia del 8.55%, en vacas de 5 a 6 años

prevalencia del 5.92%, en vacas de 6 a 7 años una prevalencia del 5.26%. En base a dichos datos concluyó que la edad no es un factor que influye en la seroprevalencia de IBR ya que el virus puede afectar a los animales de toda edad

Medidas epidemiológicas según la raza

En la tabla 19, se observa la distribución de individuos enfermos y sanos, clasificados según el tipo en Bos taurus y Bos indicus.

Tabla 20

Distribución de individuos según la raza para el cálculo de medidas epidemiológicas

	Enfermos	Sanos	Total
Bos indicus	44	28	72
Bos taurus	125	148	273
Total	169	176	345

Nota. Autoría Propia

$$IE = \frac{44}{44 + 28} = 0.61$$

$$InE = \frac{125}{125 + 148} = 0.46$$

$$IP = \frac{44 + 125}{44 + 28 + 125 + 148} = 0.49$$

$$RR = \frac{0.61}{0.46} = 1.33$$

$$RA = 0.61 - 0.46 = 15\%$$

$$FEP = \frac{0.49 - 0.46}{0.49} = 0.7\%$$

Mediante el cálculo del riesgo relativo, se determinó que los animales de tipo Bos indicus presentan aproximadamente 1.33 veces más probabilidad de infectarse con IBR en comparación con los animales de tipo Bos taurus. se estableció que alrededor del 15% de los casos positivos en la población pueden ser atribuidos a los animales del tipo Bos indicus. Esto indica que las razas de Bos indicus tienen un mayor riesgo de contraer la enfermedad IBR en

comparación con las razas de tipo *Bos taurus*.

De manera similar, utilizando el factor de exposición a nivel población (FEP), se ha logrado determinar que solo el 0.7% de los casos positivos en la población total pueden ser atribuidos a la raza de los animales.

Según Romero *et al.* (2013) en su investigación realizada con una muestra de 968 animales determino que el ganado lechero presentó la mayor seroprevalencia (72,4%) y el ganado de doble propósito la menor seroprevalencia (61,7%).

Las razas de *Bos taurus* a menudo han sido criadas y seleccionadas para la producción de leche y carne (Osorio, 2022) , y como resultado, pueden haber perdido ciertos rasgos de resistencia inmunológica que se han mantenido en razas de *Bos indicus* adaptadas a ambientes más desafiantes. Las condiciones climáticas y los entornos específicos en los que se crían estos animales también podrían contribuir a su susceptibilidad diferencial a la IBR.

Factores de riesgo

En base a la información recopilada y en las medidas epidemiológicas, mediante el análisis de Chi-Cuadrado se logró determinar que la prevalencia de IBR no está relacionado con la zona geográfica y tampoco presenta relación con el tipo de finca.

Mediante el cálculo de medidas epidemiológicas se identificó que el género de los animales no constituye un factor de riesgo para la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR). Tanto las hembras como los machos presentan la misma capacidad de infectarse por el *Herpesvirus* bovino tipo 1 (HVB-1). Por otra parte, se determinó que la edad de los animales tiene un impacto significativo en la probabilidad de contraer la enfermedad de IBR. Los animales más viejos presentan mayor riesgo de infectarse de IBR en comparación con los animales jóvenes. Por lo tanto, la edad se destaca como un factor de riesgo importante en la dinámica de la enfermedad dentro de la población.

Adicionalmente, los resultados obtenidos en relación con las medidas epidemiológicas resaltan que los animales del tipo *Bos indicus*, como Brahman, Nelore y Gyr, presentan una

