



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRIA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL.

“Efecto de la vacunación a IBR con virus vivo y muerto, sobre las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo en novillas Holstein mestizas.”

Tesis de grado previo a la obtención del título de Magister en Reproducción Animal.

AUTOR:

MVZ. CASTRO GUAMAN WALTER EFRAÍN

C.I. 1600483794

DIRECTOR:

DR. MALDONADO RIVERA JAIME EDUARDO. Mg.Sc

C.I. 0103631248

CUENCA - ECUADOR
2017

RESUMEN.

El presente estudio se realizó para determinar si la vacunación con el herpes virus bovino tipo 1 (HVB-1) como profilaxis para la rinotraqueitis infecciosa bovina tiene efecto sobre las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo en novillas Holstein mestizas en la región amazónica ecuatoriana de diferentes hatos ganaderos del Cantón Santa Clara, provincia de Pastaza. Se determinó el diámetro del cuerpo lúteo en diferentes estadios de desarrollo mediante ultrasonografía trans-rectal y la concentración de la progesterona en la sangre, por inmunoensayo enzimático en el laboratorio clínico veterinario Biomicrovet. Se utilizaron 60 novillas repartidas en tres grupos de 20 animales cada uno (T1) sin inmunógeno, (T2) vacuna a virus vivo Cattlemaster, (T3) a virus muerto Hiprobovis-4 y. Para el manejo del experimento todos los grupos fueron sometidos a un protocolo de sincronización con progestágenos y estradiol.

Se observó diferencias estadísticas significativas en el diámetro promedio del cuerpo lúteo a los 12 y 18 días, siendo mayor en el tratamiento 1 testigo (26,5mm y 29,9mm) respectivamente seguido del tratamiento 2 virus vivo con (19,5mm y 17,9mm) y el tratamiento 3 virus muerto con (19,2mm y 17,9mm).

La concentración sanguínea de progesterona fue estadísticamente mayor a los 12 y 18 días post-tratamiento en el tratamiento 1 testigo (5,1 y 5,7 ng/dl) seguido por el tratamiento 2 virus vivo (3,2 y 2,8 ng/dl) y el tratamiento 3 virus muerto (3,1 y 2,8 ng/dl) donde hubo valores estadísticamente diferentes en los tres tratamientos en estudio.

Al inocular a los animales con el herpes virus bovino tipo 1 tiene efectos sobre el desarrollo temprano del cuerpo lúteo en novillas, ya que se pudo constatar que la concentración de progesterona sanguínea varió significativamente en el presente trabajo investigativo.

PALABRAS CLAVES.

Cuerpo Lúteo, Progesterona, Ibr, Ecógrafo, Vacunas Vivos Y Muertos.

ABSTRACT.

The present study was made to determine if the vaccination with bovine virus herpes type 1 (HVB-1) such as prophylaxis for the infectious bovine rhinotracheitis has an effect about some characteristics anatomical and endocrinologic of the corpus luteum in mestizo Holstein heifers in the Ecuadorian Amazon of different cattle ranches in Saint Claire City, Pastaza province.

It determines the corpus luteum diameter in different developing phases using trans-rectal ultrasound and the concentration of progesterone in the blood, by enzymatic immunoassay in the Biomicrovet veterinarian clinic laboratory. Sixty heifers were used shared in three groups of 20 animals for the application of alive virus vaccine Cattlemaster (T2), a death virus Hiprovis-4 (T3) and without immunogenetic (T1). For the experiment management all the groups were subjected synchronizing protocol with progestogen and estradiol.

Meaningful statistics differences were observed in the average diameter of the corpus luteum at the 12 and 18 days, being still far the treatment 1 witness (26,5 mm and 29,9 mm) respectively continued of the treatment 2 alive virus with (19,5mm and 17,9mm) and the treatment 3 death virus with (19,2mm and 17,9mm).

The blood concentration of progesterone was statistically higher to the 12 and 18 days post-treatment in the treatment 1 witness (5,1 and 5,7 ng/dl) followed for the treatment 2 alive virus (3,2 and 2,8 ng/dl) and the treatment 3 death virus (3,1 and 2,8 ng/dl) and there is not different statistically value in the 3 treatments in study.

To vaccinate the animals with bovine virus herpes type 1 has effects above the early development of corpus luteum in heifers, it was found that the blood progesterone concentration varied significantly in the present investigative work.

KEY WORDS.

Corpus luteum, progesterone, Ibr, ultrasound, vaccines alive and death.



INDICE

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE ANEXOS.....	9
CLAUSULA DE DERECHOS DE AUTOR.....	10
CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	11
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL.....	12
AGRADECIMIENTOS.....	13
DEDICATORIA.....	14
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA.....	15
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	16
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1. Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).....	18
2.1.1. Etiología.....	19
2.1.2. Transmisión.....	20
2.1.3. Patogénesis.....	20
2.1.4. Antecedentes históricos.....	21
2.1.5. Distribución.....	22
2.1.6. Características del VHB-1.....	23
2.1.7. Especies susceptibles.....	24
2.1.8. Formas clínicas de la IBR.....	24
2.1.9. Diagnóstico.....	28
2.2. Trabajos experimentales sobre la rinotraqueitis infecciosa bovina.....	29
2.2.1. Infección inducida por el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina durante la preñez y su efecto sobre el cuerpo lúteo bovino.....	29
2.2.1.1. Fertilidad.....	30
2.2.1.2. Ciclos.....	32
2.2.1.3. Estudios epidemiológicos.....	33



2.2.1.4. Aborto.....	34
2.2.2. Lesiones ováricas inducidas en novillas por inoculación intravenosa con virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina modificada in vivo al día siguiente de la Inseminación Artificial.....	36
2.2.3. Lesiones ováricas en novillas expuestas a virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina por vías no genitales al día siguiente de la Inseminación Artificial.....	39
2.2.4. Efecto de las infecciones primarias y recurrentes causadas por el virus del IBR en el ovario bovino.....	39
2.2.5. Control y Prevención.....	40
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1.- Materiales.....	41
3.1.1.- Recursos biológicos.....	41
3.1.2.- Materiales.....	41
3.2.- Caracterización de la unidad de análisis.....	42
3.3.- Lugar de la investigación.....	43
3.4.- Metodología de trabajo.....	44
3.4.1.- Fase de selección.....	44
3.4.2.- Fase de sincronización.....	44
3.4.3.- Fase de profilaxis vacunal.....	44
3.4.3.1.- Fase de análisis morfológico del cuerpo lúteo.....	44
3.4.3.2.- Fase de análisis del porcentaje de P4 en la sangre.....	45
3.5.- Diseño estadístico.....	45
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	46
4.1. Análisis morfológico del cuerpo lúteo a los 12 días (mm).....	46
4.2. Análisis morfológico del cuerpo lúteo a los 18 días (mm).....	46
4.3. Análisis del porcentaje de P4 en la sangre a los 12 días.....	47
4.4. Análisis del porcentaje de P4 en la sangre a los 18 días.....	48
CAPITULO V: DISCUSIÓN.....	50
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	53
6.1. CONCLUSIONES.....	53
6.2. RECOMENDACIONES.....	54
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55



ANEXOS 61



LISTA DE TABLAS.

Tabla 1. Materiales Necesarios para la Investigación.....	41
Tabla 2. Esquema del experimento.....	42
Tabla 3. Operacionalización de las variables.....	43
Tabla 4. Valores porcentuales promedios y significación del tamaño del cuerpo lúteo a los 12 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo (T2) y muerto (T3).....	46
Tabla 5. Valores porcentuales promedios y significación del tamaño del cuerpo lúteo a los 18 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo (T2) y muerto (T3).....	47
Tabla 6. Valores porcentuales promedios y significación del porcentaje de P4 en la Sangre a los 12 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo (T2) y muerto (T3).....	47
Tabla 7. Valores porcentuales promedios y significación del porcentaje de P4 en la Sangre a los 18 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo (T2) y muerto (T3).....	48



LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Cantón Santa Clara –Pastaza.....43



LISTA DE ANEXOS.

Anexo 1. FASE DE SELECCIÓN.....61

Anexo 2. FASE DE SINCRONIZACIÓN.....61

Anexo 3. REALIZACION ECOGRAFICA DEL CUERPO LUTEO A LOS
12 Y 18 DIAS.....62

Anexo 4. EXTRACIÒN DE SANGRE PARA ANALISIS DE P4 A LOS
12 Y 18 DIAS.....62

Anexo 5. FOTOGRAFIAS DE ECOGRAFIAS DE TAMAÑO DE CUERPO
LÚTEO.....63

Anexo 6. FICHA DE DATOS DE CAMPO.....64

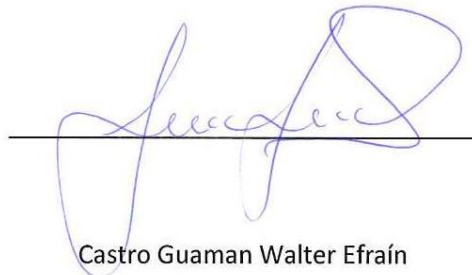
Anexo 7. REGISTRO DE DATOS.....65

CLAUSULA DE DERECHOS DE AUTOR

Castro Guaman Walter Efraín en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“Efecto de la vacunación a IBR con virus vivo y muerto, sobre las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo en novillas Holstein mestizas”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca 09 de noviembre de 2017



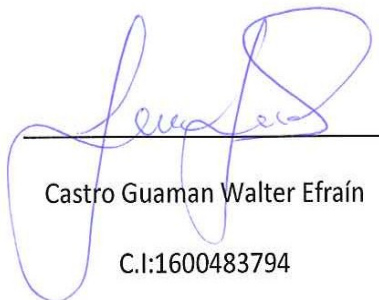
Castro Guaman Walter Efraín

C.I: 1600483794

CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Castro Guaman Walter Efraín, autor del trabajo de titulación "Efecto de la vacunación a IBR con virus vivo y muerto, sobre las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo en novillas Holstein mestizas", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca 09 de noviembre de 2017



Castro Guaman Walter Efraín
C.I.:1600483794



CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL

El Tribunal de Tesis de Grado CERTIFICA: Que fue aprobado el presente trabajo de investigación titulado Título **“EFECTO DE LA VACUNACIÓN A IBR CON VIRUS VIVO Y MUERTO, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y ENDOCRINOLÓGICAS DEL CUERPO LÚTEO EN NOVILLAS HOLSTEIN MESTIZAS.”**, realizado por el Sr. Walter Guamán Castro. Médico Veterinario Zootecnista.

Cuenca, 25 Octubre del 2017.



AGRADECIMIENTOS.

Agradezco de todo corazón a Dios por guiar mis pasos y regalarme lo más grande que tengo en la vida, mi familia y darme la oportunidad de superarme. A mis padres, hermanos Wilson Castro y Cristian Castro, abuelitos, tíos, primos y amigos que de una y otra forma me apoyaron y confiaron en mí en el transcurso de mis estudios para culminar mi más cercana meta de mi vida. Dr. Jaime Maldonado. Mg.Sc. y al Dr. Pablo Marini PhD. por haber colaborado con su valioso tiempo y sabiduría en la tutoría de esta tesis. A los docentes de la MAESTRÍA DE REPRODUCCIÓN ANIMAL de la Universidad de Cuenca por los conocimientos inculcados en esta etapa de mi vida, en donde he ido recogiendo valiosos conocimientos.

DEDICATORIA.

Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Para mis padres Rosa Guaman y Víctor Castro por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos. Gracias también a mis queridos compañeros, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida durante estos casi 2 años de convivir dentro del salón de clase.

ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

ADN	Ácido desoxirribo-nucleico.
°C	Grado Celsius.
Cm	Centímetro.
IA	Inseminación artificial.
ATP	Adenosín trifosfato.
pH	Potencial hidrógeno .
núm.	Número.
ml	Mililitro.
Camp	Cíclico Adenosín Monofosfato.
FHS	Hormona folículo-estimulante.
LH	Hormona luteinizante.
Kg	kilogramo.
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería.
cc	Centímetro cubico.
DCA	Diseño Completamente al Azar
ADEVA	Análisis de varianza
TEMP	Temperatura
VHB	Herpes Virus Bovino.
IP	Vulvo Vaginitis Postular Infecciosa.
SN	Sistema Nervioso.
IM	Intramuscular.
IGA	Inmunoglobulina.
Gnrh	Hormona Liberadora de Gonadotropina.
CL	Cuerpo Lúteo.
MGA	Acetato de Megestrol.
CIDR	Dispositivo Intravaginal.
PGF2A	Prostaglandina alfa 2.
FI	cepa del virus (Fetal Iowa)

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), es una patología viral infectocontagiosa, el virus puede permanecer en estado latente dentro de los ganglios nerviosos y reactivarse por diversas situaciones que provoquen stress como el transporte, parto y tratamientos con glucocorticoides ocasionando una reducción de la eficiencia reproductiva al producir abortos, lesiones necróticas en estructuras foliculares, lúteales, muerte embrionaria, neonatal, pérdida de peso y disminución de la producción láctea (Etchegaray1, 2009). En el contexto ganadero de nuestro país, la falta de programas de control y profilaxis para las enfermedades virales se convierte en un entorno predisponente para la incidencia y prevalencia de enfermedades como el IBR, ya que el herpes virus bovina es una enfermedad que ataca al tracto respiratorio caracterizada por rinitis, traqueítis y fiebre, siendo el aborto la consecuencia directa más grave desde un punto de vista económico. También el VHB-1 produce vulvovaginitis pustular infecciosa, balanopostitis, conjuntivitis; ocasionalmente se le ha asociado con metritis, endometritis, mastitis, epididimitis, dermatitis, enteritis y encefalomiелitis (Correa, 2007). Por la cual la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la vacunación de IBR con vacunas a virus vivo y muerto sobre las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo de novillas Holstein mestizas.

