



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**“PESQUISA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES
DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN
ALPACAS Y LLAMAS DEL ALTIPLANO DE LA REGIÓN
DE TARAPACÁ”**

RODRIGO ANDRÉS FUENTES MELLA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal.

PROFESORA GUÍA: MARÍA O. CELEDÓN V.

SANTIAGO-CHILE
2007



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**“PESQUISA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES
DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN
ALPACAS Y LLAMAS DEL ALTIPLANO DE LA REGIÓN
DE TARAPACÁ”**

RODRIGO ANDRÉS FUENTES MELLA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal.

NOTA FINAL:.....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA: MARÍA O. CELEDÓN V.
PROFESOR CONSEJERO: JOSÉ PIZARRO L.
PROFESOR CONSEJERO: HÉCTOR HIDALGO O.

SANTIAGO-CHILE

2007

AGRADECIMIENTOS

A toda mi gran familia, Papá, Mamá por todo el apoyo, preocupación y cariño que siempre me han entregado. A mis hermanos por toda la buena onda.

Especialmente quiero agradecer a mi NONA por toda la paciencia, cariño, atención, preocupación, compañía por este largo periodo de vivir en Santiago.

Al laboratorio de Virología, Sra. Elcira, Maricruz, Isabel, Dr. Navarro, Dr. Pizarro, especialmente a la Dra. Celedón por haber confiado en mi, para este gran proyecto, por su paciencia para enseñarme una y otra vez todo y solucionar los problemas que me iban apareciendo en el camino.

Gracias a la Dra. Gertrudis Cabello Fernández del Laboratorio de Biología y Salud, de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Tarapacá (UTA), por haberme permitido trabajar en el laboratorio.

Muchas gracias al Dr. Francisco Rippes de Teran, Médico Veterinario, con su apoyo y confianza pude conseguir conocimientos y una gran parte de materiales para poder trabajar mejor en esta memoria.

Gracias a la Sociedad de Matarifes de Arica y al Matadero de Arica, fue realmente un gusto poder recibir su ayuda, y compartir con ustedes jornadas de trabajo.

Muchas gracias a todos los productores que me permitieron tomar las muestras para poder desarrollar este estudio.

A todos mis amigos y compañeros, fueron muchos años de estudio y de pasarla bien, pero teníamos que llegar al final y cumplir con esta etapa en nuestras vida, siempre recordare lo bueno que fue pasar por ésta la mejor universidad de Chile, nuestra Universidad de Chile.

INDICE

RESUMEN.....	2
SUMMARY.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	6
Generalidades.....	6
Características de los <i>Pestivirus</i>	6
Epidemiología de la infección por <i>Pestivirus</i> en bovinos en Chile.....	7
Enfermedades producidas por <i>Pestivirus</i> en el bovino.....	8
Otras especies animales afectadas por <i>Pestivirus</i>	10
Camélidos sudamericanos.....	10
Taxonomía de los camélidos sudamericanos.....	12
Enfermedades producidas por agentes infecciosos en camélidos sudamericanos.....	12
Enfermedades producidas por <i>Pestivirus</i> en camélidos sudamericanos.....	13
Situación del VDVB en camélidos sudamericanos de Chile.....	15
Diagnóstico serológico.....	16
OBJETIVOS.....	18
Objetivo General.....	18
Objetivo Específico.....	18
MATERIAL Y MÉTODO.....	19
Muestras.....	19
Células.....	20
Virus.....	21
Seroneutralización.....	22
Análisis de resultados.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIÓN.....	27
ANEXO 1	28
ANEXO 2	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33

RESUMEN

La diarrea viral bovina (DVB) es una de las enfermedades que afecta cuantiosamente la producción del ganado bovino, responsabilizándosele de producir significativas pérdidas económicas. Es producida por el virus diarrea viral bovina (VDVB) un virus del género *Pestivirus* que infecta naturalmente a los animales ungulados del orden Artiodactila. Dentro de este orden se ubican los camélidos sudamericanos (CS) constituidos por dos especies de camélidos sudamericanos silvestre (CSS), el guanaco y la vicuña, y dos especies de camélidos sudamericanos domésticos (CSD), la alpaca y la llama.

En Chile, se ha detectado la presencia de CSD, que habitan la Región Metropolitana, infectados con el VDVB, pero, se desconoce si los CS del Altiplano de la Región de Tarapacá (lugar donde se concentra sobre el 90% de la población de alpacas, llamas y vicuñas de Chile) están infectados con pestivirus.

Los CSD alpacas y llamas, son animales muy importantes para la sobrevivencia de los habitantes de la zona altiplánica del país, razón por la cual es necesario que estas especies estén en óptimas condiciones sanitarias.

El objetivo de este estudio es conocer si los CSD del altiplano chileno están infectados con pestivirus a través de la pesquisa de animales que han respondido inmunológicamente a la infección de campo del agente viral. Considerando que un 1% de los animales poseen anticuerpos seroneutralizantes contra *Pestivirus* y trabajando con un 95% de confianza para detectar la presencia de un animal positivo, se analizó un total de 136 muestras de suero de llamas y 30 sueros de alpacas, de 12 localidades del altiplano de la Región de Tarapacá. En la prueba de seroneutralización se enfrentó diluciones en base dos del suero de cada animal con 100 dosis infecciosas cultivo de tejido 50% (DICT₅₀) de la cepa citopatógena NADL del VDVB.

Los resultados mostraron que ningún suero de los animales estudiados presentó anticuerpos neutralizantes para la cepa NADL del VDVB.