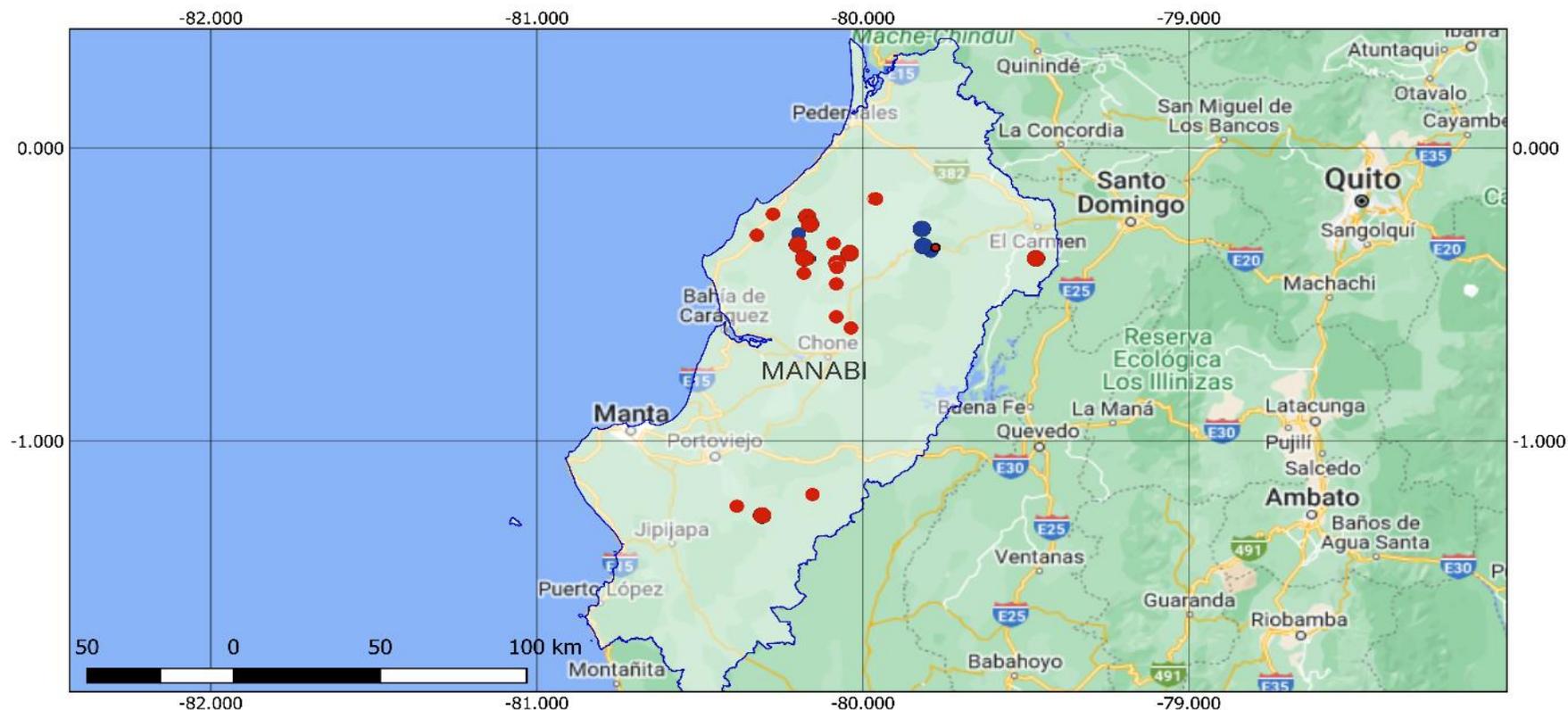
mayor susceptibilidad a la enfermedad IBR en comparación con aquellos de tipo *Bos taurus*, como Holstein, Jersey y Hereford. Por lo tanto, la raza se considera un factor de riesgo relevante para la enfermedad en ciertas poblaciones, aunque su impacto en la población total es limitado.

Georreferenciación

Con los datos obtenidos de la aplicación Epicollect 5 se generó los siguientes mapas de georreferenciación (Figura 4-9) de las fincas analizadas y las fincas que presentaron resultados positivos para rinitis infecciosa bovina (IBR) con la prueba de diagnóstico cELISA. Estas fincas se encontraban ubicadas geográficamente en las provincias de: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo, y Orellana.

Figura 6

Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Manabí



FINCAS ANALIZADAS

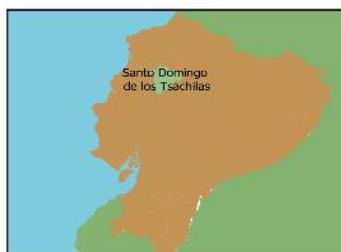
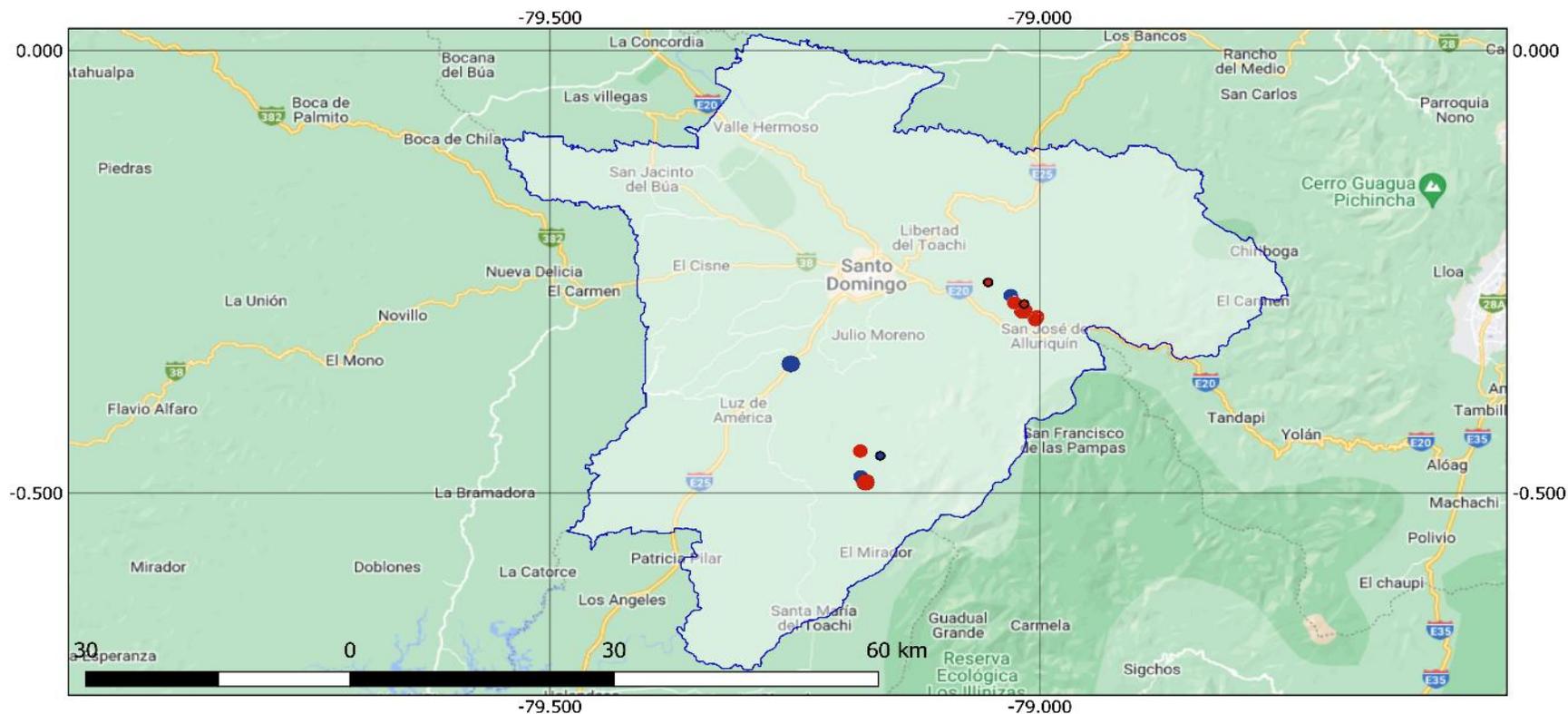
- | Negativas | Positivas |
|-----------|-----------|
| ● PEQUEÑA | ● PEQUEÑA |
| ● PEQUEÑA | ● MEDIANA |
| ● GRANDE | ● GRANDE |