El proyecto se desarrolló en Cantón Santa Clara, de la Provincia de Pastaza, en 60 novillas Holstein mestizas, los cuales se subdividen en: Tratamiento 1 (n=20) sin profilaxis o grupo control; Tratamiento 2 (n=20) profilaxis vacunal con virus vivo (Cattlemaster) y Tratamiento 3 (n=20) profilaxis vacunal con virus inactivado (Hiprobovis-4). Los animales que integraron la muestra fueron vacunas novillas entre 18 y 24 meses de edad, con similares condiciones de manejo, clínicamente sanas, con actividad cíclica normal.

Los animales seleccionados se sometieron a un protocolo de sincronización de los celos con la finalidad de homogenizar el inicio de un nuevo ciclo estral.



Al finalizar los tiempos del protocolo se aplicó la profilaxis vacunal, evaluándose las estructuras luteales los días 12 y 18 por monitoreo ecográfico y medición de la concentración sanguínea de progesterona.

Para esta investigación se utilizó un diseño completamente al azar, además se realizó el análisis de varianza ADEVA, complementado con la prueba de Tukey y medidas de tendencia central.

Con el desarrollo de esta investigación se mostró el impacto del IBR sobre la eficiencia reproductiva, y brindar información que puede usarse para la implementación de programas de control mediante una profilaxis vacunal adecuada.



CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR).

La Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) es una enfermedad infecto-contagiosa causada por un virus perteneciente a la familia herpesviridae y denominado virus herpes bovino tipo 1 (VHB-1) (Ackermann, 2006). Generalmente es conocida como una enfermedad del tracto respiratorio caracterizada por rinitis, traqueítis y fiebre, siendo el aborto la consecuencia directa más grave desde un punto de vista económico, el VHB-1 produce vulvovaginitis pustular infecciosa, balanopostitis, conjuntivitis; ocasionalmente se le ha asociado con metritis, endometritis, mastitis, epididimitis, dermatitis, enteritis y encefalomiелitis (Bolaert, 2005). Esta extraordinaria variedad de manifestaciones clínicas estaría señalando la alta potencialidad patogénica de los virus herpes definiendo en particular al VHB-1 como un peligroso agente infeccioso de los bovinos, situación que es amplificada por su capacidad de desarrollar infecciones latentes que pueden ser reactivadas en determinadas circunstancias. El IBR es también conocida como rinotraqueítis infecciosa necrótica bovina, rinitis necrótica, enfermedad de la nariz roja, vulvovaginitis pustular infecciosa y exantema coital; en la literatura de habla inglesa se la denomina con la sigla IBR o IPV (Infectious Bovine Rhinotracheitis – Infectious Pustular Vulvovaginitis). El estudio de IBR ha sido dirigido preferentemente a dilucidar problemas sobre su etiología, diagnóstico, patología y profilaxis (Aguilar, 2017).

Respecto a su distribución, la presentación de casos clínicos respiratorios, genitales y aborto, en diversos países del mundo; el autor se documenta bien sobre la situación de IBR en Alemania y otros países europeos, así como también en México, Canadá y Estados Unidos de Norteamérica, pero evidencia una notoria falta de información sobre esta enfermedad en América del Sur. Es pertinente señalar que en Chile, Colombia y Perú se han realizado trabajos cero-epidemiológicos y de aislamiento viral que configuran un conocimiento base suficiente para planificar el control de la enfermedad, circunstancia que contrasta notoriamente con lo ocurrido en Argentina, Brasil y Uruguay, en que



al VHB-1 ha sido aislado ocasionalmente en cultivos celulares de riñón fetal bovino normal, carcinoma celular escamoso de ojos y desde un ternero tratado con corticosteroides. En Chile, el estudio de IBR ha tratado aspectos prácticos de diagnóstico, análisis epidemiológicos e investigaciones referentes al VHB-1, cepa Puente Alto Chile 1997, considerando como una entidad infecciosa y antigénica Zapata et al.(2002).

2.1.1. Etiología.

El agente causal del IBR es el VHB-1 que pertenece a la familia herpesviridae, sub-familia alphaherpesvirinae, este virus, así como el virus herpes bovino tipo-2 (responsable de la mamilitis bovina), virus herpes bovino tipo-4, virus herpes bovino tipo-5 (recientemente relacionado con signos neurológicos) y otros alphaherpesvirus de rumiantes están estrechamente relacionados, lo que pudiera comprometer en algún grado la eficacia de los métodos de diagnóstico convencionales por la ocurrencia de reacciones cruzadas (Castrucci, 2002). Existen tres subtipos diferentes de VHB-1: el respiratorio (VHB-1.1), el genital (VHB-1.2) y el neuropatogénico (VHB-1.3) aunque este último actualmente está clasificado como virus herpes bovino tipo 5 (VHB-5) (Organización Mundial de Sanidad Animal, Enero 2004).

El VHB-1 se inactiva rápidamente con solventes orgánicos, hidróxido de sodio al 0,5%, bases de amonio al 1%, y solución de lugol al 10%. El virus es estable a pH entre 6,0 y 9,0. Puede mantenerse activo a 37°C por 10 días, pero se inactiva en 21 minutos a 56°C y se mantiene estable a temperatura de congelación de semen por años. El VHB-1 tiene la habilidad de multiplicarse en una amplia variedad de cultivos primarios de fetos bovinos, tales como riñón, cornete nasal, piel, testículos y pulmón, así como en líneas celulares estables como la Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), lo que facilita los trabajos de laboratorio con fines de diagnóstico (Lemaire et al., 2000).



2.1.2. Transmisión.

El virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) se difunde a través de animales enfermos o de portadores sanos, que al ser introducidos a un hato susceptible transmiten por contacto directo o por semen infectado. Los bovinos portadores de IBR tienen la capacidad de eliminar al virus en forma intermitente al encontrarse bajo diversos estímulos como "stress" o administración de fármacos inmunosupresores. Esta patología restringe la comercialización de los bovinos y de su material genético(Van , 2011).

2.1.3. Patogénesis.

Después de la infección primaria el VHB-1 tiene la capacidad de permanecer en estado de latencia en las neuronas ganglionares lo que le permite persistir dentro del huésped, para luego tener periodos de reactivación y re-excreción (Burgos et al., 2006). El virus latente puede ser reactivado y re-excretado durante la toda vida del animal, ocasionando recurrencia de la enfermedad y la subsecuente transmisión del virus a animales susceptibles. Las infecciones recurrentes son más comunes y menos severas que las primarias y son la fuente de mantenimiento del virus en los rebaños la reactivación y excreción del VHB-1 en animales con infección latente están asociadas con eventos estresantes como consecuencia de cambios de las condiciones de manejo, concentraciones altas de animales, celo, parto, transporte o por el tratamiento con corticoides, lo que explicaría la aparición de la enfermedad donde la fuente de infección no es evidente (Costes,2005). La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina produce alta mortalidad embrionaria durante los primeros 7 días después del servicio, a nivel ovárico produce ooforitis necrotizante y lesiones sobre el cuerpo lúteo, el cual es sumamente sensible al virus principalmente en los primeros tres días de la ovulación, periodo en donde se comienza a formar esta estructura, además puede ocasionar abortos en el último tercio de la gestación, inmunodepresión, infecciones del tracto respiratorio, genital y conjuntival(Duque et al., 2014).



2.1.4. Antecedentes históricos.

La presentación paulatina y secuencial de la IBR, su origen incierto, que se pierde en el siglo pasado con los primeros casos de vulvovaginitis o Bläschenausschlag, descritos en Europa, y una gama de hechos sorprendentes en la evolución de la enfermedad en diferentes países o continentes, entrega una valiosa información que permite analizar el desarrollo de una enfermedad infecciosa viral herpética, desde sus inicios hasta su posible control y erradicación (Ames, 2000). La demostración de identidad antigénica entre los virus que causaban rinotraqueítis y vulvovaginitis en el bovino, mediante pruebas serológicas de neutralización cruzada, permitió analizar en forma retrospectiva la presentación de IBR desde una suave vaginitis, denominada exantema vesicular coital, hasta producir aborto y relacionar ambos problemas con una misma etiología (Lehmann, 2002). Se acepta que la infección se localizó en el tracto reproductivo en donde la enfermedad se mantuvo como tal, debido a prácticas de manejo en que un toro montaba a vacas de pequeños rebaños y al hecho de que los animales pastaran amarrados impidiendo un mayor contacto directo entre ellos. Por otra parte, la probable inmunidad resultante protegía a las vacas de la infección respiratoria. Es importante aclarar que en esta fase genital de la enfermedad nunca se relacionó el aborto con este síndrome, ni en Europa ni en los Estados Unidos de Norteamérica (Rosete et al., 2014).

Cuando el VHB-1 fue introducido en el este de Estados Unidos, produjo brotes aislados de infección genital, probablemente debido a que las prácticas de manejo eran básicamente similares a las de Europa Central. En cuanto a las manifestaciones respiratorias iniciales, se postula que debido al auge del transporte de ganado hacia 'feedlots' del oeste de los Estados Unidos de Norteamérica, el virus probablemente llevado en animales portadores sanos, se adaptó al tracto respiratorio ante la necesidad de sobrevivir ya que el ganado de carne no le permitía perpetuarse con facilidad debido a que estos animales son menos activos en su reproducción que el ganado lechero. Indudablemente que este fenómeno adaptativo fue favorecido por condiciones ambientales y ecológicas diferentes, que se refieren a presencia de grandes concentraciones

de animales, al estrecho contacto entre ellos en los corrales de engorda, al polvo y a variaciones extremas de temperatura que hacen más vulnerable al tracto respiratorio a infecciones, fue así como surgió una nueva afección, caracterizada por una severa infección respiratoria, conocida inicialmente como 'Mucosal Disease', la que posteriormente, fue designada por la Asociación de Sanidad Ganadera de los Estados Unidos de Norteamérica, como Infectious Bovine Rhinotracheitis o IBR. Desde esta nueva ubicación en mucosa respiratoria, el virus podía alcanzar fácilmente, a través de leucocitos, diversas ubicaciones en el organismo; consecuentemente y en forma gradual han ido apareciendo diversas manifestaciones clínicas causadas por el VHB-1. Inicialmente fue difícil demostrar viremia en esta enfermedad, situación que impedía demostrar la capacidad del virus de infectar útero y causar aborto. Actualmente se acepta que el VHB-1 es un agente potencial de aborto en el bovino asociado directamente con la forma respiratoria y conjuntival, excluyéndose toda relación con vulvovaginitis pustular infecciosa (Mars et al., 2000).

2.1.5. Distribución.

La IBR en alguna de sus manifestaciones clínicas, ha sido diagnosticada en numerosos países; como causa de aborto en los Estados Unidos de Norteamérica, Canadá, México, Japón, Bélgica. En Europa no se describe al VHB-1 como una causa importante de aborto. En Argentina se aisló el VHB-1 y *Listeria monocytogenes* desde un feto abortado. En otros países se ha descrito rinitis o vulvovaginitis pero no aborto, tal es el caso de Australia, Nueva Zelanda, Gran Bretaña, Sudáfrica, Tanzania, Israel, Dinamarca, Francia, Nigeria, Irán, Hungría, Bulgaria, Austria, Rusia y Suiza entre otros. En Latinoamérica los principales estudios de IBR se han realizado en Colombia, Perú, Brasil, Argentina, donde aislaron el virus de IBR desde fetos abortados y de un carcinoma ocular, en el Salvador presentan evidencias serológicas de esta enfermedad. En Chile, se aisló un virus semejante al descrito como agente causal de IBR; posteriormente se aísla un virus con características serológicas semejantes al VHB-1. Recientemente se aisló el virus del IBR desde fetos abortados lo cual fue detectado por

inmunofluorescencia directa en muestras de hígado, pulmón y bazo obtenido por inoculación de las muestras en cultivos celulares fue tipificado mediante seroneutralización como VHB-1, el estudio anatomopatológico evidenció la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares eosinófilos. (Obando & Rodríguez, 2000).