Se concluye que menos del 1% de los CSD procedentes de las 12 localidades del altiplano de la Región de Tarapacá, de donde se obtuvieron las muestras de suero, podrían estar infectadas con el VDVB o con algún otro *Pestivirus* que compartan antígenos neutralizables comunes con el VDVB.

SUMMARY

Bovine viral diarrhea (BVD) is one of the diseases that largely affect the production of bovine cattle, making it responsible for significant economic losses. It is produced by the Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), a virus from the *Pestivirus* genus that naturally infects ungulated animals from the Artiodactyla order. South American Camelids (SAC) are located within this group, they are constituted by two Wild South American camelids species (WSAC), the guanaco and the vicuna, and by two species of domestic South American camelids (DSAC), the alpaca and the llama.

The presence of DSAC has been detected in Chile, they inhabit the Metropolitan Region infected with the BVDV, but it is unknown if the SAC from the Altiplano in the Tarapaca Region (where 90% of the alpaca, llama and vicuna population of Chile is concentrated) are infected with Pestivirus.

The DSAC alpaca and llama, are very important animals for the survival of the inhabitants in the altiplanic zone of the country, this is why it is necessary for these species to be in optimal sanitary conditions.

The objective of this study is to find out if DSAC from the chilean altiplano are infected with Pestivirus, through the survey of animals that have immunologically responded to the field infection of the viral agent. Considering that 1% of the animals have seroneutralizing antibodies to Pestivirus, and working with 95% of reliability to detect the presence of a positive animal, a total of 136 samples of llama serum were analyzed, 30 sera from alpacas coming from 12 locations in the altiplano of the Tarapaca Region. During the seroneutralization test, dilutions on base two from the serum of each animal were tested against 100 50% tissue culture infective doses (TCID₅₀) from the NADL citopathogenic strain of BVDV.

The results showed that none of the sera from the surveyed animals presented neutralizing antibodies to the NADL strain of BVDV.

It is concluded that less than 1% of the DSAC coming from the 12 locations of the altiplano in the Tarapaca Region, from which the samples of serum were obtained, could be infected with BVDV or some other Pestivirus that share neutralizable antigens with the BVDV.

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos domésticos (CSD), alpaca (*Lama pacos*) y llama (*Lama, glama*) son de gran importancia sociológicas por ser el sustento de vida de las familias Aymará debido a sus aportes de carne en la alimentación, de fibra para la confección de vestuario y de heces que se emplean como combustible y abono. Además, son de utilidad en el transporte de carga, en ceremonias religiosas y contribuyen enriqueciendo el paisaje en el eco-turismo. También, la venta de animales en pie y de su fibra, contribuyen a mejorar las condiciones de vida de sus dueños. Por otra parte, son de importancia científica aportando en el conocimiento de la fisiología animal en condiciones ambientales muy adversas como son ambiente de hipoxia y temperaturas extremas, llegando a -30° C durante la noche y 30° C durante el día.

La evidencia zooarqueológica dice que la domesticación de los camélidos sudamericanos viene desde los 6000 años A.C. en el abrigo rocoso de Telarmachay en el Departamento de Junín, Perú. Las evidencias más directas que se tienen sobre el origen de los animales domésticos son los restos de hueso, fibras y tejidos procedentes de este sitio arqueológico (Wheeler, 1991). Fue durante la vigencia del Imperio Inca, que los camélidos llegaron a su máxima expansión y desarrollo, siendo considerados técnicamente de propiedad del Inca (Sánchez, 2004).

Hoy en día, en Chile, el mayor porcentaje de la población de CSD habita en el altiplano de la Región de Tarapacá, zona que puede alcanzar los 5000 m.s.n.m.

A nivel nacional, de un total de 45.224 alpacas y 79.294 llamas, el 89,2% y el 90,2%, respectivamente, se encuentran en el altiplano de la Región de Tarapacá (INE, 1997), donde la producción de CSD es extensiva en terrenos ricos en bofedales que sirven de alimento, lugares que son compartidos entre animales de propiedad de diferentes productores y también con especies de camélidos sudamericanos silvestres como la vicuña (*Vicugna vicugna*) y el guanaco (*Lama guanicoe*).

Para la Región de Tarapacá no se tienen antecedentes que den cuenta de las enfermedades que padecen los camélidos sudamericanos, ni antecedentes de controles sanitarios efectuados por médicos veterinarios. No obstante, se registra que hay pérdidas de natalidad de un 17% para las crías de llama y de un 25% para las crías de alpacas (FIA,

2000). Esta información hace sospechar de la participación de agentes infecciosos y uno de ellos podría ser el virus diarrea viral bovina (VDVB), agente que infecta a rumiantes produciendo pérdidas productivas y reproductivas, pudiendo ser considerado como una de las causas de las pérdidas de natalidad de CSD.

Para constatar la presencia de infección con VDVB, o con un virus que comparta antígenos neutralizables con el VDVB en los CSD del altiplano de la Región de Tarapacá, se plantea buscar anticuerpos neutralizantes para el virus, en muestras de sangre periférica de alpacas y llamas de diferentes localidades del altiplano de la Región de Tarapacá.

REVISION BIBLIOGRÁFICA

Generalidades:

Algunas de las enfermedades producidas por el género *Pestivirus* son la peste porcina clásica (PPC), descubierta en el año 1833; la diarrea viral bovina (DVB) del bovino y la enfermedad de la frontera (EF) del ovino, descubiertas en el año 1946 y 1950 respectivamente (Thiel *et al.*, 1996).