	<p>UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE PROYECTO BRU-TRYP</p> <p>Autora: Rodríguez Anilema Sofia Jacqueline Estudiante Carrera de Agropecuaria</p>	<p>Mapa de fincas analizadas para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la provincia de Manabí</p> <p>Escala: 1:1700000 Fecha: 18/08/2023</p>	<p>Sistema de referencia: WGS 84/UTM ZONA 17N</p> <p>ID de la autoridad: EPSG 32617</p>
--	---	---	---

Nota. Autoría propia

Figura 7

Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas



FINCAS ANALIZADAS

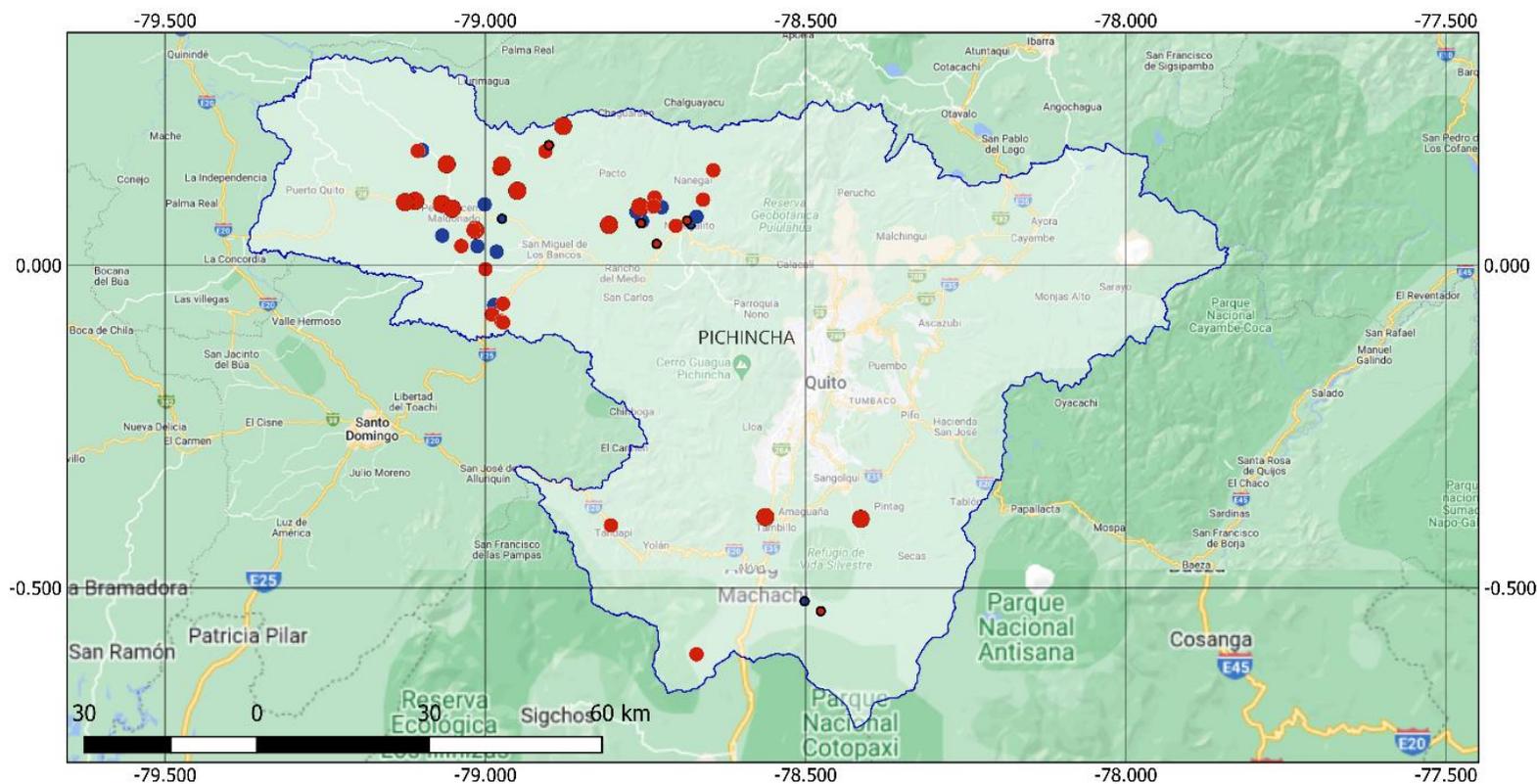
- | Negativas | | Positivas | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| ● PEQUEÑA | ● PEQUEÑA | ● PEQUEÑA | ● PEQUEÑA |
| ● PEQUEÑA | ● PEQUEÑA | ● MEDIANA | ● MEDIANA |
| ● GRANDE | ● GRANDE | ● GRANDE | ● GRANDE |

	UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE PROYECTO BRU-TRYP	Mapa de fincas analizadas para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas Escala: 1:1700000 Fecha: 18/08/2023	Sistema de referencia: WGS 84/UTM ZONA 17N ID de la autoridad: EPSG 32617
	Autora: Rodriguez Anilema Sofía Jacqueline Estudiante Carrera de Agropecuaria		

Nota. Autoría propia

Figura 8

Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Pichincha



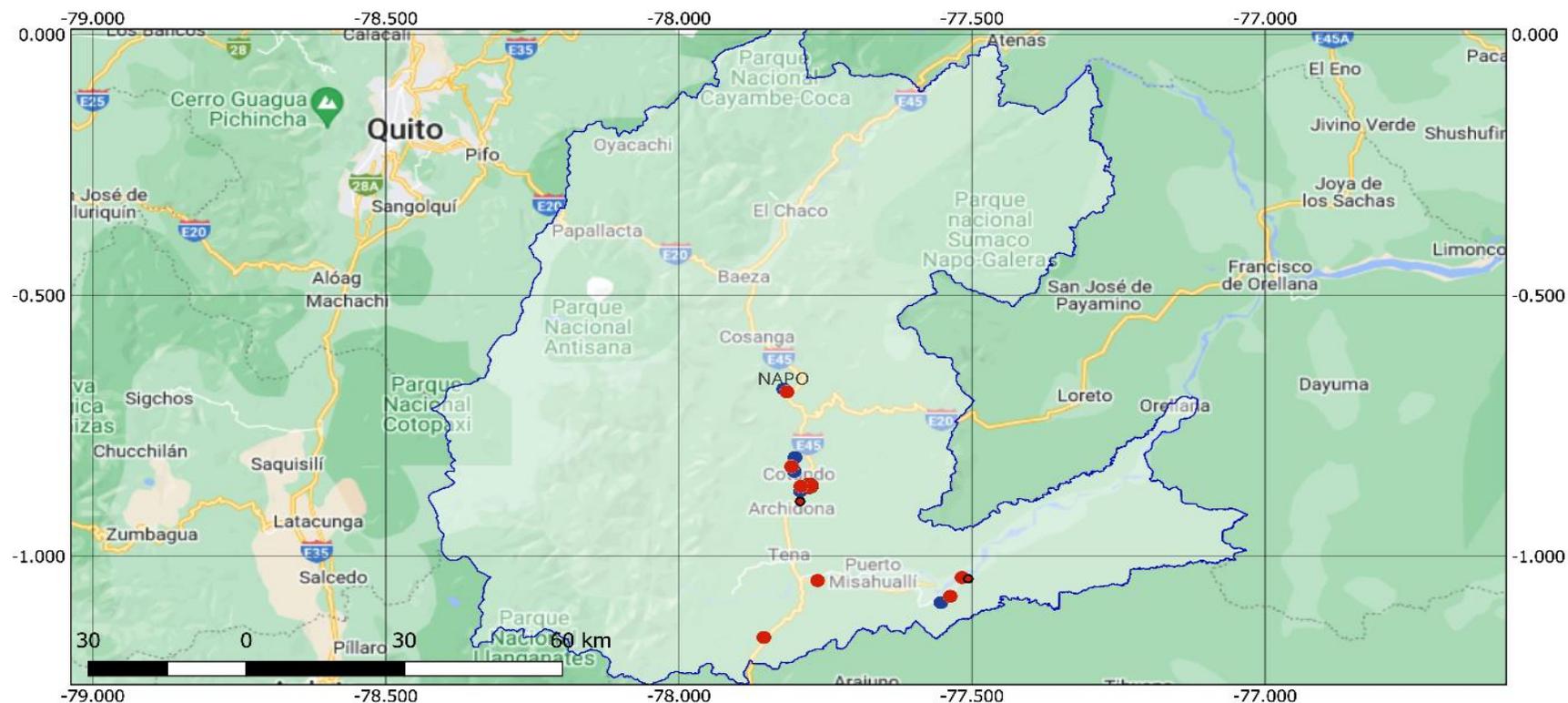
FINCAS ANALIZADAS	
Negativas	Positivas
● PEQUEÑA	● PEQUEÑA
● PEQUEÑA	● MEDIANA
● GRANDE	● GRANDE

	UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE PROYECTO BRU-TRYP	Mapa de fincas analizadas para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la provincia de Pichincha Escala: 1:1700000 Fecha: 18/08/2023	Sistema de referencia: WGS 84/UTM ZONA 17N ID de la autoridad: EPSG 32617
	Autora: Rodríguez Anilema Sofia Jacqueline Estudiante Carrera de Agropecuaria		

Nota. Autoría propia

Figura 9

Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Napo



FINCAS ANALIZADAS

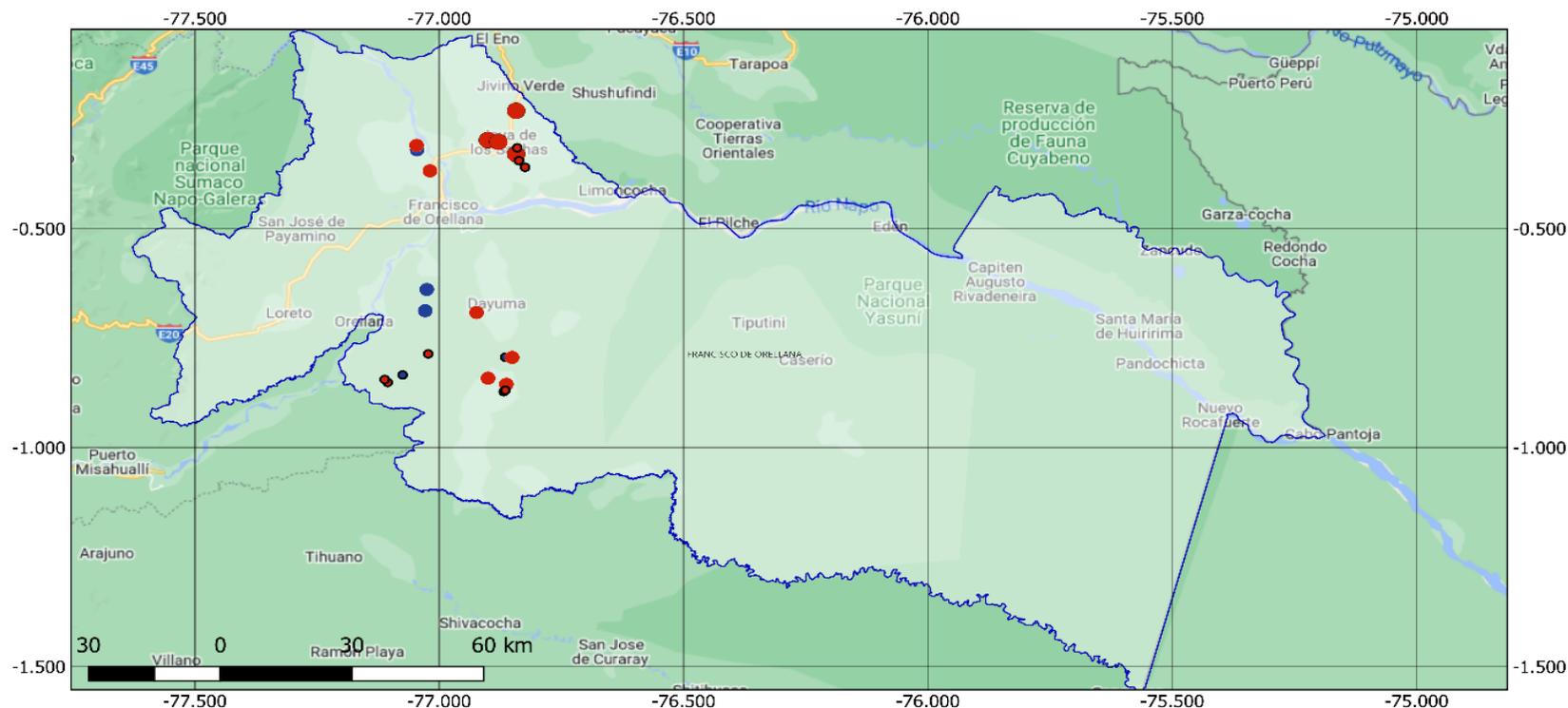
- | Negativas | Positivas |
|-----------|-----------|
| ● PEQUEÑA | ● PEQUEÑA |
| ● PEQUEÑA | ● MEDIANA |
| ● GRANDE | ● GRANDE |

