

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 la Agricultura

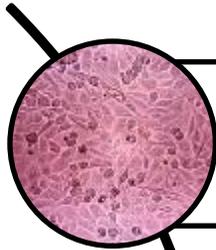
Carrera Agropecuaria

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

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

01 de septiembre de 2023





IBR es una enfermedad de distribución mundial, cuyo agente causal es el Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB-1), de carácter infectocontagioso.



La presencia de IBR se ha registrado desde 1976 cuando se analizaron muestras bovinas de la hacienda San Antonio en Uyumbicho-Pichincha, Ecuador.



Argentina, Uruguay y Chile han aislado el virus de diferentes fuentes, como fetos abortados y tejidos oculares.



Esta enfermedad afecta al ganado, provocando síntomas graves y pérdidas significativas.





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.



Los reportes previos de IBR y la verdadera magnitud de su prevalencia aun es limitada



Desarrollar un programa adaptado para su control



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.

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 nula

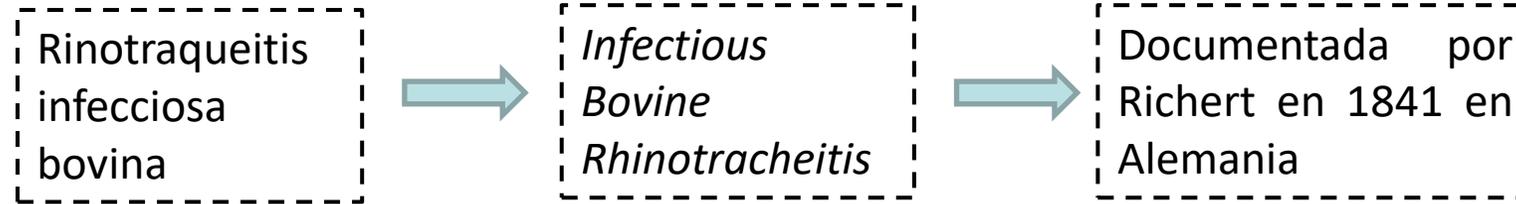
La prevalencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina es nula o baja en la zona de muestreo constituida por las provincias de Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana.

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.



Generalidades



Etiología

Familia: Herpesviridae

Subfamilia: Alphaherpesvirinae

Género: *Varicellovirus*

Especie: *Herpesvirus* bovino tipo 1

Ávila *et al.* (2008).

Reacciones cruzadas

HVB-1: IBR

HVB-2: mamilitis bovina

HVB-4:afección respiratoria y vulvovaginitis

HVB-5: signos neurológicos

Obando & Rodríguez (2005).

Biotipos

HVB-1.1: respiratorio

HVB-1.2:genital

HVB-1.3:neuropatogénico



Animales susceptibles: Bovinos

Menos probable: Caprinos, ovinos, cerdos



Transmisión

Directa: contacto (secreciones respiratorias, oculares y reproductivas)

Indirecta: fómites o personas



Latencia: neuronas ganglionares del sistema nervioso periférico

Reactivación: situación de estrés



Patogenie

Incubación varia según: modo de infección, virulencia, cantidad de virus

Signos clínicos

Lesión primaria:
necrosis en membrana
por replicación
viral(efecto citopático)



Evolución: pústulas
mas grandes



Forma conjuntival

Conjuntivitis palpebral, edema subconjuntival, secreción (serosas o mucopurulentas).



Forma respiratoria

Rinitis, traqueítis, fiebre

Forma genital

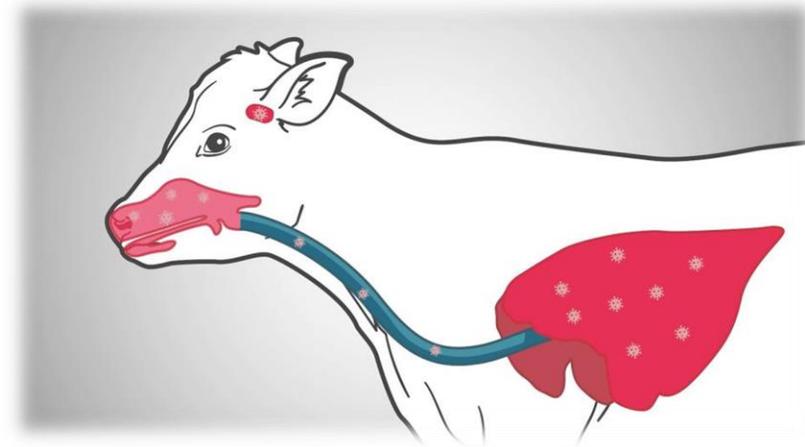
Vulvovaginitis, balanopostitis

Abortos:

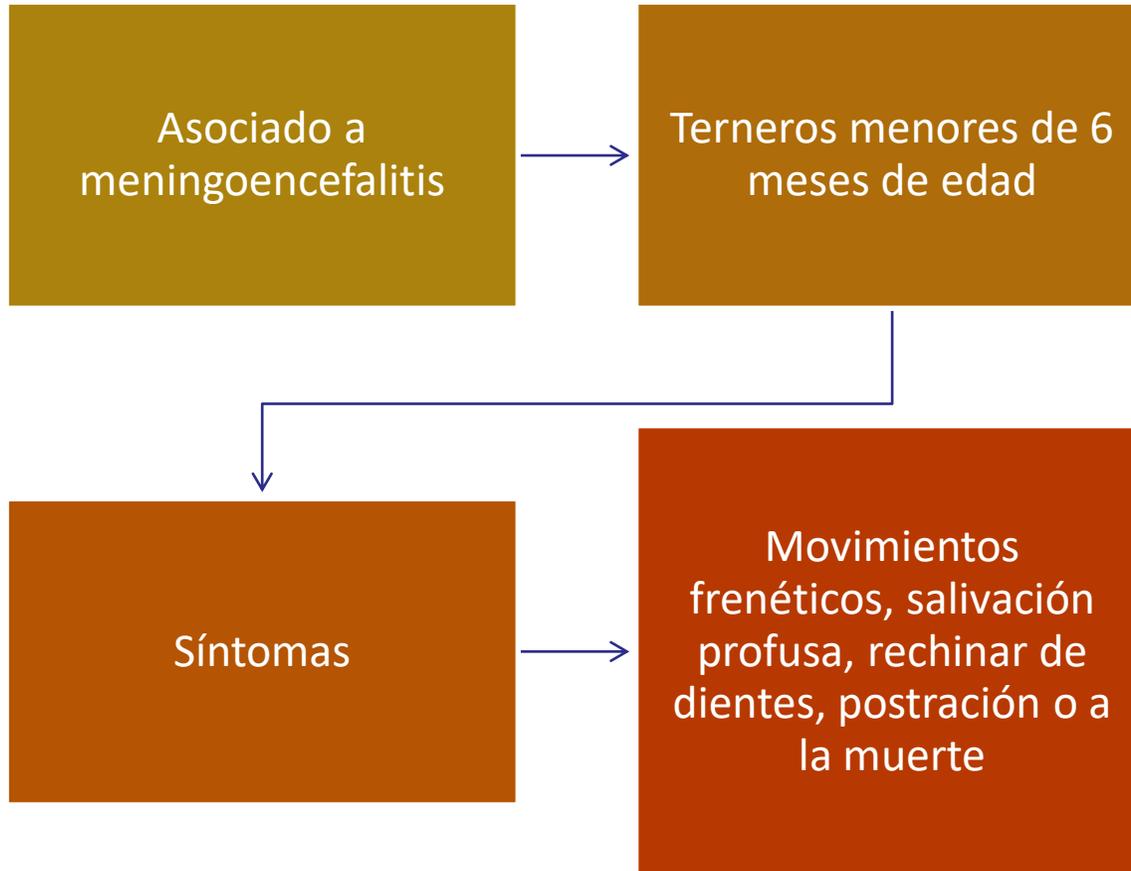
Durante el 5to y 8vo mes de gestación

Fase aguda: 2-4 días

Animales curado: 10 -14 días



Otros signos asociados a IBR



Diagnóstico



Métodos de detección indirecta

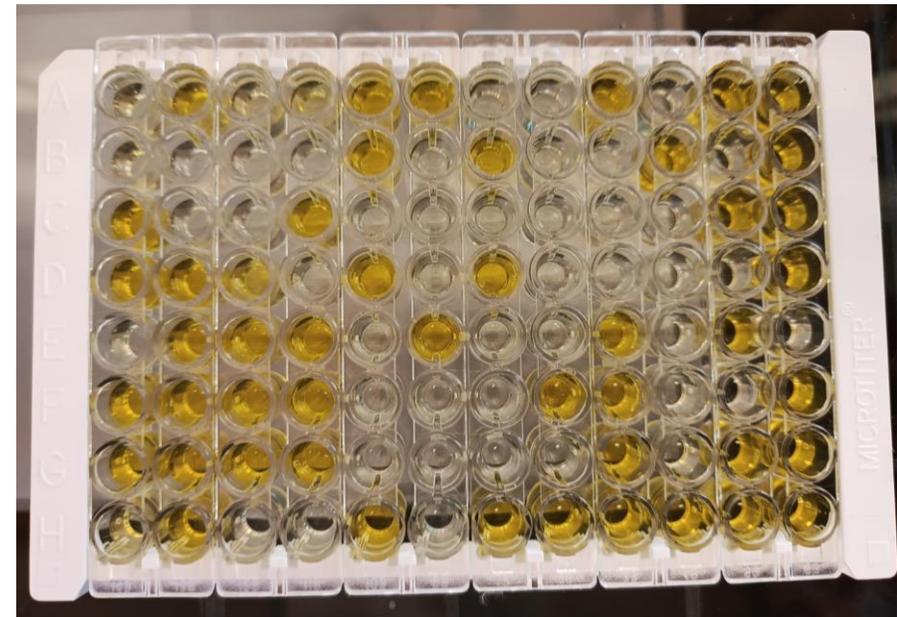
Fundamento: detección de anticuerpos específicos