En el año 1960 se concluyó que estas tres enfermedades eran producidas por virus morfológicamente similares y en base a eso se agruparon en el género *Pestivirus* de la familia *Togaviridae*, pero estudios posteriores de la organización y expresión del genoma de los *Pestivirus* los integran a la familia *Flaviviridae* (Thiel *et al.*, 1996).

Características de los *Pestivirus*:

Dentro del género *Pestivirus* se reconocen cuatro especies virales, o genotipos, con reactividad antigénica cruzada entre ellos y transmisión entre especies: virus diarrea viral bovina genotipo 1 (VDVB-1) y virus diarrea viral bovina genotipo 2 (VDVB-2), que infectan mayormente a los bovinos; virus peste porcina clásica (VPPC) que infecta al cerdo; y virus enfermedad de la frontera (VEF) que infecta a los ovinos (Murphy *et al.*, 1999). Esta clasificación se da al analizar la secuencia de nucleótidos de diferentes zonas del genoma viral y en particular la región 5' no traducida (5' UTR) (Brock *et al.*, 1993).

Los pestivirus se caracterizan porque sus viriones miden de 30 a 40 nm de diámetro, la nucleocápside está constituida por una única proteína, la proteína C, que se repite múltiples veces. Rodea a la cápside una envoltura donde se ubican 3 glicoproteínas: Erns, E1, y E2. La E2 es la proteína mayoritaria y en ella se encuentran la mayoría de los epitopos neutralizables, algunos específicos para algunas especies y muchos comunes para las diferentes especies virales (Murphy *et al.*, 1999).

El genoma consiste en una hebra única de ARN de polaridad positiva constituido por alrededor de 12,5 kb, donde se ubica un marco de lectura para una poliproteína de alrededor de 4000 aminoácidos y dos regiones no codificantes UTR (del inglés untranslated

region), en los extremos 5' y 3'. La 5'UTR corresponde a una región altamente conservada, de 360 a 390 bases intercaladas por 3 regiones hipervariables, lugar en que las sustituciones de nucleótidos dan cuenta de las diferencias entre y dentro de las especies virales. El marco abierto de lectura origina una poliproteína que es escindida, por la autoproteasa -Npro- y por proteasas celulares, en las proteínas estructurales C, Erns, E1 y E2 y en las proteínas no estructurales NS2-3, NS4a, NS4b, NS5a y NS5b (Murphy *et al.*, 1999).

Otra propiedad que caracteriza a los pestivirus es la existencia de dos biotipos, reconocidos por los cambios morfológicos que inducen en los cultivos celulares después de su inoculación. El biotipo no citopático (NCP) está representado por los virus que replican sin producir efecto citopático en las células; en cambio el biotipo citopático (CP), corresponde a aquéllos que producen destrucción de las células infectadas (Murphy *et al.*, 1999).

Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza; aislándose desde animales que presentan diferentes formas clínicas y el único capaz de originar una infección persistente, a diferencia del biotipo citopático, que sólo en algunas ocasiones se recupera de infecciones naturales, pero siempre está presente en animales que estén sufriendo la enfermedad de las mucosas (Murphy *et al.*, 1999).

Epidemiología de la infección por *Pestivirus* en bovinos en Chile:

En Chile se sospecha de la presencia del VDBV desde los años 1983 y 1984 por las lesiones típicas de la forma entérica detectada en exámenes anatomopatológicos de terneros muertos. Sin embargo, las pruebas de inmunofluorescencia y de aislamiento viral fueron negativas. En 1985, a partir de un brote de la enfermedad de las mucosas (EM) en terneros en el sur del país, se aisló por primera vez el VDVB (Reinhardt *et al.*, 1986).

Prospecciones serológicas para el VDVB muestran que aproximadamente el 60% de los bovinos de leche y el 80% de los bovinos de carne de la Región Metropolitana (Celedón *et al.*, 1996; Celedón *et al.*, 1997), así como el 70% de los bovinos de la Región de la Araucanía y de la Región de Los Lagos (Reinhardt *et al.*, 1990) se han infectado con este virus.

El virus se ha aislado en varias ocasiones desde fetos abortados, animales muertos, vacas con antecedentes de aborto y síndrome de vaca repetidora; y también desde animales clínicamente sanos. También se ha demostrado la presencia de bovinos persistentemente infectados (PI) (Celedón *et al.*, 1998).

Enfermedades producidas por *Pestivirus* en el bovino:

Las manifestaciones clínicas y patológicas de la infección por *Pestivirus* en distintas especies animales son diferentes, esto se relaciona con la edad del animal infectado, el periodo de gestación y virulencia de la cepa (Baker, 1987). Los *Pestivirus* poseen un especial tropismo por las células del sistema inmune y células epiteliales de los tractos reproductivo, entérico y respiratorio, ocasionando daño en estos tejidos como consecuencia de su replicación en estas células (Murphy *et al.*, 1999).

En el bovino, que es la especie donde más se ha estudiado la acción del virus, la transmisión puede ser por inhalación o ingestión de saliva, desde descarga oculonasal, salival, orina, heces, leche, secreciones uterinas, fluido amniótico, placenta y semen de animales con infección persistente, aguda o subclínica y por contaminación iatrogénica con productos contaminados (Murphy *et al.*, 1999).

La infección del VDVB en diferentes periodos de la etapa reproductiva del bovino puede manifestarse de las siguientes maneras:

- Infección previa inseminación, disminuye el índice de concepción.
- Inseminación con semen contaminado, produce vacas repetidoras de celos.
- Infección durante el período embrionario, 0-45 días de gestación, produce pérdidas embrionarias, por cambios inflamatorios en el útero que se traduce en un ambiente hostil para el embrión, finalizando con reabsorción.
- Infección durante el período embrionario fetal, 45-125 días de gestación, con cepa de baja virulencia, el feto reconoce al virus como antígeno propio, y el virus se multiplica, por lo tanto nace un animal persistentemente infectado (PI), inmunotolerante. Si la cepa es de mayor virulencia puede producir muerte fetal con aborto o momificación.