2.1.6. Características del VHB-1.

El virus determinado como agente causal de IBR tiene las características generales de los virus del grupo Herpes, está clasificado en el género Herpes virus, Familia Herpesviridae y se denomina Virus Herpes Bovino tipo 1 (VHB-1); se describen otros dos virus Herpes Bovinos (Tipos 2 y 3). Poseen ADN como material genético, su nucleocapside tiene forma cúbica y presentan una envoltura lipídica que los hace sensibles a los solventes de lípidos; son lábiles a pH extremos y se inactivan rápidamente a temperaturas superiores a 37° C. El VHB-1 se inactiva rápidamente con soluciones de NaOH al 0,5%, HgCl al 0,01%, derivados fenólicos al 1%, lugol yodado al 10%, cal clorinada (CaOC12) al 1%; la formalina (40% de solución de formaldehído al 5%) lo inactiva en un minuto. (Bwagamoï, 2002).

Desde un punto de vista antigénico no existen variaciones entre las cepas de VHB-1 aislados desde tracto respiratorio y sistema reproductivo. Además del VHB-1, VHB-2 y VHB-3 se han aislado numerosos herpes virus en bovinos los cuales son inmunológicamente diferentes y son conocidos como herpes virus bovinos no clasificados su rol patógeno y su significado económico está bien establecido, sin embargo uno de ellos el DN599, es capaz de producir enfermedad respiratoria al ser inoculado vía intranasal. Otros virus similares han sido aislados desde fetos abortados y bovinos con metritis, conjuntivitis y problemas respiratorios, incluyendo un animal con linfosarcoma. El significado etiológico de estas cepas así como su especificidad antigénica deben ser precisados para evitar errores en los diagnósticos. En ciertos casos se acepta que las variaciones antigénicas detectadas en algunas cepas del VHB-1 se habrían originado al coexistir en el huésped anticuerpos específicos y virus (Solis et al., 2003).



La existencia de relaciones antigénicas entre virus Herpes que afectan a diferentes especies animales ha sido detectada entre VHB–1 y herpes virus equino 1 (VHB–1), herpes virus Porcino Tipo 1 (VHP–1) y herpes virus Caprino; también se ha demostrado que el VHB–1 tiene antígenos comunes con el virus de la enfermedad de Marek o Neurolinfomatosis aviar (Campos, 2004).

2.1.7. Especies susceptibles.

En condiciones experimentales y de campo solamente el ganado bovino se puede infectar con VHB–1, aunque ovinos, caprinos y equinos responden con la producción de anticuerpos específicos. Al estudiar el virus (Iowa,) en los sueros de 1220 cerdos, se encontró que el 11,38% presentaba anticuerpos contra VHB–1. En Irán al estudiar 283 sueros humanos mediante una prueba de inmunodifusión se descubrió que el 4,2% eran positivos frente al antígeno del VHB–1. A pesar de estos hallazgos, hasta la fecha no se ha demostrado otro reservorio aparte de los bovinos. Sin embargo, McKercher advierte que los conceptos actuales sobre susceptibilidad al VHB–1 probablemente sean modificados debido a que porcinos, caprinos y venados pueden, aunque en raras ocasiones, ser infectados en forma natural por el VHB–1 (Alonzo et al., 2012).

2.1.8. Formas clínicas de la IBR.

El IBR se puede presentar afectando al tracto respiratorio y genital, conjuntivas oculares, produciendo aborto o encefalitis. Esta amplia variedad de manifestaciones clínicas asociadas con infección por el VHB–1 constituyen un problema teleológico, en que la causa de las infecciones naturales es multifactorial y es influida por la cepa viral actuante, vía de infección y estado inmunológico del animal expuesto (Fenner, 2001).

Forma respiratoria. La sintomatología clásica descrita para IBR se caracteriza por fiebre (40 a 42°C), aumento de la frecuencia respiratoria, anorexia y



depresión, tos seca y persistente, exudado nasal bilateral claro, salivación abundante; la mucosa nasal se presenta hiperémica pudiendo formarse membranas difteroides sobre ella, las que en casos graves se secan y se incrustan en el morro. Al caerse estas costras el tejido más interno se presenta de color rojo, determinando uno de los nombres, nariz roja, con que se conoce esta enfermedad (Vitale et al., 2004). El período de incubación es de aproximadamente 5 días, en casos agudos la enfermedad tiene una duración de 5 a 10 días. La mayoría de los animales se recupera salvo que se presenten complicaciones con infecciones bacterianas secundarias o infecciones virales concomitantes. En vacas en lactancia el IBR puede producir una marcada disminución en la producción de leche. Conjuntivitis clínicamente se asemeja a la queratitis infecciosa de los bovinos causada por *Moraxella bovis*, de allí que muchos diagnósticos clínicos confundan ambas entidades infecciosas (Betancur, 2006).

Generalmente los signos más notorios que se observan en la forma conjuntival corresponden a una inflamación de la conjuntiva palpebral y membrana nictitante, edema en la conjuntiva, presencia de una membrana necrótica de apariencia granular en la conjuntiva, exudado ocular, córnea opaca y queratitis secundaria con o sin ulceración. El diagnóstico de conjuntivitis asociado con IBR es reforzado por el hallazgo de pústulas o placas sobre la conjuntiva, constituidas por restos celulares necróticos de color blanco (Cerqueira et al., 2000). En los casos típicos de vulvovaginitis pustular, la mucosa de la vulva se presenta hiperémica con zonas puntiformes de color rojo oscuro en donde posteriormente se observan nódulos, vesículas y pústulas; la vulva se presenta edematosa y ocasionalmente se observan úlceras. El exudado mucopurulento generalmente no presenta mal olor. Los animales enfermos cursan con fiebre, su apetito disminuye notoriamente y se registra una disminución en la producción de leche. Los síntomas desaparecen luego de 12 días y el animal se recupera totalmente en dos o tres semanas. El diagnóstico diferencial se basa en que no todas las pústulas o lesiones necróticas son causadas por el VHB-1. Aparentemente la vulvovaginitis pustular puede seguir un curso subclínico, inaparente, que dificulta el diagnóstico clínico (Obando, 2005)



De acuerdo con lo descrito por varios investigadores no hay aborto cuando se presenta la forma genital el IBR, se denomina balanopostitis infecciosa a la presentación de lesiones similares a las de vulvovaginitis pustular, en el pene y prepucio, generalmente las úlceras se infectan con bacterias originando descargas prepuciales purulentas, al igual que en la vulvovaginitis, las lesiones se desarrollan después de un período de incubación de 1 a 3 días los toros afectados presentan fiebre, depresión y anorexia, además de impotencia temporal si no se produce una infección bacteriana secundaria los animales se recuperan entre 10 y 14 días, aunque el libido se demora varias semanas en volver a su estado normal, ocasionalmente se ha informado sobre casos de endometritis, metritis y metroperitonitis ocurridos después de operaciones cesáreas, estos cuadros se caracterizan por descarga uterina mucopurulenta, fiebre y útero crepitante. Una de las posibles causas de endometritis es la inseminación artificial con semen contaminado con VHB-1; estas endometritis en último término se traducen en alteraciones de la fecundidad (Esteves et al., 2003).

La posibilidad que el VHB-1 sea causante de infertilidad ha sido motivo de controversia describiéndose resultados contradictorios al respecto, algunos autores asocian al VHB-1 con baja calidad de semen, otros aceptan que la tasa de concepción disminuye cuando se usa semen contaminado con VHB-1, se menciona además la presencia del virus en una infección de vaginitis, cervicitis o epididimitis lo cual es una causa de disminución de la fertilidad. Finalmente, autores ingleses deducen que cuando se trata de monta natural, el VHB-1 no influiría en la fertilidad, el VHB-1 como agente causal de aborto ha sido determinado principalmente en los Estados Unidos de Norteamérica en donde es reconocido como un agente potencial de aborto en el bovino principalmente asociado con la forma respiratoria y conjuntival, el aborto se produce por VHB-1 siempre que la hembra preñada estuviera susceptible en el momento de la infección primaria, experimentalmente cuando se inoculan animales seronegativos con dosis altas de virus se produce un gran porcentaje de abortos en condiciones de campo se acepta que un 25% de las hembras puede abortar en un brote de IBR. La mayoría de los abortos por IBR ocurre en el último tercio de gestación, aunque se ha comprobado que los fetos

infectados pueden abortar en cualquier época de la gestación; el tiempo que transcurre entre la infección del feto y aborto puede ser de 8 días o aproximadamente 3 a 4 meses, de tal manera que el aborto se presentará cuando la enfermedad sea clínicamente evidente o unos 100 días después (Muylkens et al, 2007).

Los vasos sanguíneos y el mesénquima de las vellosidades cotiledonares son los lugares iniciales de infección viral, luego se infecta el epitelio trofoblástico, el virus llega a la placenta adsorbiendo a los leucocitos, la lesión típica encontrada en un feto abortado por infección con VHB-1 es una necrosis focal difusa en el hígado, aunque también se presenta en pulmones, bazo, timo, riñones y ganglios linfáticos y en placenta las lesiones histopatológicas son consideradas específicas no así las alteraciones patológicas macroscópicas tipo post- mortem que no tienen significado al momento del diagnóstico. La autólisis del tejido fetal que ocurre entre la muerte del feto y su aborto lo cual impide la demostración en cuerpos de inclusión intranucleares tipo 'A' lo que se manifiesta con la necrosis focal y cuerpos de inclusión los cuales pueden ser observados en glándulas adrenales aun cuando se presente autólisis, se recomienda examinar los estómagos del feto abortado para verificar la presencia de lesiones necróticas focales. Otras formas de IBR se han descrito alteraciones digestivas asociadas con VHB-1, referidas a lesiones ulcerativas en lengua, encías, mucosa bucal y esófago y enteritis catarral media (Ata et al., 2006). Las alteraciones del sistema nervioso central asociadas al VHB-1 han sido reportadas en forma ocasional, especialmente en animales jóvenes que cursan con encefalitis y leptomeningitis no purulenta el cuadro clínico se inicia con incoordinación de movimientos seguida por ataxia con períodos de excitación y depresión, la muerte ocurre 3 a 4 días después de iniciados los síntomas y precedida por un estado de coma, esta forma de IBR debe ser diferenciada de otras enfermedades del SNC tales como rabia, seudorrabia, polioencefalomalacia y envenenamiento por plomo. (Zapata et al., 2002).

La inoculación experimental del VHB-1 directamente en la ubre provoca mastitis, el virus ha sido aislado ocasionalmente en casos de mastitis la mayoría de los autores no considera al VHB-1 sea la causa importante de

inflamación de la ubre, la inoculación del virus en el útero produce leve endometritis y alteración temporal de la concepción no existe una relación etiológica definida entre dermatitis y presencia de VHB–1 en lesiones de piel. (Rosete et al., 2014)

La forma sistémica de IBR: se presenta en terneros recién nacidos que se han infectado en el útero durante el último tercio de la gestación o inmediatamente después del nacimiento. Los animales presentan fiebre y problemas respiratorios, ocasionalmente diarrea y peritonitis difusa. En muchos casos se detectan lesiones necróticas blancas en mucosa de lengua, boca, esófago y estómagos, esta forma sistémica de IBR es frecuentemente fatal. (Correa, 2007).

2.1.9. Diagnóstico.

Los síntomas y signos clínicos descritos anteriormente tienen un cierto valor diagnóstico, especialmente cuando dicha sintomatología es típica y se presenta en una región donde la enfermedad ha sido detectada previamente. El diagnóstico clínico debe ser corroborado por el laboratorio que cuenta con los siguientes recursos técnicos para realizarlo:

El aislamiento del virus en cultivos celulares de corteza de riñón fetal bovino en donde el VHB–1 produce efecto citopático típico caracterizado por destrucción celular pero que inicialmente ofrece células redondas, grandes y refringentes que conforman verdaderos anillos de destrucción fácilmente visibles al microscopio óptico, también se producen cuerpos de inclusión intracelulares eosinófilos tipo 'A'. La tipificación del virus se puede realizar por inmunofluorescencia directa o seroneutralización utilizando sueros específicos VHB–1 extrayendo el antígeno VHB–1 directamente desde órganos fetales, hígado, pulmón, bazo y en algunos casos de riñón, ganglios linfáticos y glándulas adrenales, mediante la prueba de inmunofluorescencia directa. (Winkler , Doster, & Jones, 2000)



Otros autores describen que cuerpos de inclusión intranucleares eosinófilos tipo 'A' de seroconversión o alza diagnóstica que se basa en el aumento del título de anticuerpos humorales en muestras séricas tomadas con 14 a 21 días de diferencia indicándose que la primera muestra debe ser tomada durante la fase aguda de la enfermedad o 24 a 48 horas después del aborto, rutinariamente se utiliza la prueba serológica de seroneutralización en cultivos celulares, la muestra clásica para el diagnóstico del IBR es el exudado nasal claro no contaminado extraído con tómulas estériles durante la fase aguda de la enfermedad en que el animal se presenta con un cuadro febril, para realizar estudios histopatológicos o de aislamiento viral se debe tomar muestras de lesiones postulares vaginales o de otras zonas afectadas exclusivamente durante la fase aguda de la enfermedad en que es posible encontrar virus o cuerpos de inclusión. En el caso de fetos abortados se recomienda tomar muestras de hígado, pulmón, bazo, ganglios linfáticos, glándulas adrenales y cotiledones. Cualquiera que sea la muestra ésta debe ser enviada rápidamente al laboratorio en un recipiente estéril o limpio que puede ser una bolsa de plástico u otro continente con suero fisiológico o un 'buffer' pero en ningún caso con formalina. (Duque et al., 2014).