	<p>UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE PROYECTO BRU-TRYP</p> <p>Autora: Rodríguez Anilema Sofía Jacqueline Estudiante Carrera de Agropecuaria</p>	<p>Mapa de fincas analizadas para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la provincia de Napo</p> <p>Escala: 1:1700000 Fecha: 18/08/2023</p>	<p>Sistema de referencia: WGS 84/UTM ZONA 17N</p> <p>ID de la autoridad: EPSG 32617</p>
--	---	---	---

Nota. Autoría propia

Figura 10

Mapa de las fincas analizadas en la provincia de Orellana



FINCAS ANALIZADAS	
Negativas	Positivas
● PEQUEÑA	● PEQUEÑA
● PEQUEÑA	● MEDIANA
● GRANDE	● GRANDE



UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE
 PROYECTO BRU-TRYP
 Autora: Rodríguez Anilema Sofía Jacqueline
 Estudiante Carrera de Agropecuaria

Mapa de fincas analizadas para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en la provincia de Orellana
 Escala: 1:1100000
 Fecha: 18/08/2023

Sistema de referencia: WGS 84/UTM ZONA 17N
 ID de la autoridad: EPSG 32617

Nota. Autoría propia

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- A través de la prueba diagnóstica cELISA se determinó la prevalencia general de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) del 52.35%, siendo la prevalencia más alta en la región costa con 60.62%, dentro de este contexto la provincia de Manabí presento una alta prevalencia siendo del 61.68%, eso tiene estrecha relación al tamaño de finca ya que en la zona costera del Ecuador manejan extensos territorios para la producción ganadera, por lo que se relaciona a la prevalencia obtenida en las fincas grandes la misma que es mayor en comparación con las fincas pequeñas y medianas.
- Fue posible determinar la prevalencia en base al sexo, edad y raza de los animales muestreados; llegando a la conclusión que los bovinos hembras, mayores a 37 meses de edad presentaron la prevalencia más alta siendo un 58.35% al igual que los animales pertenecientes a razas del tipo Bos indicus que presentaron una prevalencia del 61.11%
- Mediante el análisis de los datos obtenidos en las encuestas epidemiológicas, fue posible definir los principales factores de riesgo para IBR, concluyendo que no existe una relación entre la zona geográfica y el tipo de finca con la prevalencia de la enfermedad, sin embargo, la edad y la raza de los bovinos si influye en la probabilidad de infectarse siendo los animales viejos más susceptible con 1.95 veces más probabilidad de infectarse en comparación con los animales jóvenes; al igual que las razas del tipo Bos indicus que tienen aproximadamente 1.33 veces más probabilidad de contagiarse en comparación con las razas del tipo Bos taurus.

Recomendaciones

- En base a la forma de transmisión de la enfermedad IBR se recomienda a los productores realizar pruebas diagnósticas periódicamente en las fincas y al momento de ingresar animales nuevos al hato con la finalidad.
- Debido a la limitada información que se tiene actualmente a nivel de Ecuador se recomienda realizar más trabajos de investigación con diversas pruebas diagnósticas para la identificación de IBR y en distintas provincias del país.
- En base a los factores de riesgo identificados en la presente investigación se recomienda realizar capacitación de la enfermedad rinotraqueitis infecciosa bovina hacia los productores ganaderos para contribuir al control de la enfermedad en Ecuador.

Bibliografía

- Resolución 0131 de 2016 [Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca]. Adoptar el Manual de Procedimientos para la Atención y Control de Brucelosis bovina en el Ecuador. 16 de junio del 2016. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/resolucion-0131.pdf>
- Aguilar S., R., Benito Z., A., & Rivera G., H. (2006). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 17(2), 148–153. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172006000200011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Álvarez Martínez, M. (2006). Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). *Mundo Ganadero*. https://www.researchgate.net/publication/28281873_Rinotraqueitis_Infecciosa_Bovina_IBR
- Astudillo Valencia, N. B., & Franco Córdoba, C. P. (2019). *Seroprevalencia de la rinotraqueitis infecciosa bovina en los municipios de Patía y Mercaderes – Cauca* [Trabajo de grado, Universidad del Cauca]. <http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/xmlui/handle/123456789/1613>
- Ávila Sánchez, M., Rodríguez Medina, M., Díaz de Arce, H., & Barrera Valle, M. (2008, March 1). Diagnóstico virológico de Herpesvirus bovino tipo-1 (Virological diagnostic of Bovine herpesvirus type-1). *Revista Electrónica de Veterinaria IX*. https://www.researchgate.net/publication/26500331_Diagnostico_virologico_de_Herpesvirus_bovino_tipo-1_Virological_diagnostic_of_Bovine_herpesvirus_type-1
- Balarezo Espinoza, K. V., & Poveda Tutasi, M. J. (2018). *Determinación del perfil sanitario del ganado bovino en la Cooperativa de Producción Agropecuaria “El Salinerito”, provincia Bolívar - Ecuador* [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/15856>
- Betancur, C., Gonzáles, M., & Reza, L. (2006). Seroepidemiología de la rinotraqueitis infecciosa bovina en el municipio de Montería, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*

11(2). http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682006000200008&script=sci_arttext