- Infección durante el período fetal, 125-175 días de gestación, produce anomalías congénitas, entre otros displasia retinal e hipoplasia cerebelar.
- Infección durante el período fetal, después de 180 días de gestación, puede dar lugar al nacimiento de animales con anticuerpos protectores (Grooms, 2004).

Un animal que se infecta con el VDVB presenta un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones, que se pueden clasificar de las siguientes maneras:

- Infección subclínica. La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad. Este es el caso de los animales PI.
- Diarrea viral bovina aguda. Es una infección post natal aguda, de severidad variable, en bovinos seronegativos e inmunocompetentes.
- Complejo diarrea neonatal bovina. Esta ocurre cuando fracasó la transferencia pasiva de anticuerpos. Infecciones concurrentes con enteropatógenos resultan en manifestaciones clínicas más severas, debido al efecto inmunodepresivo del VDVB o simplemente a una sumatoria de efectos.
- Trastornos reproductivos. El mayor impacto económico de la infección con el VDVB.
- Enfermedades respiratorias. El VDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios. Se ha demostrado que ciertos VDVB actúan como agentes primarios de neumonías.
- Inmunodepresión. El VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando las lesiones provocadas por microorganismos coinfectantes. Tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular principalmente el bazo, nódulos linfáticos y placas de peyer, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos. En el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte.
- Infección aguda severa. Cada vez más frecuente, la infección aguda severa de alta morbilidad y mortalidad, es asociada con virus de alta patogenicidad, caracterizada por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, aumento de abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita.

- Enfermedad de las mucosas. Esta condición sólo ocurre en animales PI que sufren sobreinfección con biotipos CP homólogos. En esta forma se aíslan ambos biotipos, que son antigénicamente similares. El biotipo CP surge de mutaciones del biotipo NCP, aunque no se descartan fuentes de infección externas. Es una forma esporádica, mortal, de curso agudo o crónico y se caracteriza por severa leucopenia, diarrea profusa, erosiones y ulceraciones en el sistema digestivo.
- Síndrome hemorrágico. Se caracteriza por presentar las mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragias en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante de los sitios de inyección, anemias, leucopenia, trombocitopenia y muerte. Esta signología se atribuye a trombocitopenia y alteraciones de la función plaquetaria. Es producido por el genotipo 2 del VDVB (Lértora, 2003).

Otras especies animales afectadas por *Pestivirus*:

Los pestivirus afectan naturalmente a los ungulados domésticos del Orden Artiodactyla (rumiantes y porcinos), los que pueden hacer la enfermedad o servir de reservorio (Murphy *et al.*, 1999). También se han encontrado evidencias de infección por pestivirus en rumiantes silvestres como en el pudú (*Pudu pudu*) en Chile (Pizarro-Lucero *et al.*, 2005), dromedario (*Camelus dromedarius*), ciervo rojo (*Cervus elaphus*), corzo (*Capreolus capreolus*), alce (*Alces alce*), ciervo mula (*Odocoileus hemionus*), jirafa (*Girafa camelopardalis*), antílope (*Antilocopra americana*), búfalo africano (*Syncerus caffer*), impala (*Aepyceros melampus*), cabra de montaña (*Oreamnos americanus*), entre otros (Nettleton, 1990).

Camélidos sudamericanos:

Los CS tuvieron su origen en América del Norte durante el Plioceno, aquí se les dividían en Lamini y Camelini, a nivel de género en *Lama* y *Vicugna* para animales del nuevo mundo y *Camelus* para los del viejo mundo.

Al final del Plioceno, hace unos 3 millones de años, los Camelini migraron al Asia y los Lamini a América del Sur, donde se adaptaron a zonas áridas y semiáridas utilizando funciones anátomo-fisiológicas especializadas para adaptarse al estrés termal, deshidratación e hipoxia producida por la altura, en el caso de los CS (Wheeler, 1991).

Investigaciones arqueológicas señalan que los CS viven en su ambiente actual, hace por lo menos 10 mil años, hecho sabido por los antecedentes de restos óseos y de pinturas rupestres de camélidos encontrados en la cueva de Lauricocha (Guanín, Perú) (Sánchez, 2004).

Los CSD, se encuentran en manadas numerosas que pastan en las alturas llanas de los Andes del Perú meridional, del norte de Bolivia y el Altiplano Chileno, a una altura aproximada de 3.500 a 5.000 m.s.n.m. Esta zona se caracteriza por tener condiciones ambientales muy adversas durante todo del año, como son una oscilación térmica muy alta, una concentración de oxígeno más baja que a nivel del mar y una presión atmosférica de alrededor de 40% menos que el valor observado a nivel del mar, es por esto que estos animales son de los pocos que están adaptados a condiciones ambientales muy adversas (Sánchez, 2004).

Dentro de los CSD encontramos 4 especies, 2 domésticas que son la alpaca (*Lama pacos*) y la llama (*Lama glama*) y 2 silvestres que son el guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*) (Raggi, 1998).