2.2. Trabajos experimentales sobre la rinotraqueitis infecciosa bovina.

2.2.1. Infección inducida por el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina durante la preñez y su efecto sobre el cuerpo lúteo bovino.

Un estudio realizado en novillas las cuales fueron inoculadas intravenosamente con el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina a los 7, 14, 21, y 28 días los cuales se sacrificaron 13 a 15 días después de la inoculación se examinaron los tractos reproductivos para detectar cambios citopatológicos (microscopía óptica), virus (cultivo celular) y antígeno viral (evaluación inmunohistoquímica). Las novillas inoculadas con el virus a los 7 y 14 días presentaban ooforitis leve caracterizada por focos de necrosis y acumulación de células mononucleares en el cuerpo lúteo, la mayoría de estas novillas también tenían algunos folículos necróticos en al menos un ovario mientras que las novillas inoculadas con el virus a los 21 y 28 días no presentaban lesiones del cuerpo lúteo pero

los folículos eran necróticos en ambos ovarios. El antígeno viral se observó en todas las lesiones ováricas y el virus infeccioso fue aislado de algunos de los tejidos afectados en el útero de todas las novillas inoculadas a los 21 y 28 días, del cual 1 novilla inoculada en 7 días contenía la apariencia normal el útero de la otra novilla a los 7 días contenía una degeneración lo cual se atribuyó al virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina determinado por aislamiento viral, evaluación inmunohistoquímica y microscopía electrónica las novillas inoculadas con el virus a los 14 días no estaban preñadas en la necropsia pero se encontró evidencia histológica de que el ciclo estral había sido más largo de lo normal lo que indicaba que había ocurrido una muerte embrionaria temprana (Graham, 2013).

2.2.1.1. Fertilidad.

Los estudios experimentales en servicio demostraron de la posibilidad de que la infección por VHB-1 tenga un efecto negativo sobre la fertilidad lo cual se ha reconocido durante muchos años, uno de los primeros informes publicados en 1967 de un estudio experimental para investigar el impacto de la presencia de VHB-1 en semen utilizado en la inseminación artificial (IA), inicialmente se inseminaron 4 novillas con semen convencional con la cepa de VHB-1 K22 (VHB-1,2b, el semen fue depositado en el cuerpo del útero de cada novilla mostrando signos clínicos de la enfermedad con 3 novillas regresando al celo 9-13 días más tarde, mientras la cuarta novilla concibió y produjo un becerro vivo. (Raaperi et al., 2012).

En otras investigaciones realizadas con biopsias endometriales se pudo observar que el desarrollo de una endometritis necrotizante crónica fue aún evidente a los 31-47 días después de la inseminación, histopatológicamente también se observaron cambios en la vulva, la vagina y oviductos de algunos animales en esta etapa lo cual 5 de 8 animales examinados tenían cuerpos lúteos quísticos un estudio posterior más detallado investigó el efecto de VHB-1 en la cría por inseminación artificial y monta de vaquillas seronegativas y las vacas fueron inseminadas con semen del cual una cepa australiana de VHB-1 fue aplicada naturalmente con toros los cuales fueron inoculados



prepusialmente 2 días antes con el mismo virus, después de la inseminación artificial sólo 2 de 10 animales concibieron y otros 2 animales concibiendo en la segunda inseminación libre de VHB-1, además 4 de 6 animales no mostraron uno o más ciclos en general hubo 4,5 servicios por concepción en este grupo en comparación con los 1.7 servicios por concepción en un grupo control en el que 9 de 10 animales se preñaron en la segunda inseminación sin incidencias de ciclos en celos acortados, por el contrario la cría por el servicio natural produjo resultados independientes del estado de la infección los 10 vaquillas servidas por toros no infectados estaban preñados después de 2 servicios mientras que 9 de 10 animales que recibieron monta por toros infectados con VHB-1 tuvieron que recibir una segunda monta para su concepción de 1,2 y 1,4. Esto de comparo con otro grupo de animales donde se utilizó semen infectado con VHB-1 lo cual desarrolló lesiones dentro de las 48 horas después de la inseminación artificial, los mismos síntomas aparecieron a los 9-11 días en los toros inoculados con el virus, en los animales inseminados artificialmente con el virus se recuperó consistentemente con una excreción de 8,8 días, el virus fue recuperado intermitentemente de algunos animales hasta 40 días después de la inseminación, en el examen histopatológico realizado a los 6 animales del grupo de IA mostraron lesiones de endometritis crónica en la naturaleza de leve a grave las lesiones también se registraron en el oviducto, vagina y las glándulas de bartolin, los autores concluyeron que la vía de infección es crítica para determinar si la endometritis y la infertilidad ocurren aunque la introducción del VHB-1 por servicio no parece afectar significativamente la fertilidad, la inoculación de VHB-1 en el útero puede causar infertilidad debido a una endometritis y también aumentar la incidencia de ciclos cortados del celo (Ruiz, Jaime, & Vera, 2009).

El potencial impacto negativo del uso de VHB-1- en el semen contaminado también fue destacado por un estudio que informó que las vacas en 20 rebaños que fueron inseminados con semen contaminado tenía una tasa de no retorno del 13,4% comparado con el 60,8% cuando se utilizó el semen de otros toros no contaminados, además el 22,1% de las vacas al servicio en el grupo infértil había acortado el celo. (Gould et al, 2013).

2.2.1.2. Ciclos.

En la década de 1980 un grupo de 12 novillas seronegativas fueron inoculadas intrauterinamente, un día después del apareamiento natural con toro no infectado 4 novillas recibieron la cepa FI (fetal Iowa) (tipo BoHV-1.2a) mientras que las otros animales recibieron una de las dos cepas (tipo BoHV-1.1), los animales fueron sometidos a un examen post mortem 4-14 días más tarde el cuerpo lúteo 8 de las 12 novillas inoculadas con virus se observó lesiones macroscópicas de edema, hemorragia y necrosis que registraron en el útero de las novillas que fueron inoculadas con cualquiera de las otras cepas, se observaron lesiones microscópicas desde la endometritis focal leve hasta la necrosis difusa con una metritis grave, además la inflamación lútea de 2 novillas tuvieron áreas de necrosis en el ovario contralateral con una Oophoritis severa difusa necrosante, sobre la base con estos hallazgos los autores concluyeron que en primer lugar la ausencia de lesiones en los cuernos uterinos eran poco proclives a interferir con el blastocito en esta área 3 semanas después de la concepción y por lo tanto la infertilidad asociada con la exposición intrauterina es poco probable que sea una consecuencia directa de los efectos del virus sobre el epitelio uterino. En segundo lugar el virus (VHB-1) puede producir inflamación y necrosis del CL después de la exposición intrauterina en el estro, sin embargo concluyeron que los quistes intra-luteales son probablemente el resultado directo del daño viral debido a la falta de correlación entre su presencia y la detección de las lesiones o el aislamiento del virus en bovinos. (Ruiz, Jaime & Vera., 2010)

Su incidencia en algunos animales de control también da diferencia en los resultados de los virus aislados con (VHB-1) que es digno de mención en un estudio realizado en Colorado(USA) se aislaron los virus y se utilizaron para infectar de forma seronegativos a novillas al día siguiente del servicio natural, se inocularon 2 novillas por la vía Intravenosa (I.V.), intramuscular (I.M.) e intranasal (I.N.), luego los animales fueron sometidos al examen post mortem a los 11-15 días de su inoculación con el virus las lesiones ováricas encontrados en los ovarios de 4 vaquillas (3 i.v., 1 i.m.) microscópicamente fueron recuperadas los ovarios de cada uno de estos animales pero no de otras partes del tracto



reproductivo no se detectaron lesiones macroscópicas o microscópicas en los ovarios de los animales expuestos por vía aerosol. Los autores concluyeron que el VHB-1 fácilmente obtiene acceso a los ovarios por lo que es particularmente susceptible a la infección por esta ruta, propusieron que la ausencia de las lesiones después de la infección por aerosoles refleja ausencia de viremia con incidencia de afección ovárica relacionados con la duración por una post-infección con el virus. (Ruiz,Jaime & Vera., 2010).

2.2.1.3. Estudios epidemiológicos.

En varios estudios epidemiológicos se han investigado el impacto del (VHB-1) sobre el rendimiento reproductivo en rebaños de vacunos, uno de ellos se examinó el impacto de las infecciones subclínicas naturales, en las pérdidas de número limitado de vacas lecheras y novillas no vacunadas en Turquía. El estudio incluyó 201 vacas y 89 novillas ganado bovino en 107 rebaños diferentes todos inseminados por un solo individuo utilizando semen del mismo toro, el promedio de días abiertos para vacas que eran seropositivas en el momento del servicio ($99,3 \pm 16$ días) fue significativamente superior a la registrada para las vacas seronegativas ($82,0 \pm 3,8$ días), las tasas de concepción fueron más altas en vacas seronegativas (38,98%) que en vacas seropositivas (33,33%), por el contrario la tasa de concepción fue mayor en vacas seropositivos (84,61%) ,que las novillas seronegativas (56,57%), aunque en ningún caso hubieron diferencias estadísticamente significativas. Los autores concluyeron que los animales que mejoraron la concepción fueron las vaquillas seropositivas esto podría ser a consecuencia de su inmunidad previa al (VHB-1) en el tiempo de servicio aunque se podría mencionar que el efecto protector habría sido similar en la vacas seronegativas. (Posado et al., 2013).

En un estudio más amplio se realizó en rebaños lecheros de 9.637 animales en los cuales se encontraron 65 casos seropositivos y 38 seronegativos a (VHB-1) lo cual estaba relacionado significativamente con el rendimiento reproductivo, con el mayor riesgo de índice de inseminación y abortos que ocurren en rebaños con una sero-prevalencia moderada, las posibilidades para estos dos eventos fueron 5,2 (95% C.I. 1,5 - 18,4) y 7,3 (95% C.I. 2,0-26,9),



respectivamente este estudio no encontró una asociación significativa entre (VHB-1) y la enfermedad respiratoria aguda en el ganado adulto aunque un análisis de los datos se encontró una alta incidencia de la enfermedad respiratoria en terneros no destetados con una baja a moderada (OR 14,8) y una alta (OR 19.2) con una sero-prevalencia de VHB-1 entre las vacas (Waldner, 2005). Un estudio reciente de ocho rebaños lecheros comerciales en Irlanda encontró una asociación significativa entre pruebas serológicas de exposición al (VHB-1) y reducción de la tasa de concepción, mientras que en un estudio de los rebaños de carne de vacuno canadiense no se encontró evidencia de asociación entre la serología del (VHB-1) en el estado del animal y su rendimiento reproductivo (Chaparro et al., 2002)

2.2.1.4. Aborto.

La capacidad del virus que causa la enfermedad del IBR que induce abortos ha sido conocida por muchos años, las cepas de campo tanto de tipo silvestre como vacunas vivas modificadas para inducir el aborto ha sido reconocida como uno de los primeros informes de 1964, describiendo la patología de los abortos provocados por (VHB-1) un brote de origen natural estudios experimentales y tras el uso de vacunas vivas modificadas en bovinos gestantes este estudio sugiere una susceptibilidad relacionada con la edad del feto con casi todos los abortos ocurridos en vacas preñadas por lo menos seis meses en el brote natural descrito en el mismo informe no había habido otra enfermedad similar observada en el rebaño (Navarrete et al 2002).

Las lesiones fueron similares en todos los fetos examinados y las distinciones entre abortos provocados por infección natural, infección experimental o vacunación, no se observaron lesiones macroscópicas en ningún feto examinados histológicos de la lesión típica observada fue necrosis focal y se consideró que esto es una especificidad considerable para la enfermedad, si bien la necrosis focal se encontró en muchos tejidos se observó mejor y se produjo con mayor consistencia en el hígado, las lesiones eran también comunes en el bazo, los lóbulos tímicos, ganglios linfáticos, riñón, corteza suprarrenal, endometrio, uterino y la placenta. Un estudio epidemiológico

posterior de 1.816 vacas en 26 rebaños con problemas de aborto encontró una relación causal entre el uso de una vacuna viva temprana modificada de IBR, el aborto y la infertilidad los autores informaron que las vacunas administradas a animales adultos con vacuna viva modificada en estado de gestación tenían una tasa de aborto de 47,7%, las vacas preñadas y expuestas en contacto con terneros vacunados con el virus tuvieron un 20,5% de aborto (Pritchard , Banks, & Vernon, 2003).