Cabezas, J. C., Benítez, A. C., Odio, F., Proaño, R., & Maldonado, G. (2019). Ganadería sostenible: Guía de prácticas para el Noroccidente de Pichincha. *Proyecto EcoAndes, Programa Bosques Andinos, CONDESAN*. https://condesan.org/wp-content/uploads/2019/09/Ganader%C3%ADa-Sostenible-NO-Pichincha_web_final-1.pdf

Carbonero, A., Saa, L. R., Jara, D. V., García-Bocanegra, I., Arenas, A., Borge, C., & Perea, A. (2011). Seroprevalence and risk factors associated to Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) infection in non-vaccinated dairy and dual-purpose cattle herds in Ecuador. *Preventive Veterinary Medicine*, 100(1), 84–88. <https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2011.03.006>

Cuadros Medina, S. B., Zegarra Paredes, J. L., & Valdez Nuñez, V. R. (2021). *Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina y rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado vacuno en las comunidades de Cullcutaya y Pumathalla del distrito de Kunturkanki, Canas - Cusco 2021* [Tesis, Universidad Católica de Santa María]. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/11525>

Del Carpio Amesquita, L. E. (2013). Seroprevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (Ibr) en el ganado bovino lechero del anexo el Castillo, Distrito de Aplao, provincia de Castilla región Arequipa 2013 [Tesis, Universidad Católica de Santa María]. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/3742>

Donoso Vega, L. M., & Ortega Cuamacás, E. S. (2022). *Comportamiento epidemiológico de la Rinotraqueitis infecciosa bovina en la provincia de Cotopaxi*. [Proyecto de Investigación, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/9702>

Flechas, J. D., Bulla, D., García, D., Jiménez, J., Cruz, S., & Pulido, M. (2022). Rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB), una enfermedad de poco control en

- Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias -FAGROPEC*, 14(1), 67–88.
<https://doi.org/10.47847/FAGROPEC.V14N1A5>
- Guzmán Vázquez, E. (2004). Las pruebas de Elisa. *Gac Méd Méx*.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043o.pdf>
- IDEXX. (2018). *Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (BHV1)* [Archivo PDF]. <https://s3.amazonaws.com/idexx-ws-web-documents/org/lpd-web-insert/idexx%20ibr%20gb%20x3%20ab%20test-06-41299-06.pdf>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2020). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020* [Archivo PDF].
https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2020/Presentacion%20ESPAC%202020.pdf
- Jara Chamba, D. V. (2008). *Estudio de seroprevalencia de Diarrea Vírica Bovina (DVB) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en la provincia de Loja (Ecuador) por medio de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y su distribución epidemiológica geoespacial*. [Informe de Investigación Aplicada, Universidad Técnica Particular de Loja]. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/1778>
- Luzuriaga Martínez, L. G. (2012). *Prevalencia de rinotraqueítis infecciosa (IBR) en el ganado bovino del cantón Quilanga* [Tesis, Universidad Nacional de Loja].
<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/5404>
- Martínez Carlier, P. J., & Riveira Santos, I. M. (2008). *Antecedentes, generalidades y actualización en aspectos de patogénesis, diagnóstico y control de la diarrea viral bovina (DVB) y rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)* [Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana]. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8333>
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2020). *Rinotraqueítis Infecciosa Bovina*. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Recuperado el 28 de agosto de

2023 de <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/ibr/IBR.aspx>

Moreira Mendoza, L. G. (2022). *Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha* [Trabajo de integración curricular, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].

<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/36546>

Moyano J.C., López J.C., Vargas J., Quinteros O.R., & Marini P.R. (2015). Prevalencia de enfermedades infecciosas en la Amazonía del Ecuador. *Memorias Del XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría 2015 "Lic. Luis Bravo Tornel,"* 37–44.

[https://www.researchgate.net/profile/Frank-](https://www.researchgate.net/profile/Frank-Goyes/publication/312653150_Ganancia_de_peso_en_ovinos_alimentados_con_ensilajes_de_Pennisetum_purpureum_y_un_suplemento_proteico/links/58897635a6fdcc9a35c14c9c/Ganancia-de-peso-en-ovinos-alimentados-con-ensilajes-de-Pennisetum-purpureum-y-un-suplemento-proteico.pdf#page=52)

[Goyes/publication/312653150_Ganancia_de_peso_en_ovinos_alimentados_con_ensilajes_de_Pennisetum_purpureum_y_un_suplemento_proteico/links/58897635a6fdcc9a35c14c9c/Ganancia-de-peso-en-ovinos-alimentados-con-ensilajes-de-Pennisetum-purpureum-y-un-suplemento-proteico.pdf#page=52](https://www.researchgate.net/profile/Frank-Goyes/publication/312653150_Ganancia_de_peso_en_ovinos_alimentados_con_ensilajes_de_Pennisetum_purpureum_y_un_suplemento_proteico/links/58897635a6fdcc9a35c14c9c/Ganancia-de-peso-en-ovinos-alimentados-con-ensilajes-de-Pennisetum-purpureum-y-un-suplemento-proteico.pdf#page=52)

Narváez Morales, K. P., & Sangucho Lema, S. M. (2021). *Prevalencia de enfermedades infecciosas rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), diarrea viral bovina (DVB) y parainfluenza bovina tipo III (PI3) en pequeños hatos ganaderos en la parroquia de San Andrés, cantón Píllaro en la provincia de Tungurahua* [Proyecto de investigación, Universidad Técnica de Cotopaxi].