SN

- Seroneutralización

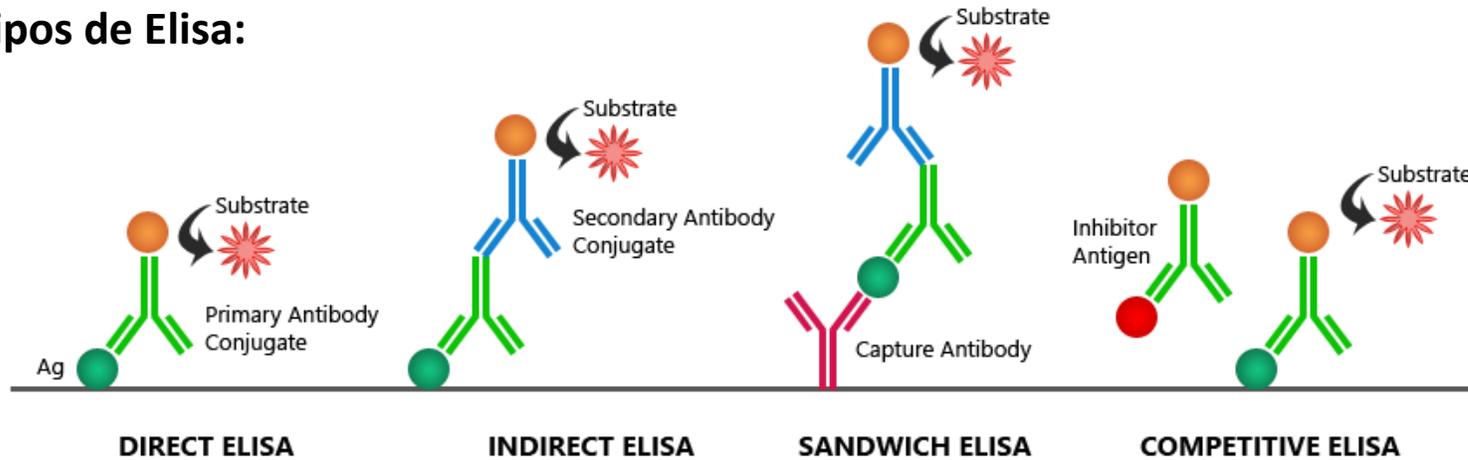
ELISA

- Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas



Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas

Tipos de Elisa:



cELISA
 Se determinan por su capacidad para competir con un antígeno de referencia marcado para unirse a un anticuerpo fijo en una placa.

Importancia: alta especificidad

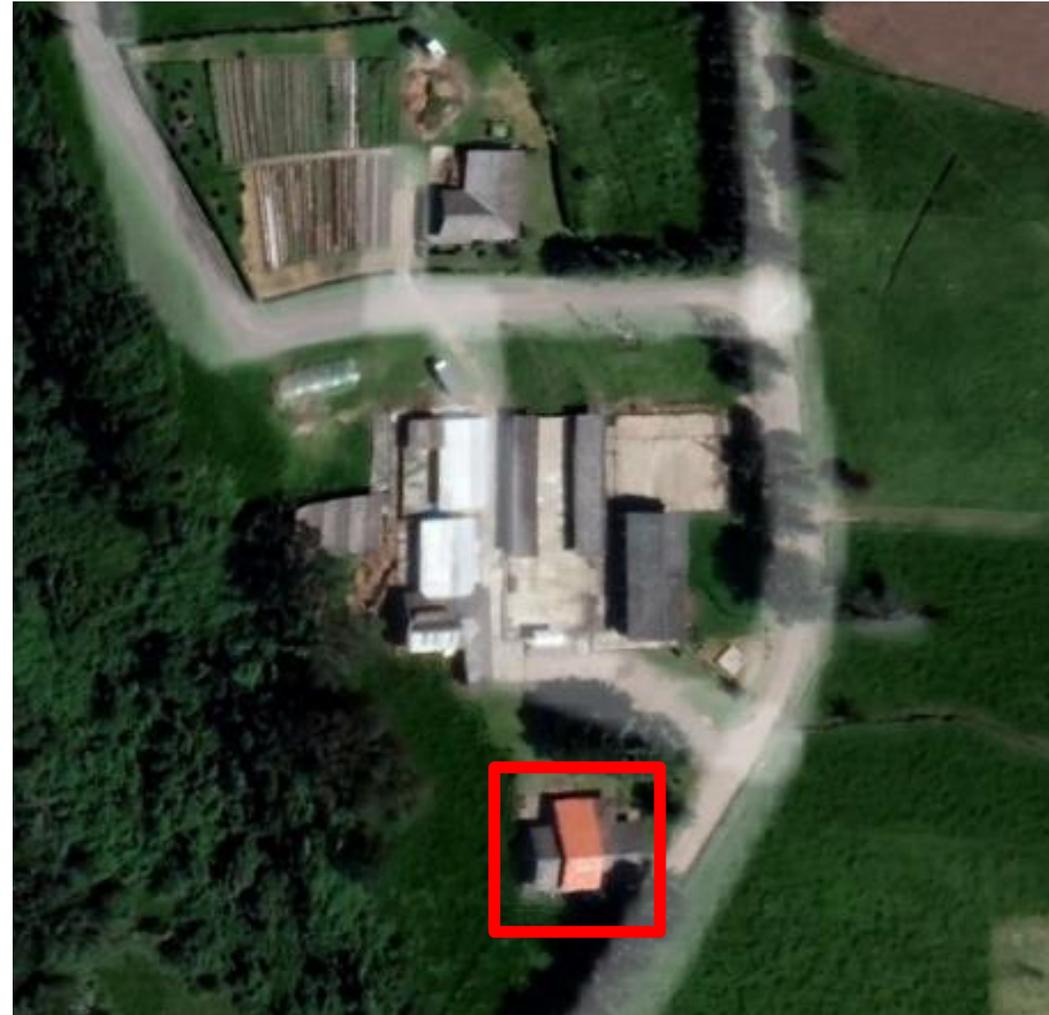
Al introducir un sustrato cromogénico genera color (correlación inversa).