Características diferenciales y únicas son: ausencia de cuernos o astas, presencia de verdaderos caninos separados por diastemas, anatomía de las piernas traseras que le permiten descansar sobre el vientre con las rodillas dobladas y los garrones hacia atrás, y presencia de almohadilla digital en lugar de cascos. Otras características comunes de los cuatro camélidos sudamericanos son la presencia de glándulas metatarsianas, el labio leporino, organización social polígama, utilización de estercoleros, ausencia de dimorfismo sexual, y ovulación inducida con una sola cría por parto (Wheeler, 1991).

Asimismo, tienen una vida productiva de aproximadamente 14 años, aunque los camélidos sudamericanos viven más de 20 años, quedando aptos para la reproducción a los 2 años (Pérez, 2006).

Antecedentes de la población de CSD del año 1999 existentes en Sudamérica dice que de un total 3.236.343 llamas 135.000 (4,18%) se encuentran en Argentina, 2.002.569

(61,88%) en Bolivia, 79.294 (2,45%) en Chile y 989.593 (30,57%) en Perú. Con respecto a las alpacas, de un total de 2.880.972, 400 (0,01%) pertenecen a Argentina, 324.336 (11,25%) a Bolivia, 45.224 (1,56%) a Chile y 2.510.912 (87,15%) a Perú, y un escaso número de ejemplares se encuentran entre Colombia y Ecuador (FIA, 2000).

Taxonomía de los camélidos sudamericanos:

Los CS se ubican en la clase Mamíferos, orden Artiodáctyla, suborden Tilópoda, familia Camelidae (o camélido), tribu Lamini género **Lama**, que contiene la especie **Lama guanicoe** (guanaco silvestre). Müller, 177, con las subespecies *Lama guanicoe guanicoe* (Müller, 1776), *Lama guanicoe huanacus* (Molina 1782), *Lama guanicoe cacsilensis* (Lonnberg, 1913) y *Lama guanicoe voglii* (Krumbiegel, 1944); la especie **Lama glama** (llama doméstica). (Linnaeus, 1758) con las razas Ccara "pelada" y Ch'aku "lanuda"; y la especie **Lama pacos** (alpaca doméstica). Linnaeus, 1758 con las razas Suri y Huacaya. El género **Vicugna** comprende la especie **Vicugna vicugna** (vicuña silvestre). (Molina, 1782) con las subespecies *Vicugna vicugna vicugna* (Molina, 1782) y *Vicugna vicugna mensalis* (Thomas, 1917).

Las cuatro especies de CS tienen el mismo cariotipo ($2n=74$) y pueden cruzarse entre ellas, produciendo crías fértiles. El cruce más común entre los CS es entre la llama y la alpaca. Este híbrido, conocido como wari, está subdividido por los pastores tradicionales entre llamawari (semejante a llama) y pacowari (semejante a alpaca), ambos tipos reúnen características fenotípicas no deseables (Fernández-Baca, 1971).

Enfermedades producidas por agentes infecciosos en camélidos sudamericanos:

Los CS son animales más bien saludables, deben confluír notables condiciones de infección para ser capaces de producir un cuadro clínico en estas especies (Thedford y Johnson, 1989).

Los camélidos poseen una relación filogenética con los rumiantes, sin embargo, no son afectados por todas las enfermedades que ellos presentan, de hecho dentro de los propios rumiantes las especies no comparten, en su totalidad, las mismas enfermedades. No

obstante, se asume que los CS son susceptibles al común de las enfermedades padecidas por rumiantes (Rivera *et al.*, 1987).

De las enfermedades bacterianas más comunes que afectan a los CS se describe la enterotoxemia causada por *Clostridium perfringens* tipo A, C y D, la tuberculosis, la enfermedad de Johnes, el ántrax, el edema maligno, la actinomicosis, el tétano y la fiebre de la alpaca. De las infecciones fúngicas están las causadas principalmente por *Trichophyton spp* y casos de coccidiomicosis. Dentro de las infecciones virales más importantes se describe la rabia, el ectima contagioso, la recientemente descrita ceguera neuropática asociada con el virus herpes equino tipo 1, la fiebre aftosa y la estomatitis vesicular. Existen evidencias serológicas de exposición a variados agentes virales, incluyendo los virus de la lengua azul, parainfluenza 3, respiratorio sincicial bovino, herpes bovino 1, el de la diarrea viral bovina, influenza A, y rotavirus (Thedford y Johnson, 1989).

Enfermedades producidas por *Pestivirus* en camélidos sudamericanos:

Los primeros informes basados en la detección de anticuerpos para pestivirus (VDVB) en camélidos entregan valores de un 4% a un elevado 53% (Evermann, 2006). Los estudios de Evermann, 2006 indican que los miembros del grupo de los camélidos son susceptibles a la infección y seroconvierten. En la última década, los informes clínicos han documentado la enfermedad en llamas y alpacas manifestada como enfermedades respiratorias, entéricas, desgaste crónico e infecciones dentro del útero, que dan como resultado partos de fetos muertos y abortos (Evermann, 2006).

En una experiencia se introdujo una llama a pastorear en unas instalaciones de aislamiento en el cual se encontraba ganado bovino, ovino y caprino. Treinta y dos meses después se incorporó una vaca y su ternero, ambos PI al VDVB. Doce meses después, al examinar a la llama en busca de anticuerpos para el VDVB por medio de la prueba de seroneutralización (SN), se encontró un título de 64. Cuatro semanas después se volvió a examinar a la llama y los sueros pareados fueron comparados junto con las muestras de suero obtenidas 12 meses antes, o sea cuando no pastaban juntos los PI con la llama. La muestra original fue negativa (título SN <8). La detección de anticuerpos neutralizables al

VDVB en los sueros de las llamas sugiere que, si las llamas pastan en proximidades a rumiantes PI, pueden seroconvertir el VDVB (Motha y Tham, 1992).