Un informe separado también describió un aborto en un rebaño lechero después de la administración de una vacuna de IBR viva modificada de las 30 gestantes vacunadas, 23 en gestación , 4 animales de seis meses en gestación terminó en aborto o muerte fetal entre 21 y 112 días después de la vacunación, representando un pérdida total del preñez de 76.7%, siete animales gestantes produjeron un feto momificado, en un estudio temprano demostró la eficacia de la vacuna contra el IBR contra el aborto estas se realizaron bien por la vía intravenosa y muscular se probaron las cepas (HVB-1 P8) aislado de las vías respiratorias del ganado bovino y (HVB-11) aislado de un feto, después de la administración por cualquiera de las dos vías se observaron signos de IBR en ambos grupos por lo que se observó un curso clínico más corto y más leve después de la inyección acompañado por la secreción nasal del virus, una alta incidencia de abortos ocurrieron en novillas vacunadas con el virus 10 de 16 Novillas (62.5%) abortaron en comparación con 1 de 17 (5.9%) de Novillas del tratamiento control, las principales observaciones en este estudio fueron que la incidencia del aborto no fue afectada por factores sino por la inoculación de la cepa del virus en la etapa de gestación (3-6 meses), los abortos en los grupos de control ocurrieron entre 8 y 41 días post-inoculación del virus en los animales vacunados y los autores observaron un mayor éxito en el aislamiento del virus de la placenta en comparación con los tejidos fetales. Esta observación fue apoyada por las conclusiones de otros estudios que también destacó que el tejido placentario es como un espécimen en el diagnóstico adecuado de la enfermedad (Whetstone et al. , 2003)

Otros estudios también han demostrado la eficacia de una vacuna intra-nasal del IBR en la prevención del aborto, sin embargo aunque se demostró que la



vacuna es segura y eficaz en este estudio los resultados obtenidos de los grupos de control demostró nuevamente el virus es abortivo (HVB-1), en el primer grupo de control los fetos promedio de 8,5 meses de edad que van desde 7,5 y 9 meses 8 fetos nacieron, 3 normalmente y se mantuvieron sanos, 3 nacieron a término pero murió a los 12 días de edad, 1 nació prematuramente y murió poco después del nacimiento y el feto final fue abortado. En el segundo grupo control el feto promedió entre 6 y 5 meses en el momento del tratamiento solo 1 ternero fue considerado normal cuando 2 nacieron vivos pero muriendo en una semana y los 5 restantes atribuido al desperdicio fetal (abortos, momificación o nacimiento prematuro), así en general 12 de 16 animales abortaron los cuales tenía un feto momificado, un feto con latente infección o parieron prematuramente o parieron a terneros que murieron a los 12 días de edad. Los autores reconocen que los terneros que murieron después del nacimiento pueden haber contraído infección en el útero por inhalación después del parto o por ambas rutas, un estudio más detallado de 4 de estos 5 terneros que murieron poco después del nacimiento se describió lesiones caracterizadas por necrosis focal distribuida en muchos tejidos (Moore , Gunn, & Walls, 2000).

2.2.2. Lesiones ováricas inducidas en novillas por inoculación intravenosa con virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina modificada in vivo al día siguiente de la Inseminación Artificial.

Cuatro cepas vacúnales comercialmente disponibles en el mercado del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina modificada fueron estudiados en células embrionarias del riñón bovino lo cual fueron inoculadas a las novillas por vía IV al día siguiente de la IATF con 5,0 ml de fluido de cultivo celular, diluido de cada una de las 4 cepas, el virus se localizó a partir de hisopos nasales y la sangre se recogió durante la semana después de la inoculación, las novillas 9 a 14 días después de la inoculación se sacrificaron y se observaron lesiones inflamatorias y necróticas leves marcada en los cuerpos lúteos y ovarios de las vaquillas, las lesiones fueron similares y casi tan severas como las resultantes de la inoculación de cepas virulentas de virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina ,también se encontraron lesiones suprarrenales en todas las vaquillas examinadas el virus se localizó en los ovarios de 4 de las 8 vaquillas

sin embargo el virus se confirmó en los ovarios de las 8 vaquillas utilizando estudios inmunofluorescentes o ultraestructurales con lo que se pudo observar que las novillas presentaban un daño lúteo severo lo cual estuvo directamente relacionado con las concentraciones bajas de progesterona plasmática(Moore , Gunn, & Walls, 2000).

Al evaluar el resultado de la infección en diferentes etapas de desarrollo de la CL y concepción se inocularon a pares de novillas por vía intravenosa con la cepa del virus del IBR a los 7, 14, 21 y 28 días después del servicio con examen post mortem 13-15 días después de la inoculación se pudo observar una ooforitis severa ,en estudios anteriores asociados con la infección en el estro las novillas inoculadas a los 7 y 14 días después del servicio tuvieron una ooforitis leve con algunos folículos necróticos en uno o ambos ovarios, las novillas inoculadas a los 21 y 28 días post-inseminación artificial no presentaban lesiones en el cuerpo lúteo pero si numerosos folículos necróticos en sus ovarios con el antígeno se observó todas las lesiones por inmunohistoquímica, el útero de una novilla inoculada a los 7 días después de la inseminación artificial contenía un grado de degeneración del cual se aisló (HVB-1) por lo siguiente en novillas inoculadas 14 días después de la inseminación artificial se pudo evidenciar que no estaban preñadas pero había evidencia de que el ciclo de celo post-reproductivo había sido más tiempo de lo normal sugiriendo que la concepción se dio pero la muerte embrionaria había ocurrido, el útero de las novillas inoculadas a los 21 y 28 días después de la inseminación artificial y otra novilla inoculada el día 7 contenía una aparición normal de la concepción así los resultados indican que el patógeno del (HVB-1) en el CL depende del estado físico del animal disminuyendo la gravedad de las lesiones como el intervalo de la reproducción por lo que poco después de la ovulación se desarrollaron una neurovascularización intensa en la teca interna folicular y los autores especulan que la infección que ocurre en el estro puede afectar a un gran número de células que se exponen simultáneamente lo cual conduce a la necrosis difusa del CL (Moore , Gunn, & Walls, 2000).

A diferencia de cuando el CL es completamente funcional y menos vascularizado puede resultar en un menor nivel de exposición y patología

posterior habiendo identificado previamente la necrosis difusa del CL y la deficiencia de progesterona que va acompañada de una infección en el estro como un medio por el cual (HVB-1) puede prevenir la continuidad de la preñez esto se considera a causa de una infección del embrión en desarrollo, ocurriendo cuando las novillas son inoculadas 7-14 días después de la inseminación artificial como un mecanismo adicional por el cual la infección pueden afectar a la fertilidad en este caso la muerte embrionaria es no el resultado del daño lúteal sino más bien la infección citócida del trofoblasto. En un estudio posterior sobre el efecto de HVB-1 sobre la fertilidad de novillas en el período embrionario temprano los mismo investigadores expusieron dos grupos de tratamiento los de seronegativos novillas con (HVB-1) por la inyección intramuscular a los 7 y 14 días después de la inseminación artificial, la preñez ocurrió en todos las 5 novillas no inoculadas, mientras que sólo 1 de 8 novillas inoculadas mantuvieron su gestación (Benoît et al., 2007)

Estos resultados fueron atribuidos a la muerte embrionaria temprana en lugar de un fracaso para ovular con periodos en el estro normal sólo un poco más de lo esperado en ausencia de la concepción 3-4 meses más tarde todos los inoculados, las novillas fueron tratados con dexametasona y los tejidos sometidos a un examen histológico y virológico, se aisló el virus de las glándulas suprarrenales de 7 de 8 novillas en tratamiento de la vagina y orificios nasales de las cuales se obtuvo hisopos de 3 y 5 de estas novillas respectivamente, el virus fue también aislado de los tejidos reproductivos de un ovario, infundíbulo y del útero, en el examen histológico sólo se observaron cambios en las glándulas suprarrenales caracterizado por una infiltración linfohistiocítica, acompañada menos frecuentemente por focos necróticos. En un estudio anterior los mismos investigadores habían aislado el virus FI donde había reducido la patogenicidad del virus en términos de su capacidad para causar endometritis y ooforitis para caracterizar más la capacidad infectiva del virus, realizaron un estudio para probar su efecto sobre la preñez y así determinar si era patógena para el desarrollo del cuerpo lúteo en vaquillas (Benoît et al, 2007).

2.2.3. Lesiones ováricas en novillas expuestas a virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina por vías no genitales al día siguiente de la Inseminación Artificial.

12 vaquillas fueron expuestas a un aislamiento del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina en relación a todas las inoculaciones que se hicieron el día después de que las novillas estuvieran en celo, se inocularon pares de novillas con el virus por vía intravenosa, intramuscular o expuesta por aerosol, las novillas fueron sacrificadas a los 11-15 días después de la inoculación y sus vectores reproductivos, ovarios fueron sometidos a estudio virológico y patológico donde se aisló al virus de los ovarios de las 4 novillas inoculadas por vía intravenosa 3 de las 4 novillas inoculadas intramuscularmente pero no de los ovarios de vaquillas expuestas por aerosol, los aislamientos y lesiones de virus fueron con una sola excepción confinados al ovario que contenía el cuerpo lúteo, en los ovarios de los cuales se aisló el virus de la IBR las lesiones en el cuerpo lúteo variaron desde necrosis focal e infiltración de células mononucleares hasta hemorragia difusa y necrosis la mayoría de estos ovarios también tenían folículos necróticos y una acumulación difusa de células mononucleares en el estroma. Se concluyó que las lesiones son fácilmente inducidas en los ovarios de novillas post-estro como resultado de la diseminación hematógica del virus de la IBR y sugieren que las diferencias en el desarrollo de la lesión observadas con las 3 vías están relacionadas con si hubo o no una viremia (Nardelli et al., 2008)

2.2.4. Efecto de las infecciones primarias y recurrentes causadas por el virus del IBR en el ovario bovino.

Se inocularon seis novillas en el celo con el virus de la rinotraqueítis bovina infecciosa (IBR) las mediciones subsiguientes de la progesterona plasmática indicaron que la función del cuerpo lúteo estaba deprimida en todas las vaquillas, en el primer ciclo estral después de la inoculación los valores de progesterona no excedieron 2 ng / ml en 3 novillas, 5 novillas tuvieron valores máximos de progesterona di-estrual mayores o iguales a 5 ng / ml dentro de las 5 semanas posteriores a la inoculación pero en la sexta novilla esta cantidad de progesterona no estuvo presente hasta 8 semanas después de la inoculación 3

a 5 meses después de la inoculación, todas las novillas recibieron 5 inyecciones diarias de dexametasona, 2 novillas recibieron cada una durante el metaestro, el diestro o el proestro el recrudescimiento posterior del IBR se demostró en todas las vaquillas por el aislamiento del virus a partir de muestras de hisopo vaginal o nasal, las novillas murieron 10 a 17 días después del inicio del tratamiento con dexametasona y se examinaron sus órganos reproductores para detectar lesiones producidas por IBR no se observaron lesiones por lo cual se aisló sólo del cuerpo lúteo de una novilla que recibió dexametasona durante los diestros (Biuk-Rudan et al., 2000).

2.2.5. Control y Prevención.

Una de las principales características del (HVB-1) que debe tenerse en cuenta para su control es su capacidad de persistir en el animal de por vida ya que el (HVB-1) permanece integrado por un periodo indefinido en células preferenciales, además se debe separar animales enfermos de sanos, revisión periódica del plantel y desinfecciones frecuentes, eliminar fetos y anexos producto de abortos evitando el contacto con animales susceptibles se recomienda supervisar el movimiento de ganado evitando el ingreso de nuevos animales sin conocer su estado sanitario, realizar cuarentena y análisis serológicos anuales para evaluar el estado de la enfermedad en el hato con eliminación de animales seropositivos(Winkler,Doster & Jones,2000). Para la prevención de la Rinotraqueitis infecciosa bovina se debe inmunizar a las vacas reproductoras y lecheras 3 a 4 semanas antes de la época de reproducción, se recomienda vacunar anualmente para que las madres tengan anticuerpos en calostro (Abril et al., 2004).

Ante una alta incidencia de la enfermedad es imprescindible que se tomen rápidamente medidas de control como la inmunización activa se han usado muchas vacunas vivas atenuadas e inactivadas así como vacunas de subunidades y marcadas, la vacunación reduce la severidad de la enfermedad, la replicación viral y la transmisión pero no es capaz de prevenir la infección, tampoco impide la latencia, ni protege contra la reactivación de la enfermedad del IBR (Antinone et al., 2006).

CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Materiales.

Los materiales que se utilizaron para la investigación son los siguientes:

3.1.1.- Recursos biológicos

Se utilizaron 60 vaquillas Holstein, los animales fueron sexualmente maduros, con un peso mínimo de 350 Kg, en una edad entre 18 y 24 meses, que han vivido por lo menos 1 año en el trópico, con una Condición Corporal entre 2,75 a 3,5 y vacunados para fiebre aftosa, rabia, carbunco aparentemente sanos.

3.1.2.- Materiales.

Tabla 1. Materiales Necesarios para la Investigación.

RECURSOS	TIPO
Humanos	Investigador
Físicos	Libros
	Materiales de oficina
	Portátil
	Impresora
	Copias
	Kit de ropa de trabajo
	Implantador de CIDR
	Jeringuillas de 5 y 10 cc
	Ecógrafo
	Tubos para muestras sanguíneas
	Guantes ginecológicos y quirúrgicos
Tecnológicos	Internet

Químicos	Implante intravaginal de P4
	Benzoato de estradiol
	Prostaglandina
Biológicos	60 novillas Holstein

3.2.- Caracterización de la unidad de análisis.