Contexto del proyecto BruTryp

“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”

Banco serológico

Ubicado: LMGSA en la hacienda el prado IASA1



Determinación del tamaño de muestra

Fórmula 1: Asignación proporcional al tamaño del estrato

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

Donde:

$$D_{\pi} = E_{\pi}^2 N^2 + z_{1-\alpha/2}^2 \sum_{i=1}^k N_i s_{\pi i}^2$$

$s_{\pi i}^2 = p_i(1 - p_i)$ 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

Constantes	Valores a reemplazar
N	4686
NdC	96.77 %
$z_{1-\alpha/2}$	2.1406
E_{π}	0.032

Provincia	n_i
Manabí	274
Santo domingo de los Tsáchilas	51
Pichincha	399
Napo	79
Orellana	89
Total	892



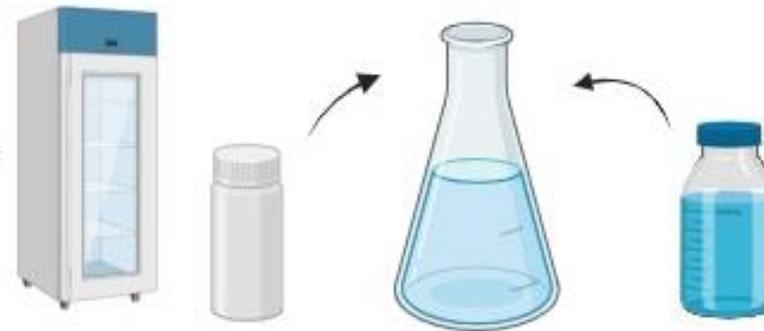
Trabajo de laboratorio

Prueba diagnóstica: kit comercial Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (BHV-1) gB Antibody Test kit IBR gB X3; IDEXX.

Paso 1



Paso 2



Paso 3

	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

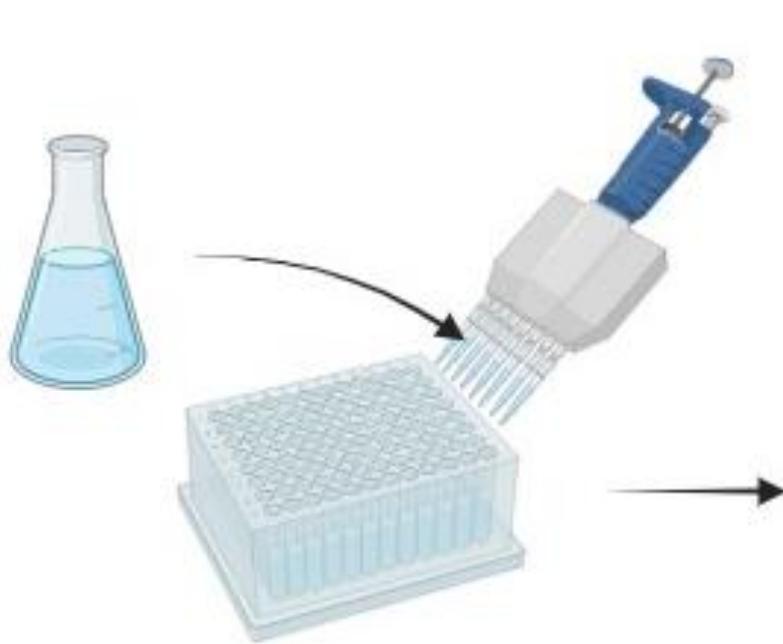
Nota. CP: control positivo por duplicado; CN: control negativo por duplicado; M1...M92: muestras a analizar. Autoría propia