Es discutible si las infecciones de los camélidos se deben a transmisión interespecies o a la posibilidad de que los miembros de este grupo tengan infecciones por pestivirus únicos y propios (Evermann, 2006). En estudios basados en inoculaciones experimentales del VDVB en camélidos, éstos parecen ser resistentes a las infecciones a pestivirus de bovinos (Evermann, 2006).

No obstante, en infecciones procedentes desde otros camélidos o vacas, se describe que la sintomatología que presentan los camélidos depende de la etapa de su vida en que ocurra la infección, así, en el caso de camélidos no preñadas que sufre una infección aguda, puede presentar fiebre, disminución del apetito, en algunos casos diarrea, pero puede que también los animales no presenten síntomas.

Contrariamente, en hembras preñadas, una infección aguda, además de presentar los síntomas antes descritos, las consecuencias de la infección pueden variar desde que no haya efectos en el feto hasta producir la muerte y aborto (ARF, 2006). Algunos efectos que produce el VDVB en el feto pueden ser defectos cerebrales, visuales y población celular linfocítica (Evermann, 2006). Además de producir aborto y otras malformaciones, también puede producir el nacimiento de una cría PI. Esta, al igual que en el ganado bovino, se produce cuando el feto es expuesto al virus presente en la sangre de la madre en etapas tempranas de la gestación. El sistema inmune fetal acepta al virus como propio quedando incapacitado para montar una respuesta inmune contra los antígenos del virus infectante generándose, así, un animal PI. La única forma de convertirse en un animal PI es a través de una exposición viral *in útero*, antes del nacimiento (ARF, 2006).

Muchas crías PI son de pobre condición, sin embargo, algunas llegan a adultos sin presentar signos clínicos de enfermedad, no obstante, permanentemente, diseminan grandes cantidades de virus infeccioso al medio ambiente a través de la respiración y todos los fluidos corporales (ARF, 2006).

Cuando se presentan signos clínicos, éstos a menudo comienzan a mostrarse luego de que los anticuerpos del calostro son disipados, y consisten en enfermedades respiratorias crónicas o del tracto alimentario, pirexia, inapetencia, letargo y falla en la ganancia de peso (Mattson *et al.*, 2006).

Durante la necropsia de un animal PI eutanasiado a las 24 semanas de edad, se observó presencia de vasos sanguíneos congestivos en toda la superficie de las serosas del tracto intestinal con hiperemia más intensa en la serosa yeyunal, además de hemorragias petequiales en la superficie de la serosa de los riñones y una gran cantidad de fluido peritoneal. Además, se aisló el virus desde muestras de pulmones, riñones, fluido de cavidad abdominal y médula ósea (Mattson *et al.*, 2006).

Situación del VDVB en camélidos sudamericanos de Chile:

En Chile se tienen antecedentes de prospecciones serológicas efectuadas en camélidos sudamericanos. Es así como en 8/74 (11%) alpacas y en 6/43(14%) llamas pertenecientes a diferentes rebaños de la Región Metropolitana se detectó seropositividad para VDVB, en tanto que en 48 muestras de suero de guanaco procedente de la Región de Magallanes y en 34 muestras de suero de vicuña procedente de la Región de Tarapacá no se detectó serorreaccionantes para antígenos del VDVB (Celedón *et al.*, 2001).

Por otra parte, se tiene el antecedente que en un rebaño de 200 llamas y alpacas de la Región Metropolitana de 41 hembras preñadas se produjo abortos en 26 hembras y de ellas 9 murieron después de que cursaran con signos respiratorios y/o digestivos, y 15 parieron crías vivas (Miranda, 2000). De los animales sobrevivientes se obtuvo muestras de sangre y de algunos se pudo aislar el VDVB genotipo 1, a la vez que en otros se pudo constatar altos títulos de anticuerpos para antígenos de VDVB y en 3 se aisló el virus en dos ocasiones separadas por más de 30 días, en ausencia de respuesta inmune constatándose la existencia de animales PI (Celedón 2007.*).

* Celedón 2007: Comunicación personal.

Diagnóstico serológico:

Una de las formas de saber si un animal ha sido infectado con un virus en particular es por medio de la identificación del virus o por la detección de la respuesta inmune a la infección. Existen variadas técnicas de diagnóstico que permiten conocer si una población animal ha sido expuesta a un agente infeccioso en particular. Así, para la detección de infección por el VDVB se pueden emplear procedimientos que permiten identificar directamente la presencia del virus, ya sea, por la identificación de antígenos virales o de genomas virales. Indirectamente, se puede evidenciar la presencia del agente a través de la búsqueda de anticuerpos específicos para él. Para el VDVB los procedimientos mayormente empleados son las pruebas de ELISA (del inglés enzyme linked immunosorbent assay), de inmunofluorescencia indirecta y de SN (Vega *et al.*, 1997).

1.- La prueba de ELISA se define como una prueba rápida, sensible y muy confiable. A diferencia de la prueba de seroneutralización, generalmente se emplean antígenos virales de proteínas no estructurales. Como la proteína NS2-3 que es altamente conservada, permitiendo detectar anticuerpos dirigidos contra ella, reacción que es evidenciada por la adición de una antiglobulina conjugada con una enzima que en reacción con un sustrato manifiesta color. Pueden existir pruebas de ELISA que detectan anticuerpos comunes para el género *Pestivirus* y pruebas de ELISA capaces de diferenciar anticuerpos de las diferentes especies virales de *Pestivirus* (Edwards, 1990).