Las unidades experimentales y de análisis fueron para cada variable estudiada se estimaron la media aritmética y el error estándar (EE). Se probó si existían diferencias significativas entre los genotipos mediante la aplicación de análisis de la variancia (ANOVA) a un criterio de clasificación y pruebas de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer HSD ($p \leq 0,05$). Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa JMP (JMP®, 2003) en su versión 5.0 para Windows lo cual se lo realizó de la siguiente manera;

Tabla 2. Esquema del experimento.

Grupos	Código	Tratamientos	repetición	Nº Animales
Sin vacunación (testigo)	G1	1	20	20
Con vacuna a virus vivo. (V.V).	G2	1	20	20
Con vacuna a virus muerto. (V.M)	G3	1	20	20
TOTAL				60

Fuente: El autor

Tabla 3. Operacionalización de las variables.

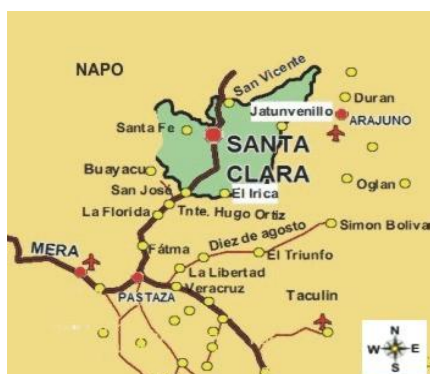
Variable	Concepto	Dimensión	Indicador	Escala
Vacunación	Aplicación de un inmunógeno, para uno o más agentes infecciosos específicos.	Vacunación parenteral	Registros de vacunación	Virus vivo Virus muerto
Concentración de progesterona	Cantidad de progesterona	Progesterona en sangre	Resultados de laboratorio	ng/dl
Tamaño del cuerpo lúteo	Diámetro del cuerpo lúteo	Ovario	Hoja de campo examen ecográfico	mm

Fuente: El autor

3.3.- Lugar de la investigación.

El trabajo se realizó en el Cantón Santa Clara Provincia de Pastaza en la Amazonia Ecuatoriana, investigativo de recolección de las muestras (trabajo de campo), Chequeo ginecológico y vacunación del virus de la Rinotraqueitis a los animales. El procesamiento de las muestras de sangre se realizó en el Laboratorio clínico veterinario BIOMICROVET, Cuenca-Ecuador.

Figura 1. Cantón Santa Clara –Pastaza.



Fuente: Google Earth

3.4.- Metodología de trabajo.

3.4.1.- Fase de selección.

Selección de 60 vaquillas Holstein mestiza, que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos para la investigación, de esta manera se procedió a la conformación de los tres grupos, G1 con 20 individuos sin vacunación, G2 con 20 individuos vacunados con virus vivo (cattlemaster) y G3 n=20 vacunados con virus muerto (hiprabovis-4).

3.4.2.- Fase de sincronización.

En esta etapa los animales fueron sometidos a un programa de sincronización, para que las vaquillas inicien de manera homogénea un nuevo ciclo estral, dentro del cual se puede realizar el monitoreo respectivo. En esta sincronización se utilizó: Benzoato de estradiol en dosis de 0.5 cc por animal, y un dispositivo intravaginal CIDR de liberación lenta de Progesterona el día cero, siete días posteriores se realizó la aplicación de prostaglandina, retiro del implante de P4, inyección de estradiol dando inicio así a un nuevo ciclo estral, lo cual se estimó que la ovulación sea aproximadamente a las 60 hs pos tratamiento y de allí determinar los tiempos para los estudios posteriores del CL)

3.4.3.- Fase de profilaxis vacunal.

La aplicación de la vacuna se lo realizó 60 horas post tratamiento de sincronización, la profilaxis vacunal respectiva fue con el virus vivo (cattlemaster) y muerto (hiprabovis-4), como se explicó anteriormente en el esquema del experimento.

3.4.3.1.- Fase de análisis morfológico del cuerpo lúteo.

El monitoreo del tamaño del cuerpo lúteo se realizó por ultrasonografía, de acuerdo al siguiente esquema:

- Primera medición al 12^o día después de la detección del celo de la vacunación.
- Segunda medición al 18^o día después de la detección del celo de la vacunación.

3.4.3.2.- Fase de análisis del porcentaje de P4 en la sangre.

Al igual que en la etapa anterior se realizó 2 mediciones, pero en este caso fue de los niveles de P4 en sangre venosa, esta etapa se manejó de forma simultánea con la anterior:

- Primera medición al 12^o día después de la detección del celo de la vacunación.
- Segunda medición al 18^o día después de la detección del celo de la vacunación

3.5.- Diseño estadístico.

Este trabajo se encuentra dentro de un tipo de estudio experimental y se usó un Diseño de Completamente al Azar (DCA), los resultados fueron sometidos a la prueba de homogeneidad, para cada variable estudiada se estimaron la media aritmética y el error estándar (EE). Se probó si existían diferencias significativas entre los genotipos mediante la aplicación de análisis de la variancia (ANOVA) a un criterio de clasificación y pruebas de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer HSD ($p \leq 0,05$). Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa JMP (JMP®, 2003) en su versión 5.0 para Windows

CAPITULO IV: RESULTADOS.

4.1. Análisis morfológico del cuerpo lúteo a los 12 días (mm).

Al evaluar el diámetro del cuerpo lúteo por la técnica del ultrasonografía en los animales en tratamiento con la vacuna del virus Rinotraqueitis Bovina, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 4. Valores porcentuales promedios y significación del tamaño del cuerpo lúteo a los 12 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo y muerto.

TRATAMIENTOS	Cuerpo Lúteo 12 días (mm)
Testigo 1 (t)	26,5±0,9 a
Virus vivo 2 (vv)	19,5±1,0 b
Virus muerto 3 (vm)	19,2±0,9 b

Al realizar el análisis estadístico los resultados fueron sometidos a la prueba de homogeneidad de varianzas utilizando la prueba de Tukey-Kramer HSD, cumpliendo el supuesto de normalidad de datos. Al realizar el análisis de varianza (ADEVA), se probó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$), por lo tanto el grupo de testigo (T1) (Tabla 4), mostró un mayor diámetro promedio del tamaño del cuerpo lúteo, con un 26,5±0,9 mm, en relación a los demás tratamientos T2 (19,5±1,0 b) y T3 (19,2±0,9 b) existiendo diferencias significativas entre los tratamientos en estudio.

4.2. Análisis morfológico del cuerpo lúteo a los 18 días (mm).

Luego del procesamiento y la ultrasonografía del cuerpo lúteo a los 18 días, realizando un análisis porcentual para cada grupo en estudio se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 5. Valores porcentuales promedios y significación del tamaño del cuerpo lúteo a los 18 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo y muerto.

TRATAMIENTOS	Cuerpo Lúteo 18 días (mm)
Testigo 1 (t)	29,9±0,9 a
Virus vivo 2 (vv)	17,9±1,0 b
Virus muerto 3 (vm)	17,9±0,9 b

En la tabla 5, se aprecia los valores porcentuales promedios de la variable en estudio en los dos grupos de investigación, se obtiene los resultados sin ninguna varianza. Al realizar el análisis de varianza (ADEVA), se probó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$). Luego del Análisis estadístico los resultados fueron sometidos a la prueba de homogeneidad de varianzas utilizando la prueba de Tukey-Kramer HSD, donde se puede diferenciar que el grupo T1 testigo mostró mayor diámetro promedio del cuerpo lúteo, con un ($29,9 \pm 0,9$ a), en relación a los demás tratamientos T2 ($17,9 \pm 1,0$ b) y T3 ($17,9 \pm 0,9$ b) demostrando así que en esta segunda medición del CL sigue existiendo diferencias significativas entre los tres tratamientos en estudio.

4.3. Análisis del porcentaje de P4 en la sangre a los 12 días.

Al realizar el análisis bioquímico de la sangre de los animales en tratamiento con la vacuna del virus Rinotraqueitis Bovina, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 6. Valores porcentuales promedios y significación del porcentaje de P4 en la sangre a los 12 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo y muerto.

TRATAMIENTOS	PROGESTERONA 12 días ng/dl
Testigo 1 (t)	5,1±0,6 a
Virus vivo 2 (vv)	3,2±0,7 ab
Virus muerto 3 (vm)	3,1±0,6 b

Al realizar el Análisis bioquímico de la sangre de los animales en tratamiento con el virus los resultados fueron sometidos a la prueba de homogeneidad de varianzas utilizando la prueba de Tukey-Kramer HSD, cumpliendo el supuesto de normalidad de datos. Al realizar el análisis de varianza (ADEVA), se probó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$), donde el grupo T1 testigo (Tabla 6) mostró una mayor concentración de Progesterona P4, con ($5,1 \pm 0,6$ a), en relación a los demás tratamientos T2 ($3,2 \pm 0,7$ ab) y T3 ($3,1 \pm 0,6$ b) demostrando que existe diferencias significativas entre los tratamientos en estudio.

4.4. Análisis del porcentaje de P4 en la sangre a los 18 días.

Luego del procesamiento y análisis bioquímico del porcentaje de P4 en la sangre a los 18 días, realizando un análisis porcentual para cada grupo en estudio se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 7. Valores porcentuales promedios y significación del porcentaje de P4 en sangre a los 18 días después de la detección del celo de la vacunación con el virus vivo y muerto.

TRATAMIENTOS	PROGESTERONA 18 días ng/dl
Testigo 1 (t)	$5,7 \pm 0,8$ a
Virus vivo 2 (vv)	$2,8 \pm 1,0$ ab
Virus muerto 3 (vm)	$2,8 \pm 0,8$ b

En la tabla 7, se aprecia los valores porcentuales promedios de la variable en estudio en los tres grupos de investigación, se obtiene los resultados sin ninguna varianza. Al realizar el análisis de varianza (ADEVA), se probó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$), luego del Análisis estadístico los resultados fueron sometidos a la prueba de homogeneidad de varianzas utilizando la prueba de Tukey-Kramer HSD. En la presente tabla podemos mencionar que existe diferencias significativas los tratamientos T1 testigo ($5,7 \pm 0,8$ a), T2 virus vivo ($2,8 \pm 1,0$ ab) y T3 virus muerto ($2,8 \pm 0,8$ b) en la concentración de progesterona en la sangre por lo cual podemos manifestar



que la vacunación profiláctica con vacunas del IBR con virus vivo y muerto si influyo en los niveles de P4 entre los tratamientos del presente estudio donde se observa claramente una diferencia en tratamiento testigo el cual mantiene los niveles altos de progesterona en relación a los dos tratamientos con la aplicación vacunal.

CAPITULO V: DISCUSIÓN.

Woodbine et al.(2009) Realizó un trabajo en novillas que fueron inoculados intravenosamente con virus de la rinotraqueitis bovina infecciosa a los días 7, 14, 21, y 28 ,se sacrificaron 13 a 15 días después de la inoculación para luego examinar los tractos reproductivos para detectar cambios citopatológicos (microscopía óptica), virus (cultivo celular) y antígeno viral (evaluación inmunohistoquímica),las novillas inoculadas en los días 7 y 14 presentaban ooforitis leve caracterizada por focos de necrosis y acumulación de células mononucleares en el cuerpo lúteo la mayoría de estas novillas también tenían algunos folículos necróticos en al menos un ovario, las novillas inoculadas en los días 21 y 28 no presentaban lesiones del cuerpo lúteo pero los folículos necróticos eran numerosos en ambos ovarios, el antígeno viral se observó en todas las lesiones ováricas y el virus infeccioso fue aislado de algunos de los tejidos afectados en útero de todas las novillas inoculadas a los 21y 28 días . En 1 novilla inoculada en el día 7 contenía conceptos de apariencia normal mientras que el útero de la otra novilla contenía una degeneración que estaba infectado con virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina determinado por aislamiento viral, evaluación inmunohistoquímica y microscopía electrónica, las novillas inoculadas en el día 14 no estaban preñadas en la necropsia pero se encontró evidencia histológica de que el ciclo estral pots-servicio había sido más largo de lo normal, lo que indicaba que había ocurrido una muerte embrionaria temprana a causa de la infección con el IBR.

Navarrete et al.(2002) en su estudio realizado en doce novillas que fueron expuestas a un aislamiento de virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) relacionando con un brote de enfermedad respiratoria bovina, todas las inoculaciones se hicieron el día después de que las novillas estuvieran en celo se inocularon pares de novillas con el de virus por vías intravenosas, intramusculares o expuestas por aerosol, las novillas fueron sacrificadas a los 11-15 días después de la inoculación sus vectores reproductivos en ovarios fueron sometidos a estudio virológico y patológico donde se aisló el virus de los ovarios de 4 novillas inoculadas por vía intravenosa,3 de 4 novillas inoculadas

intramuscularmente pero no de los ovarios de vaquillas expuestas por aerosol, los aislamientos y lesiones del virus fueron con una sola excepción confinados al ovario que contenía el cuerpo lúteo a partir de los cuales se aisló el virus del IBR, las lesiones en el cuerpo lúteo variaron desde necrosis focal e infiltración de células mononucleares hasta hemorragia difusa y necrosis, la mayoría de estos ovarios también tenían folículos necróticos y una acumulación difusa de células mononucleares en el estroma. Se concluyó que las lesiones son fácilmente inducidas en los ovarios de novillas post-estro como resultado de la diseminación hematógica del virus del IBR.