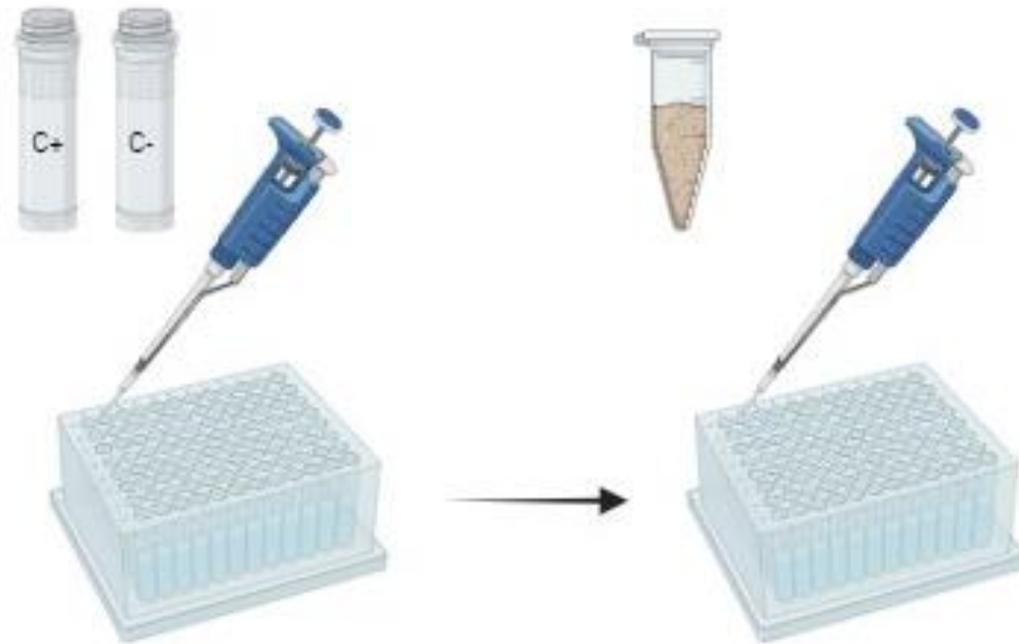
Trabajo de laboratorio

Procedimiento

Dispensar solución de lavado



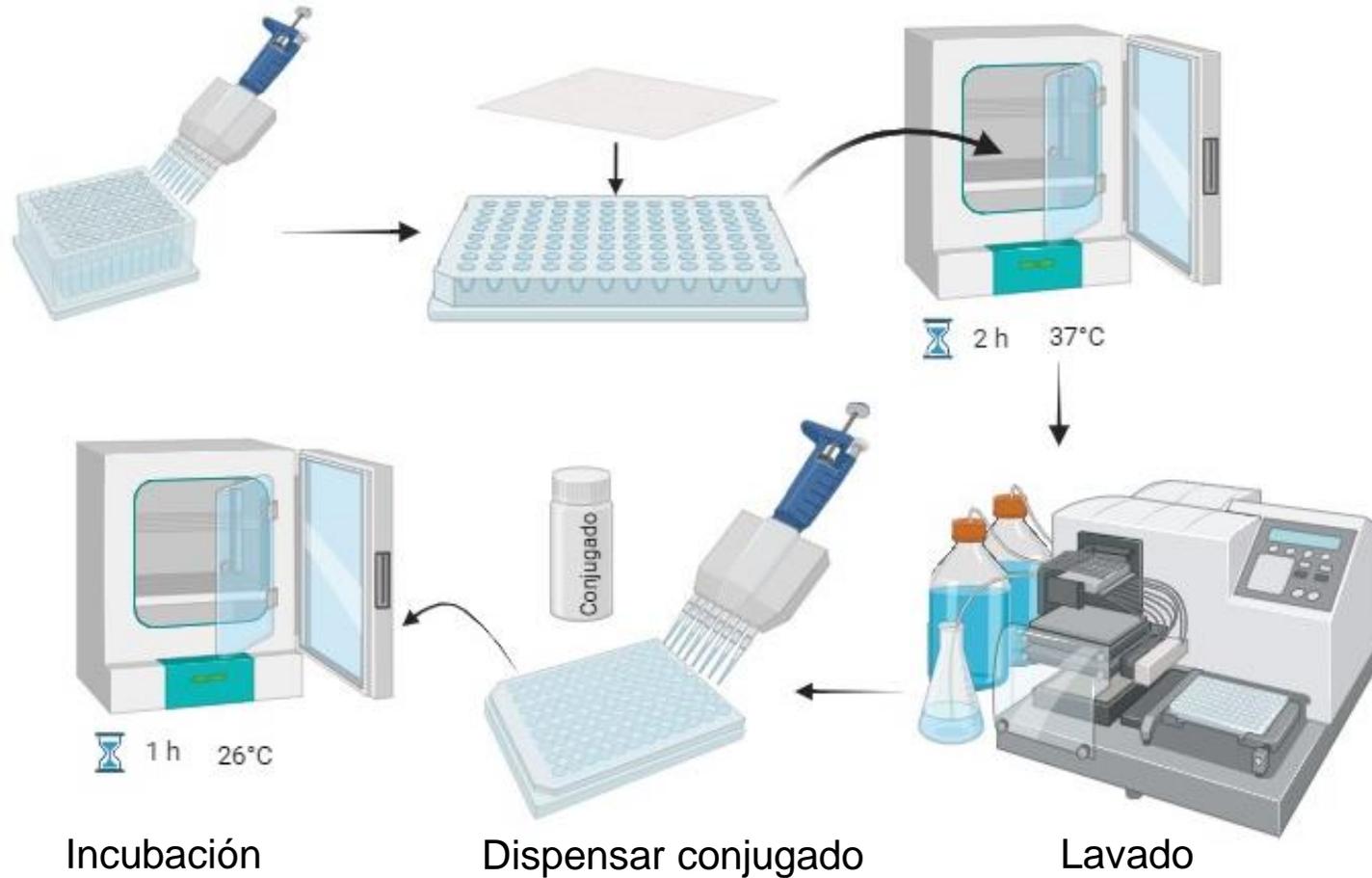
Dispensar controles y sueros a analizar



Procedimiento

Traspaso de las muestras hacia la placa impregnada con antígeno

Incubación



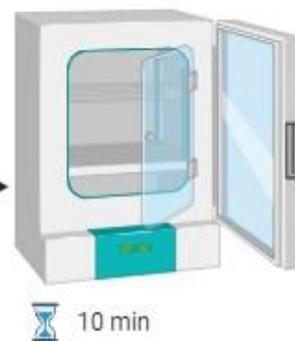
Procedimiento Lavado



Dispensar sustrato TMB



Incubar

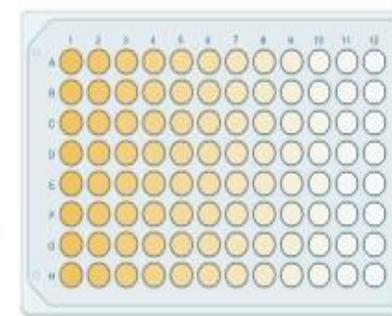


Dispensar solución de parada



A- 2	B- 2	C- 2	D- 2
0.042	1.301	1.114	0.061
E- 2	F- 2	G- 2	H- 2
0.063	1.364	1.298	0.063

STOP



Resultados de absorbancia



Lectura de resultados

Controles negativos:

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

Controles positivos:

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

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

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

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

Porcentaje de bloqueo:

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

% de Bloqueo	Interpretación
% de bloqueo < 45	Negativo
45 ≤ % de bloqueo < 55	Dudoso
% de bloqueo ≥ 55	Positivo



Análisis estadístico:



Prevalencia:

$$\text{Prevalencia} = \frac{N \text{ positivas}}{N \text{ total}} * 100$$

Medidas epidemiológicas:

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

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

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

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

$$RA = IE - InE$$

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

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



Estadística descriptiva de la muestra

Distribución de las muestras en base al *tamaño de la finca*

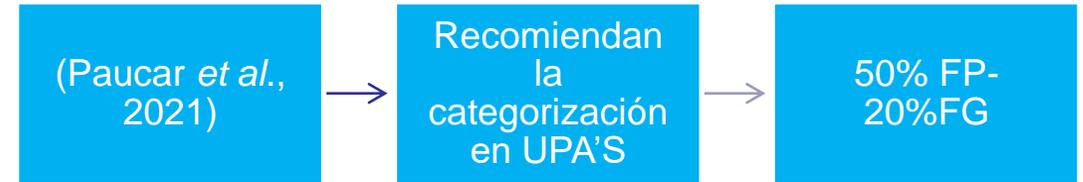
Tamaño de la finca	n de fincas	%	n de muestras	%
Pequeñas	97	48,7	223	25
Medianas	67	33,6	281	31.50
Grandes	35	17,6	388	43.50
Total	199	100	892	100

Nota. n: número; %: Porcentaje de muestreo. Autoría propia.

Distribución de las muestras en base a *la provincia y al sexo*

Provincia	Sexo							
	Total		Hembras		Machos		ND	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Manabí	274	30.72	206	23.09	32	3.59	36	4.04
Santo Domingo	51	5.72	41	4.60	3	0.34	7	0.78
Pichincha	399	44.73	303	33.97	40	4.48	56	6.28
Napo	79	8.86	27	3.03	3	0.34	49	5.49
Orellana	89	8.98	74	8.30	15	1.68	0	0.00
Total	892	100	651	72.98	93	10.43	148	16.59

Nota. ND: número de animales sin registro; n: Número de muestras; %: Porcentaje equivalente. Autoría propia.



Estadística descriptiva de la muestra

Distribución de las muestras por *edad y sexo*

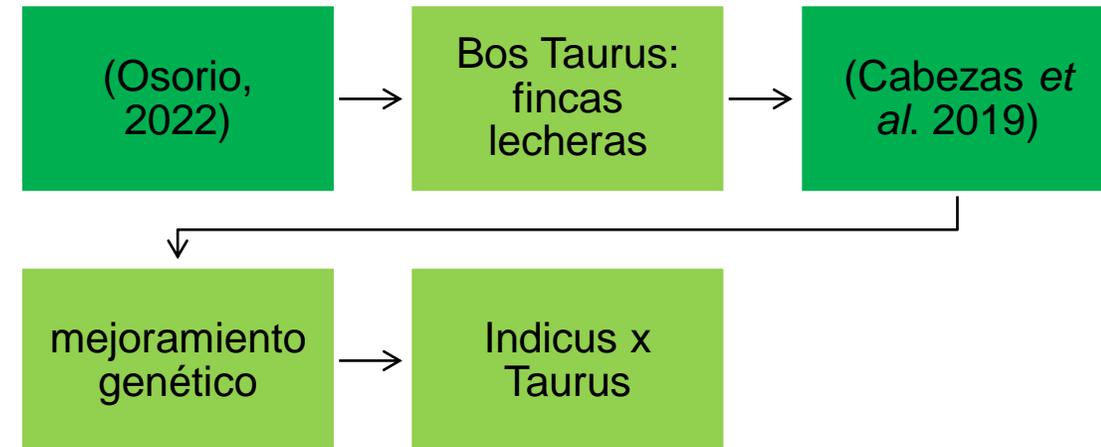
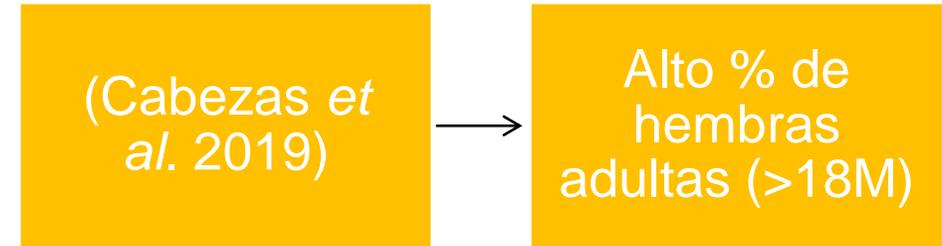
Edades (meses)	Sexo					
	Hembras		Machos		Total	
	n	%	n	%	n	%
1-9	24	3.69	10	10.75	34	4.57
10-18	48	7.37	19	20.43	67	9.01
19-36	127	19.51	27	29.03	154	20.70
37-180	388	59.60	25	26.88	413	55.51
ND	64	9.83	12	12.90	76	10.22
Total	651	100	93	100	744	100

Nota. ND: número de animales sin registro; n: Número de muestras; %: Porcentaje de muestreo. Autoría propia.

Distribución de las muestras por *categoría de raza*

Raza	n	%
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 registro; n: Número de muestras; %: Porcentaje de muestreo. Autoría propia.



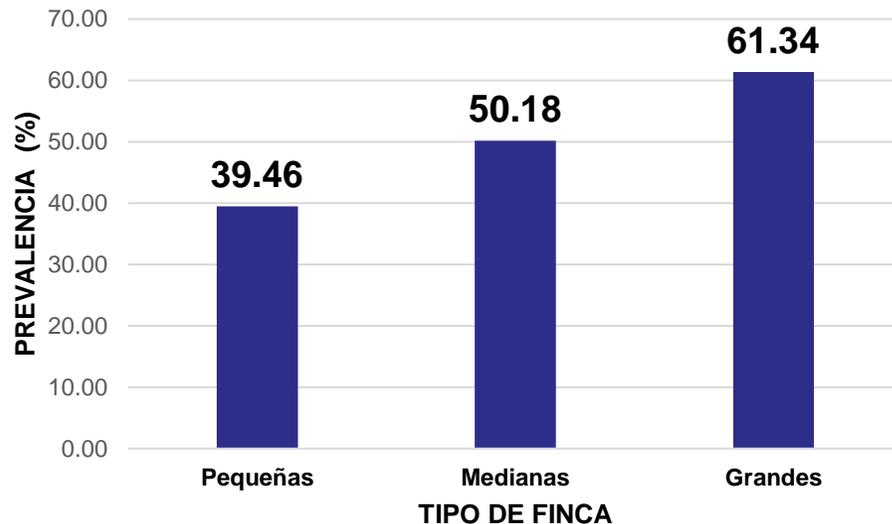
Prevalencia de IBR

Prevalencia general de IBR.