2.- En la prueba de inmunofluorescencia indirecta, cultivos celulares infectados con *Pestivirus* se hacen reaccionar con el suero problema y la unión antígeno-anticuerpo es evidenciada por adición de un conjugado anti inmunoglobulina de bovino, compuesto por inmunoglobulina G unida a isotiocianato de fluoresceína. La emisión de fluorescencia en las células infectadas es observada en un microscopio de fluorescencia, denotando la existencia de anticuerpos antipestivirus (Edwards, 1990).

3.- La seroneutralización, dilución punto final (SNDPF) consiste en mezclar el suero problema de cada animal, en diluciones base dos, con una cantidad fija de un virus

citopático (100 DICT₅₀). La capacidad del suero para impedir la multiplicación viral sobre un cultivo celular susceptible de ser infectado se expresa con la ausencia de efecto citopático sobre las células. Así que, si el suero no posee anticuerpos seroneutralizante para el virus, se produce la lisis celular por acción de las 100 DICT₅₀ del virus. Si se inhibe la infección viral, la capacidad neutralizante del suero demuestra la presencia de anticuerpos, pudiendo dicha capacidad ser cuantificada (Lennette y Schmidt, 1964).

En la prueba de elección para el diagnóstico de una infección por pestivirus hay que considerar que cuando el ganado sufre una primo-infección la viremia dura a lo más 3 semanas, la producción de anticuerpos ocurre dentro de 2-3 semanas post infección, y los títulos de anticuerpos pueden continuar subiendo por 10 a 12 semanas, luego se mantienen, y declinan lentamente pudiendo permanecer hasta por toda la vida del animal recuperado (Brownlie *et al.*, 1987; Edwards, 1990; Fredriksen *et al.*, 1999). Sin embargo, también se describe que la producción de anticuerpos y su consecuente protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus son para toda la vida (Duffell y Harkness, 1985). Por otro lado, se debe tener presente que los anticuerpos calostrales declinan su título en los primeros meses de vida haciéndose indetectables alrededor del sexto mes posterior al nacimiento (Wentz *et al.*, 2003). De acuerdo a lo antes señalado se indica que la detección de la infección viral se hace más exitosa cuando, en los animales mayores de 6 meses, se buscan anticuerpos, debido a su mayor permanencia en el tiempo, que cuando se busca el virus propiamente tal. Sin embargo, cabe tener presente, que los animales PI serán encontrados en el grupo de animales seronegativos, aunque es conocido que un pequeño porcentaje de animales PI pueden tener anticuerpos neutralizantes, como respuesta a infecciones naturales con cepas de pestivirus heterólogas a la que produjo la condición de inmunotolerancia (Chase *et al.*, 2004).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de las infecciones que afectan la productividad de los camélidos sudamericanos domésticos de la Región de Tarapacá.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar la presencia de anticuerpos capaces de neutralizar la infecciosidad del VDVB en sueros de llamas y alpacas del Altiplano de la Provincia de Parinacota, Región de Tarapacá.

MATERIAL Y MÉTODO

Muestras:

Considerando que un 2% de los animales poseen anticuerpos seroneutralizantes contra *Pestivirus* y trabajando con un 95% de confianza para detectar la presencia de un animal positivo (Thrusfield, 1986), se debe obtener un mínimo de 149 muestras de sangre de alpaca y llamas procedentes de diferentes localidades del altiplano de la Región de Tarapacá. El total real de muestras que se analizaron fue de 166, conformada por 136 llamas y 30 alpacas (Anexo 1) provenientes de 12 localidades del Altiplano de la Región de Tarapacá (Anexo 2).

En general, son dos los sitios que se usan en venipuntura en los CS para obtener muestras de sangre de la vena yugular.

El primero es craneal. A la porción craneal del cuello a nivel de la mandíbula, se extiende una línea continua con el borde ventral de la mandíbula 3 a 4 cm. dorsal a su ángulo. El segundo sitio es caudo ventral al cuello donde los procesos ventrales de las vértebras cervicales pueden ser palpados. Los procesos de la quinta y sexta vértebra cervical son más prominentes. Los procesos ventrales de la quinta vértebra cervical pueden ser palpados con el dedo pulgar, así ubicar un canal entre el músculo esternocéfálico y el proceso ventral que es el canal yugular superficial. Aplicando presión sobre la vena craneal al sitio de punción ayuda a identificar mejor la vena yugular.

La desventaja del primer punto es que la piel de la llama en este lugar puede llegar a tener mas de 1cm. de grosor.

Diferente es en el segundo lugar donde la ventaja es que la piel solamente alcanza de 3 a 4 mm. de grosor, y el cuello permanecerá estable cuando el animal mueve su cabeza. (Sheri *et al.*, 1987).

Las muestras de sangre fueron obtenidas en el Matadero de Arica a través de punción yugular en la zona de la quinta y sexta vértebra cervical como se mencionó anteriormente, con tubos de vacío previa depilación y desinfección de esta zona. Los tubos de vacío se dejaron en posición diagonal para que coagulara la sangre, y fueron transportados al Departamento de Biología y Salud de la Facultad de Ciencias de la

Universidad de Tarapacá, lugar donde se extrajo el suero con pipetas Pasteur llevándolos a tubos Eppendorff ® previamente rotulados para identificar la muestra. Las muestras de suero fueron sometidas a centrifugación a 1000 G por 5 minutos y posteriormente se dispusieron en nuevos tubos Eppendorf ®. Los tubos con los sueros fueron depositados en un termo con nitrógeno líquido, el cual los conservó a -196° C hasta la llegada al Laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, lugar donde fueron descongelados y sometidos a una temperatura de 56° C por 30 minutos en un baño termorregulado, para inactivar los factores del sistema del complemento. Posteriormente, se conservaron a temperatura de -20° C hasta el momento de realizar la prueba de seroneutralización.