Con los programas de vacunación realizadas en esta investigación (virus vivo y muerto de IBR, en los 12 y 18 días se pudo determinar que la aplicación de las vacunas profilácticas si afectan al desarrollo y morfología del cuerpo lúteo siendo el tratamiento testigo T1 con mayor tamaño en relación a los demás tratamientos T2 y T3, por lo que podemos mencionar que existe una respuesta que realiza el organismo por la infección del virus como se puede constatar anteriormente en los trabajos realizados, demostrando que las vacunas del IBR influyen significativamente en las estructuras anatómicas del cuerpo lúteo de los animales y así habiendo consecuencias en la reproducción bovina.

Geiser et al.(2002) publican el ensayo realizado donde se inocularon 6 novillas en el celo con el virus de la rinotraqueitis bovina infecciosa (IBR), las mediciones subsiguientes de la progesterona plasmática indicaron que la función del cuerpo lúteo estaba deprimida en todas las vaquillas, en el primer ciclo estral después de la inoculación los valores de progesterona no excedieron 2 ng / dl en 3 novillas aunque los valores máximos de progesterona fueron superiores o iguales a 2 ng / dl en 3 novillas dado que el virus aislado influyo en los valores que fueron inferiores a los de ciclos posteriores, 5 novillas tuvieron valores máximos de progesterona diestrua mayores o iguales a 5 ng / dl dentro de las 5 semanas posteriores a la inoculación, pero en la sexta novilla esta cantidad de progesterona no estuvo presente hasta 8 semanas después de la inoculación.

De acuerdo a los resultados obtenidos para la presente investigación sobre la



concentración sanguínea de progesterona a los 12 y 18 días podemos determinar que los niveles de P4 se vio afectado por la aplicación vacunal, los mismos que estaban deprimidas en los tratamientos (T2), (T3), mientras que en (T1) estuvo en niveles altos en comparación con los dos tratamientos en estudio por ende podemos relacionar con el tamaño del cuerpo lúteo, por lo consiguiente llegamos a la conclusión que la aplicación vacunal con virus vivo y muerto si afecto a las características endocrinológicas del cuerpo lúteo esto coincide con las investigaciones realizadas anteriormente por otros autores donde mencionan que la presencia del virus del IBR tiene consecuencias a nivel reproductivo.

CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

6.1. CONCLUSIONES.

Luego de haber analizado los resultados se obtiene las siguientes conclusiones:

1. Los tres grupos de tratamiento fueron diferentes al analizar el diámetro del cuerpo lúteo a los 12 y 18 días, mostrando mayor diámetro el tratamiento de control con 29.9 mm, aceptando la propuesta planteada del proyecto.
2. Al analizar la concentración sanguínea de progesterona se observa que existe una mayor concentración de P4 en el T1 con valores de (5,1 ng/dl) en los 12 días y (5.7ng/dl) a los 18 días, existiendo diferencias significativas en relación con los tratamientos T2 y T3.
3. Después haber analizados estos resultados podemos concluir que no se recomienda que la aplicación de vacunas profilácticas del IBR con virus vivo y muerto porque afectan a las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo y por ende a la reproducción bovina causando pérdidas económicas.



6.2. RECOMENDACIONES.

1. Realizar estudios sobre los efectos anatómicos y endocrinológicos del cuerpo lúteo en bovinos al realizar vacunación con los virus vivos y muertos de la rinotraqueítis infecciosa bovina en otras áreas del país y de la región para hacer una propuesta regional en relación a la enfermedad.
2. Realizar estudios sobre los porcentajes de preñez realizando la aplicación de la vacunas del IBR con virus muerto y vivo post inseminación.
3. Las instituciones gubernamentales y no gubernamentales como el MAG, AGROCALIDAD, AGSO, deben emprender campañas educativas tendientes a mejorar el control de la enfermedad.
4. Fomentar la correcta utilización de vacunas para Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), en los hatos ganaderos del Cantón Santa Clara.
5. Exigir la certificación a todo bovino que ingrese al país que este de libre de IBR.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abril C, E. M. (2004). Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses receptor deficient. *VIROL*, 78:3644–3653. Recuperado el 21 de 03 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15016885>.
- Ackermann, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Vet Microbiol*, 113: 293-302. Recuperado el 10 de 06 de 2017, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113505003780>.
- Aguilar Setién, A. J. (15 de 09 de 2017). El virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (bovid herpesvirus 1): propiedades y vacunación. Obtenido de <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol4/CVv4c6.pdf>.
- Alonzo , P., Puentes , R., Benavides , U., Iznardi , F., García , R., Piaggio , J., . . . Maisonnave , J. (2012). Efecto de la infección con herpes virus bovino sobre el porcentaje de preñez en vacas de cria en Uruguay. *Revista Uruguaya de Medicina Veterinaria*, 48(186)5-12. Recuperado el 21 de 02 de 2017, de <http://www.revistasmvu.com.uy/component/content/article/51-current-users/161-cientifico-efecto-de-la-infeccion-con-herpesvirus-bovino-1-sobre-el-porcentaje-de-prenez-de-vacas-de-cria-en-uruguay.html>.
- Ames, T. (2000). The causative agent of BVD; its epidemiology and pathogenesis. *Vet Med*, 81: 848-869. Recuperado el 14 de 04 de 2017, de <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/108/22/480>.
- Antinone S.E, S. G.-M. (2006). The Herpesvirus capsid surface protein, VP26, and the majority of the tegument proteins are dispensable for capsid. *Vet.Microbiol*, 80:5494–5498. Recuperado el 21 de 07 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16699029>.
- Ata A, K. M. (2006). The effect of sub-clinical bovine herpesvirus 1 infection on fertility of cows and heifers. *Acta Vet (Beograd)*, 56:267–273. Recuperado el 22 de 04 de 2017, de https://www.researchgate.net/publication/47740296_The_effect_of_subcl_inical_bovine_herpesvirus_1_infection_on_fertility_of_cows_and_heifers.
- Benoît M, J. T. (2007). Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine. *INRA, EDP Sciences*, 181–209. Recuperado el 16 de 06 de 2017, de <https://www.vetres.org/articles/vetres/abs/2007/02/v07045/v07045.html>.
- Betancur, C. (2006). Seroepidemiología de la Rnotraqueitis infecciosa bovina en el Municipio de Montería, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cordoba*, Vol.11 N°2. Recuperado el 28 de 01 de 2017, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012202682006000200008.



- Biuk-Rudan N, S. C. (2000). Prevalence of antibodies to ibrv and bvd viruses in dairy cows with reproductive disorders. *el sevier*, 63-70. Recuperado el 24 de 02 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10729010>.
- Burgos J.S., R. C. (2006). Effect of apolipoprotein E on the cerebral load of latent herpes simplex virus type 1 DNA. *Virol*, 80:5383–5387. Recuperado el 23 de 03 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16699018>.
- Bwagamoi, O. (2002). Isolation of IBR/IPV virus from semen and skin lesions of bulls at Kabete, Kenya. *Zentralbl Veterinarmed*, 18: 262-269. Recuperado el 19 de 05 de 2017, de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0450.1971.tb00356.x/full>.
- Campos Ruelas, R. (2004). Diagnostico y tratamiento de algunas enfermedades de los bovinos. Recuperado el 28 de 04 de 2017, de <http://simorg.geocyt.com/pdfs/SALUD-Y-CUIDADOS-DE-LOS-ANIMALES/Manejo%20Sanitario%20del%20hato%20ganadero.pdf>.
- Cerqueira, R. C. (2000). Serological survey for bovine herpesvirus 1 in cattle from different regions in the state of Bahia, Brazil. *Vet. Res. Anim. Sci.*, 37. Recuperado el 28 de 04 de 2017, de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S14139596200000600014.
- Chaparro, J., Ramirez, G., Vera, V., & Gongora, A. V. (2002). Aislamiento de una cepa de campo del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina Bovina de una explotación de ganado de carne en el Departamento del meta. *Orinoquía*, Vol. 6 (1): 100-107. Recuperado el 23 de 11 de 2016, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000079&pid=S0120-0690201000020000800008&lng=pt.
- Correa, G. (2007). Rinotraqueitis Infecciosa de los Bovinos. En M. C. M.V.Z., *Rinotraqueitis Infecciosa de los Bovinos* (págs. 132-155). Mexico D.F. Recuperado el 17 de 07 de 2017, de <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c06.PDF>
- Costes B., R.-A. M. (2005). Both soluble and membrane-anchored forms of Felid herpesvirus 1 glycoprotein G function as a broad-spectrum chemokine-binding protein. *Virol*, 86:3209-3214.
- Duque, D., Ramón Estévez, J. N., Abreu Velez, A. M., Moncada Velasquez, M., Durango, J. C., & Molina Palacios, D. (2014). Aspectos sobre Rinotraqueítis Infecciosa Bovina. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, Vol. 3 N° 1. 58-68. Recuperado el 05 de 23 de 2017, de <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/jals/article/view/619/476>



- Esteves, P. S. (07 de 02 de 2003). Bovine herpesvirus type 5 in the semen of a bull not exhibiting clinical signs. *Vet. Rec.* , 152, 658–659. Recuperado el 21 de 07 de 2017, de <http://ahdc.vet.cornell.edu/sects/clinpath/reference/hema.cfm>.
- Etchegaray1, P. B. (2009). Rinotraqueitis infecciosa bovina. *Monografias de medicina veterinaria*, 1-9. Recuperado el 15 de 06 de 2017, de <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c06.PDF>
- Fenner, F. (2001). Virologia veterinaria. En F. Fenner, *Virologia veterinaria* (págs. 349-370). Madrid-España: Acriba. Recuperado el 25 de 05 de 2017, de <http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/Virologia/images/Documentos/2009/VIROLOGIA%20VETERINARIA.pdf>
- Geiser V., I. M. (2002). The latency-related gene of bovine herpesvirus-1 can inhibit the ability of bICP0 to activate productive infection. *Gen. Virol.*, 83:2965–2971. Recuperado el 19 de 05 de 2017, de <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jgv/83/12/0832965a.pdf?expires=1507819768&id=id&accname=guest&checksum=3AB73FC57098D2943F248C98FAA357B4>
- Gould S, C. V. (2013). An evaluation of the prevalence of Bovine herpes virus 1 abortions based on diagnostic submissions to five U.S.-based veterinary diagnostic laboratories. Recuperado el 01 de 06 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23512920>
- Graham, D. A. (2013). Bovine herpes virus-1 (BoHV-1) in cattle—a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Graham Irish Veterinary Journal*, 66:15. Recuperado el 16 de 04 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3750245/pdf/2046-0481-66-15.pdf>
- Lemaire, M., Meyer, G., Baranowski, E., Schynts, F., Wellemans, G., Kerkhofs, P., & Thiry, E. (2000). Production of bovine herpesvirus type 1 seronegative latent carriers by administration of a live attenuated vaccine in passively immunized calves. *J Clin Microbiol*, 38: 11. Recuperado el 15 de 06 de 2017, de <http://jcm.asm.org/content/38/11/4233.full>
- Mars, M. d. (2000). Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Vet. Microbiol.*, 76, 1–13. Recuperado el 06 de 03 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10925036>
- Moore , S., Gunn, M., & Walls, D. (2000). Clinical and molecular analyses of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) isolates associated with disease in cattle in Ireland. *Irish Vet J*, 53:89–93. Recuperado el 25 de 04 de 2017, de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20002208946>

- Muylkens B, T. J. (2007). Bovine herpes virus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Res*, 38:181–209. Recuperado el 23 de 04 de 2017, de <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00902862/document>
- Navarrete , J. O., Vera M, V. J., Ramírez, G., & Villamil, L. C. (2002). Anticuerpos monoclonales contra proteínas de la nucleocápside del virus IBR y su evaluación por ELISA. Recuperado el 23 de 05 de 2017, de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/30100>
- Obando R, C. A., & Rodríguez, J. M. (2000). Distribución Geografica del IBR. Recuperado el 17 de 06 de 2017, de http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manualganaderia/seccion5/articulo6-s5.pdf
- Obando, C. (2005). Patologías infecciosas del IBR en los bovinos los bovinos. *Tuxplan*, 220-225. Recuperado el 23 de 05 de 2017, de http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manualganaderia/seccion5/articulo6-s5.pdf
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (Enero 2004). Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. Recuperado el 23 de 06 de 2017, de <http://www.oie.int/doc/ged/d6508.pdf>
- Posado, , R., Bartolomé, D., San Miguel, J. M., & García, J. J. (2013). rinotraqueitis infecciosa bovina y virus respiratorio sincitial bovino en ganado de lidia en salamanca. *Archivos de Zootecnia*, 181-190. Recuperado el 12 de 04 de 2017, de <http://www.redalyc.org/pdf/495/49527413003.pdf>
- Pritchard , G. C., Banks, M., & Vernon, R. E. (2003). Subclinical breakdown with infectious bovine rhinotracheitis virus infection in dairy herd of high health status. *Vet Record*, 153:113–117. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12918828>
- Raaperi K, B. S. (2012). Association of herd BRSV and BHV-1 seroprevalence with respiratory disease and reproductive performance in adult dairy cattle. *Vet Scand*, 54:4. Recuperado el 28 de 06 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22289165>
- Rosete Fernández, J. V., Zárate Martínez, J. P., Granados Zurita, L., Barradas Piña, F. T., & Ríos Útrera, Á. (2014). Presencia de Rinotraqueitis infecciosa bovina, diarrea viral bovina, leptospirosis y neosporosis en bovinos en pastoreo en el subtrópico húmedo de Puebla. Puebla: Impresos Tollan. Recuperado el 03 de 05 de 2017, de <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/42>