<http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8001>

Obando, C. A., & Rodríguez, J. M. (2005). Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. *Manual de Ganadería Doble Propósito*, 7.

http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo6-s5.pdf

Organización Mundial de Sanidad Animal. (2023). *Rinotraqueitis infecciosa bovina / vulvovaginitis pustular infecciosa*. Organización Mundial de Sanidad Animal.

Recuperado el 28 de agosto de 2023 de

<https://www.woah.org/es/enfermedad/rinotraqueitis-infecciosa-bovina-vulvovaginitis-pustular-infecciosa/>

Osorio Añazco, S. A. (2022). *Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha* [Trabajo de integración curricular, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].

<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/36548>

Paucar, V., Ron Román, J., Benítez Ortiz, W., Celi, M., Berkvens, D., Saegerman, C., & Ron Garrido, L. (2021). Bayesian estimation of the prevalence and test characteristics (Sensitivity and specificity) of two serological tests (RB and SAT-EDTA) for the diagnosis of bovine brucellosis in small and medium cattle holders in Ecuador.

Microorganisms, 9(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091815>

Quilla Hanco, O. R. (2013). *Seroprevalencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (Ibr) en vacas en producción en el Distrito de Umachiri Melgar Puno 2013* [Tesis, Universidad Católica de Santa María].

<https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/4354>

Raaperi, K., Nurmoja, I., Orro, T., & Viltrop, A. (2010). Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 96(1–2), 74–81.

<https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2010.06.001>

Raaperi, K., Orro, T., & Viltrop, A. (2014). Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *The Veterinary Journal*, 201(3), 249–256.

<https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2014.05.040>

Ramírez, A. (2022). *El test ELISA como herramienta de diagnóstico (1/2): Principios básicos*. Comunidad Profesional Porcina 3tres3. Recuperado el 28 de agosto de 2023 de https://www.3tres3.com/latam/articulos/elisa-como-herramienta-de-diagnostico-1-2-principios-basicos_14334/

- Rivadeneira Espín, P. N. (2022). *Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de brucelosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en el Noroccidente de la provincia de Pichincha – Ecuador* [Trabajo de integración curricular, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/36551>
- Romero Salas, D., Ahuja Aguirre, C., Montiel Palacios, F., García Vázquez, Z., Cruz Romero, A., & Aguilar Domínguez, M. (2013). Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in southern Veracruz, Mexico. *African Journal of Microbiology Research*, 7(17), 1716–1722.
<https://doi.org/10.5897/AJMR12.1334>
- Ruiz, J., Jaime, J., & Vera, V. (2008). Latencia del Herpesvirus bovino-1: El papel de los transcritos relacionados con latencia (RL). *Acta Biol. Colomb*, 13(1).
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319027880014>
- Saizar, J. (1997). Determinación de la prevalencia de la rinotraqueítis infecciosa bovina - IBR en rodeos de leche y carne en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 33(133), 4–7.
<https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/533>
- Setián Aguilar, Á. J. (1987). El virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (bovino herpesvirus 1): propiedades y vacunación. *Ciencia Veterinaria*.
<https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol4/CVv4c6.pdf>
- Soto J.R., Rosete F.J.V., Olazarán J.S., Fragoso I.A., Banda R.V.M., Socci E.G.A., Jáimez V.M.A., & Ávila B.R. (2015). Prevalencia a IBR, BVD, leptospirosis y neosporosis en sementales y su utilidad para inferir la infección en el rancho. *Memorias Del XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría 2015 “Lic. Luis Bravo Tornel,”* 55–60.
https://www.researchgate.net/profile/Frank-Goyes/publication/312653150_Ganancia_de_peso_en_ovinos_alimentados_con_ensilajes_de_Pennisetum_purpureum_y_un_suplemento_proteico/links/58897635a6fdcc9a35c14c9c/Ganancia-de-peso-en-ovinos-alimentados-con-ensilajes-de-Pennisetum-purpureum-y-un-suplemento-proteico.pdf#page=52

- Torre Medranda, E. J. (2012). *Determinación de la prevalencia de IBR rinotraqueitis infecciosa bovina en 6 hatos ganaderos de la parroquia Canuto, del cantón Chone, de la provincia de Manabí* [Trabajo de titulación, Universidad de las Américas].
<http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2864>
- Vidal González, P. E. (2016). *Estudio de la prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en las ganaderías bovinas del cantón Loja* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/10263>
- Yari Chacha, B. M. (2022). *Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en hatos ganaderos de la parroquia General Proaño, cantón Morona en la provincia de Morona Santiago*. [Trabajo de Integración Curricular, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/18419>
- Zacarías, E., Benito, A., & Rivera, H. (2002). Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa en bovinos criollos de Parinacochas, Ayacucho. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 13(2), 61–65.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1609-911720020002000009&lng=es&nrm=iso&tlng=es