Método de diagnóstico	Número 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. Autoría propia.

Prevalencia según el tamaño de la finca



Nota. %: porcentaje equivalente. Autoría propia

(Carbonero *et al.*, 2011)

P: 82.1%
hatos lecheros y
doble propósito no
vacunado

(Raaperi *et al.*, 2010)

3,4% (<20
Vacas)
85,7% (>400
vacas)

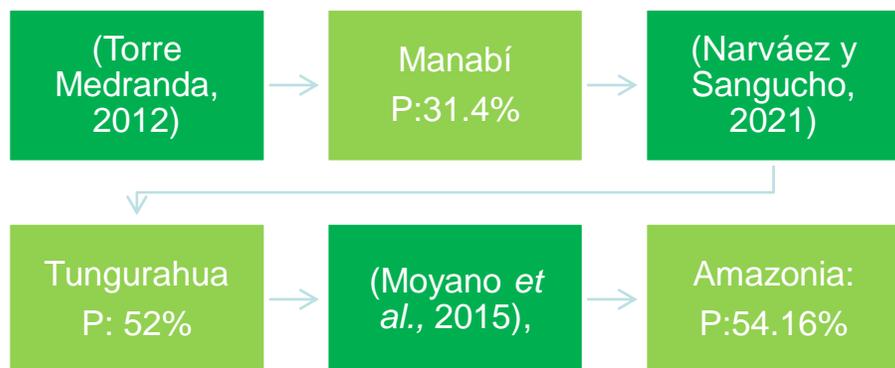
Mayor
interacción entre
animales



Prevalencia de IBR en Ecuador



Nota. %: Porcentaje. Autoría propia.



Prevalencia según la provincia y el sexo

Provincia	Sexo								
	Total			Hembras			Machos		
	n	n+	P	n	n+	P	n	n+	P
Región costa	325	197	60.62						
Manabí	274	169	61.68	206	124	60.19	32	18	56.25
Santo Domingo	51	28	54.90	41	20	48.78	3	1	33.33
Región sierra	399	187	46.87						
Pichincha	399	187	46.87	303	126	41.58	40	17	42.50
Región amazónica	168	83	49.40						
Napo	79	32	40.51	27	9	33.33	3	1	33.33
Orellana	89	51	57.30	74	42	56.76	15	9	60.00
Total	892	467	52.35	651	321	49.31	93	46	49.46

Nota. n: Número de muestras; n+: muestras positivas; P: Prevalencia. Autoría propia.



Prevalencia *por edad*

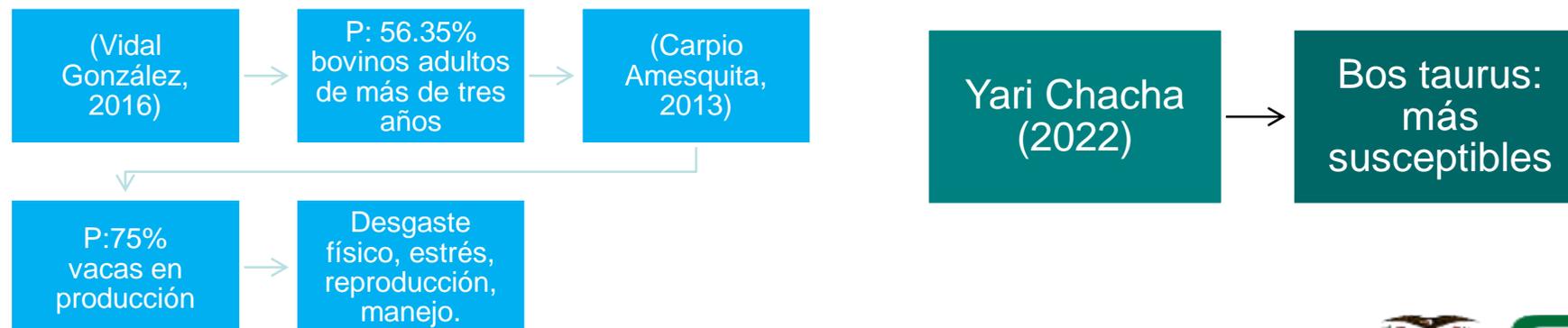
Edades (meses)	n	n positivas	P (%)
1-9	34	10	29.41
10-18	67	16	23.88
19-36	154	59	38.31
37-180	413	241	58.35
ND	76	41	53.95
Total	744	367	49.33

Prevalencia *raza*

Raza	n	n positivas	P (%)
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; n: número de muestras; P: prevalencia.

Autoría propia



Análisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio

Variable de exposición	Variable de respuesta	X ²	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.