85/010208178500070599_CIRGOC.pdf?sequence=1

- Ruiz S J., J. J. (2010). Prevalencia serológica y aislamientos del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) en hatos ganaderos de Antioquia y del Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 28-48. Recuperado el 12 de 04 de 2017, de <http://www.redalyc.org/pdf/2950/295023477005.pdf>
- Ruiz, S. J., Jaime, J., & Vera, V. (2009). Vacunas contra el herpesvirus bovino-1: una mirada desde el pasado hacia el futuro de la inmunización. *Acta biol.Colomb*, vol 14. Recuperado el 26 de 03 de 2017, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120548X2009000200001
- Stefano Nardelli, G. F. (2008). Dynamics of infection and immunity in a dairy cattle population undergoing an eradication programme for Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR). *EL SEVIER*, 68–80. Recuperado el 30 de 01 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18304663>
- Van , O. (2011). Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. *Vet Q*, 17: 29-33. Recuperado el 17 de 06 de 2017, de <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/01652176.1995.9694526?needAccess=true>
- Vitale, N. C. (2004). Spatial analysis of BHV1 serological status in Piedmont, Italy, as a guide for differential eradication strategies. *Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Proceedings of the meeting held at Martigny, Switzerland*, 32–38. Recuperado el 12 de 05 de 2017, de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300962875>
- Waldner, C. (2005). Serological status for *N. caninum*, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *Anl Repro Sci*, 219-242. Recuperado el 06 de 02 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15893892>
- Winkler C, M. T., Doster, A., & Jones, C. (26 de 08 de 2000). Reference values for Laboratory animals. Recuperado el 15 de 06 de 2017, de Reference values for Laboratory animals: http://jvi.asm.org/content/74/11/5337.abstract?ijkey=56ac243e1468402a5074fa342bbd7dbb1f754218&keytype2=tf_ipsecsha
- Whetstone , C. A., Miller , J. M., Bortner , D. M., & Van der Maaten , M. J. (2003). Changes in the bovine herpesvirus 1 genome during acute infection, after reactivation from latency , and after superinfection in the host animal. *Arch Virol*, 106: 261-279. Recuperado el 24 de 03 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2549919>



Woodbine KA, M. G.-V. (2009). A four-year longitudinal sero-epidemiological study of bovine herpesvirus type-1 (BHV-1) in adult cattle in 107 unvaccinated herds in south west England. *Vet Res*, 5:5. Recuperado el 12 de 05 de 2017, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19183476>

Zapata, J. C., Ossa, J. E., Bedoya, G., & Zuluaga, F. N. (2002). Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB). Caracterización Molecular de una cepa Colombiana de Herpesvirus Bovino tipo 1. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, vol. 15, núm. 1, pp. 92-99. Recuperado el 21 de 08 de 2017, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295026068010>

ANEXOS

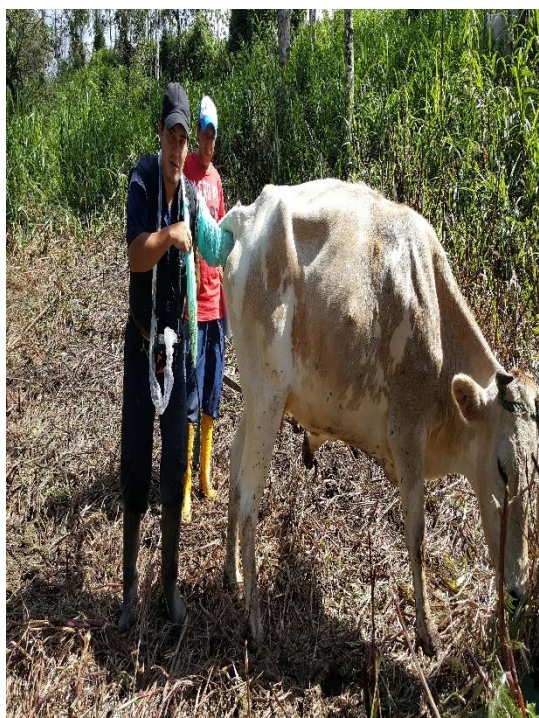
Anexo 1. Fase de selección.



Anexo 2. Fase de sincronización.



Anexo 3. Realización ecográfica del cuerpo lúteo a los 12 y 18 días.



Anexo 4. Extracción de sangre para análisis de P4 a los 12 y 18 días.



Anexo 5. Fotografías de ecografías del tamaño de Cuerpo Lúteo.



Anexo 6. Ficha de datos a campo.

"Efecto de la vacunación a IBR con virus vivo y muerto, sobre las características anatómicas y endocrinológicas del cuerpo lúteo en Novillas Holstein mestizas." Walter Castro MVZ					
Variable	Levantamiento de Información				
Propietario	ALEJANDRO Cuví	ALEJANDRO Cuví	ALEJANDRO Cuví	ALEJANDRO Cuví	ALEJANDRO Cuví
Arete	3621	3623	2434	3106	6913
Nombre					
Raza	HOLSTEIN	HOLSTEIN	HOLSTEIN	HOLSTEIN	HOLSTEIN
Edad (meses)	18	20	18	21	19
CC	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Aparato Reprodutor	CICLICA	CICLICA	CICLICA	CICLICA	CICLICA
Fecha Implante	15/08/2016	15/08/2016	15/08/2016	15/08/2016	15/08/2016
Hora	9:00	9:20	9:30	9:40	10:00
Tratamiento					
Fecha Retiro	22/08/2016	22/08/2016	22/08/2016	22/08/2016	22/08/2016
Hora	9:00	9:10	9:20	9:30	9:40
Fecha IA	24/08/2016	24/08/2016	24/08/2016	24/08/2016	24/08/2016
Hora IA	14:00	14:20	14:40	14:50	15:00
SIN VACUNA					
Vacuna Virus Vivo (dosis)					
Vacuna Virus Muerto (dosis)	MIPRABOVIS	MIPRABOVIS	MIPRABOVIS	MIPRABOVIS	MIPRABOVIS
Celo					
Raza Toro					
Nombre Toro					
CL 12 DIAS (mm)	16,9x19,6	17,3x21,2	15,3x16,9	18,2x17,3	20,2x19,3
CL 18 DIAS (mm)	15,7x18,7	17,1x20,1	17,8x16,5	18,1x15,1	19,8x19,0
PROGESTERONA 12 DIAS n g/dl	1,95	2,43	4,37	4,55	8,01
PROGESTERONA 18 DIAS n g/dl	0,727	3,85	6,34	1,96	2,4

Anexo 7.Registro de datos

N°	Arete	Raza	T1 Sin Vacuna	T2 Vacuna Virus Vivo	T3 Vacuna Virus Muerto	Cuerpo Lúteo 12 días (mm)	Cuerpo Lúteo 18 días (mm)	PROGESTERONA 12 días ng/dl	PROGESTERONA 18 días ng/dl
1	2550	HOLSTEIN	SIN VACUNA			26,7	30,1	2,8 ng/dl	4,5 ng/dl
2	2535	HOLSTEIN	SIN VACUNA			NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
3	2539	HOLSTEIN	SIN VACUNA			26,6	27	1,38 ng/dl	2,05 ng/dl
4	2557	HOLSTEIN	SIN VACUNA			35	37,3	4,31 ng/dl	5,50 ng/dl
5	2563	HOLSTEIN	SIN VACUNA			15	28	0,155 ng/dl	2,3 ng/dl
6	2555	HOLSTEIN	SIN VACUNA			23,5	25,5	1,36 ng/dl	1,98 ng/dl
7	2556	HOLSTEIN	SIN VACUNA			31	34,3	1,41 ng/dl	2,1 ng/dl
8	2562	HOLSTEIN	SIN VACUNA			23,5	24,5	1,09 ng/dl	3,08 ng/dl
9	2524	HOLSTEIN	SIN VACUNA			25	30,4	2,47 ng/dl	5,55 ng/dl
10	2527	HOLSTEIN	SIN VACUNA			27	28	1,1 ng/dl	1,49 ng/dl
11	2534	HOLSTEIN	SIN VACUNA			20	27,7	2,75 ng/dl	10,81 ng/dl
12	1	HOLSTEIN	SIN VACUNA			26,6	31	6,75 ng/dl	13,83 ng/dl
13	S/N	HOLSTEIN	SIN VACUNA			NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
14	307	HOLSTEIN	SIN VACUNA			35	38	0,301 ng/dl	1,01 ng/dl
15	2544	HOLSTEIN	SIN VACUNA			26,05	28	0,092 ng/dl	0,217 ng/dl
16	6522	HOLSTEIN	SIN VACUNA			23	25,5	1,07 ng/dl	1,199 ng/dl
17	6570	HOLSTEIN	SIN VACUNA			26,6	27,7	1,067 ng/dl	1,798 ng/dl
18	6523	HOLSTEIN	SIN VACUNA			30,05	31	2,7 ng/dl	4,02 ng/dl
19	6224	HOLSTEIN	SIN VACUNA			29,05	33	3,80 ng/dl	6,93 ng/dl
20	7021	HOLSTEIN	SIN VACUNA			28	31,04	3,45 ng/dl	5,85 ng/dl
21	195	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		20,25	15,6	0,216 ng/dl	0,183 ng/dl
22	3362	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		13,75	19,35	1,32 ng/dl	6,02 ng/dl
23	166	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		21,65	18,2	6,55 ng/dl	7,75 ng/dl
24	3578	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		22,05	19,65	6,01 ng/dl	7,73 ng/dl

25	3560	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
26	3369	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		24,35	24,25	3,07 ng/dl	7,64 ng/dl
27	3368	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		22,5	18,1	1,73 ng/dl	1,28 ng/dl
28	2443	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		18,25	21,25	4,03 ng/dl	16,12 ng/dl
29	2432	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		17,6	11,7	0,262 ng/dl	0,148 ng/dl
30	3367	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		22,25	14	0,864 ng/dl	0,069 ng/dl
31	3364	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		24,05	NO CL	9,69 ng/dl	NO CL
32	3400	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		18,1	15,75	4,05 ng/dl	2,25 ng/dl
33	3397	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		17,9	17,25	2,67 ng/dl	2,01 ng/dl
34	3396	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		18,25	21,35	4,45 ng/dl	6,89 ng/dl
35	3238	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
36	1012	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		16,9	NO CL	1,01 ng/dl	NO CL
37	2317	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
38	1084	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		15,45	16,4	0,965 ng/dl	1,56 ng/dl
39	3353	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
40	3354	HOLSTEIN		CATTLE MASTER		18,05	21,06	4,85 ng/dl	5,95 ng/dl
41	4935	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	16,9	19,7	1,95 ng/dl	0,727 ng/dl
42	1033	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	17,8	25,6	2,43 ng/dl	3,85 ng/dl
43	7749	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	21,1	22,9	4,37 ng/dl	6,34 ng/dl
44	1438	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	13,8	14,2	4,55 ng/dl	1,96 ng/dl
45	1366	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	20,95	21,8	8,01 ng/dl	2,4 ng/dl
46	724	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	26	19,05	11,2 ng/dl	10,47 ng/dl
47	1408	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	22,55	18,5	6,02 ng/dl	3,16 ng/dl
48	7745	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	15,8	11,8	2,55 ng/dl	0,079 ng/dl
49	2437	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	24,9	19,9	2,11 ng/dl	4,52 ng/dl
50	3363	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	20,45	22	0,57 ng/dl	4,13 ng/dl
51	3361	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	16,8	15,7	15,08 ng/dl	10,02 ng/dl
52	6925	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	23,45	18,65	4,03 ng/dl	4,96 ng/dl
53	2402	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	18,9	NO CL	3,43 ng/dl	NO CL
54	2414	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	16,9	16,9	1,95 ng/dl	1,954 ng/dl
55	3398	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	14,9	11,15	1,98 ng/dl	1,067 ng/dl
56	3239	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	NO CL	NO CL	NO CL	NO CL
57	3424	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	17,15	15,45	3,45 ng/dl	2,55 ng/dl
58	3423	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	18,5	10,45	4,67 ng/dl	0,064 ng/dl
59	3351	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	19,85	20,9	10,56 ng/dl	8,63 ng/dl
60	3352	HOLSTEIN			HIPRABOVIS	18,7	19,5	7,94 ng/dl	8,79 ng/dl