Medidas epidemiológicas

Variable	Expuestos	No expuestos	RR	RA	FEP
Sexo	Hembras	Machos	1	0	0
Edad	Viejos	Jóvenes	1,95	24%	44%
Raza	Indicus	Taurus	1,33	15%	0,7%

(Quilla Hanco, 2013)

EDAD: no es un factor de IBR, puede afectar a los animales de toda edad

(Osorio Añezco, 2022)

Bos taurus para carne y leche

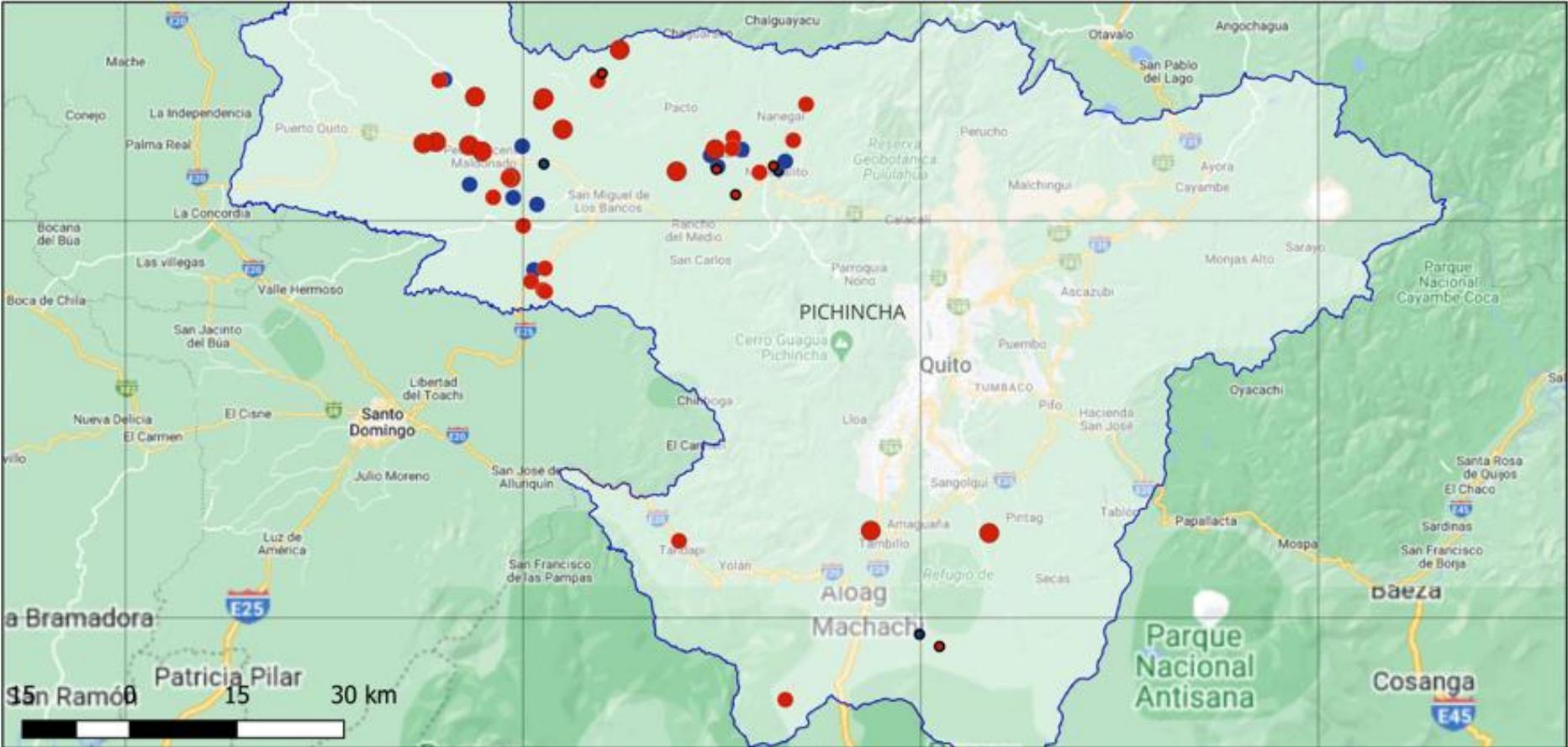
Perder rasgos de resistencia inmunológica



Georreferenciación

Se realizó los mapas de georreferenciación con el programa QGIS:

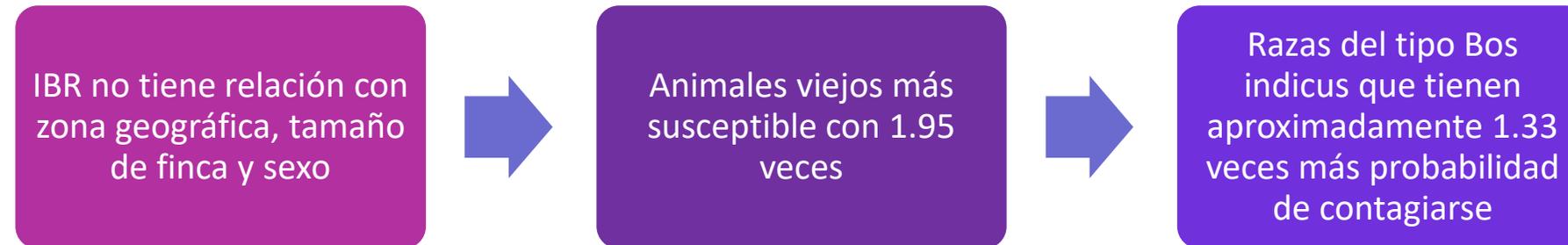
Pichincha:



Prevalencia de IBR



Factores de riesgo



- 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.
- 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.





Gracias por su atención