Células:

Para obtener cultivos celulares aptos para multiplicar el virus en la prueba de seroneutralización se utilizaron células de pulmón de fetos bovinos de menos de 3 meses de gestación obtenidos de la Planta Faenadora de Carnes “Lo Valledor”. Los pulmones se extrajeron del animal, el mismo día del sacrificio, de la forma más aséptica posible y fueron trasladados al Laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. En el laboratorio se lavaron con Salina A de Puck (Lennette y Schmidt, 1964), se picaron con tijeras, y se sometieron a un nuevo lavado. Posteriormente, se adicionaron 30 ml. de tripsina al 0,25% en Salina A de Puck calentada a 37° C, dejándose actuar la tripsina por 30 minutos en agitación y se recuperó el sobrenadante. El tratamiento con tripsina se repitió 3 a 4 veces. En todas las etapas las células se recuperaron por centrifugación a 2000 G por 5 minutos, luego se resuspendieron en Salina A de Puck a modo de lavado y nuevamente se recuperaron por centrifugación a 2000 G por 5 minutos (Lennette y Schmidt, 1964).

El paquete celular se resuspendió en medio de cultivo con 10% de suero equino, ajustando a una concentración de 500.000 a 1.000.000 de células por ml. para sembrarlas en botellas, cambiando el medio a las 24 horas. Después de 3 a 4 días de ser sembradas, las células formaron una monocapa la que fue desprendida del vidrio de la botella y disgregadas con una solución de tripsina Verseno a 37° C (tripsina 1:250 en concentración

de 0,05% y Verseno en concentración de 0,02% en salina A de Puck, ajustada a pH 7,6), y se lavaron con salina A de Puck. El paquete celular se ajustó a una concentración de 1.000.000 a 2.000.000 de células por ml de medio de cultivo adicionado de 10% de suero equino y 10% de dimetil sulfóxido (DMSO), y se dispusieron en volúmenes de 1 ml. sometiénolas a una disminución gradual de temperatura hasta los -196° C y se conservaron hasta ser empleadas en las pruebas de seroneutralización.

Una alícuota se descongeló sometiénola a 37° C y se dispuso en botellas con medio de cultivo con suero equino al 10%, incubándose a 37°C hasta formar una monocapa de células. Para realizar un subcultivo de células, se extrajo el medio de cultivo sobrenadante, la monocapa celular se lavó con Salina A de Puck y se adicionó tripsina Verseno para desprender la monocapa celular y disgregar las células, las células se sembraron en concentración de 100.000 por ml. en medio de cultivo con 8% de suero equino, constituyendo este proceso el primer pasaje celular.

Se realizó un mínimo de 7 subcultivos y se comprobó la ausencia del VDVB por prueba de inmunofluorescencia directa (Lennette y Schmidt, 1964). En caso de detectarse antígenos del VDVB, las células fueron descartadas y se repitió todo el proceso hasta obtener cultivos libres del VDVB. En caso de estar libres de contaminación las células se emplearon en el quinto pasaje para efectuar la prueba de seroneutralización del VDVB

Virus:

Se utilizó la cepa viral citopatogénica Nacional Animal Disease Laboratory (NADL), procedente de Iowa, 1962 (Gutekunst y Malmquist, 1963) del VDBV. Esta se cultivó y se cuantificó su infecciosidad, almacenándose en alícuotas dispuestas en tubos criogénicos a -50° C.

Para cuantificar la infecciosidad del virus se hicieron diluciones en base 10 del virus desde 1:10 hasta 1:10 millones. Para esto, a 7 tubos se les agregó 900 ul de medio de cultivo. Luego al tubo 1 se agregó 100 ul del virus en estudio, y se mezclaron en Vortex, obteniéndose de esta forma una dilución 1:10. Posteriormente, se transfirieron 100 ul de la mezcla del tubo 1 al 2 se agitó y se obtuvo una dilución 1:100. Este procedimiento se realizó con los tubos restantes hasta obtener una dilución de 1:10 millones. Cada una de las

diluciones se sembró en dos pocillos de una microplaca, en volumen de 50 ul. Posteriormente, a cada pocillo se adicionó 50 ul de medio de cultivo y 100 ul de una suspensión celular que contenía 150.000 células por ml adicionado de un 15% de suero equino, en un volumen de 100 ul. La microplaca se selló con Parafilm ® y se incubó a 37°C y con un 5% de CO₂ por 3 a 4 días, realizándose observaciones microscópicas diarias en busca del efecto citopático producido por el virus. El título del virus correspondió al valor recíproco de la dilución que produce efecto citopático en el 50% de la población de pocillos con células, lo que fue calculado por el método de Reed y Muench (Lennette y Schmidt, 1964) y corresponde a la unidad dosis infectante en cultivos de tejidos 50% (DICT₅₀).

Seroneutralización:

Para cuantificar la capacidad neutralizante de los sueros en estudio, se hicieron diluciones en base 2 de los sueros, en volumen de 50 ul, desde 1:2 hasta 1:64 en medio de cultivo. Cada dilución de suero se hizo reaccionar con 100 DICT₅₀ de virus incubando la mezcla por 60 minutos a 37°C. Paralelamente, se incluyó un suero control negativo (desprovisto de anticuerpos para el VDVB) y un suero control positivo (provisto de anticuerpos para el VDVB). Además, se prepararon controles de células, de suero, del título viral y de las DICT₅₀ empleadas en la prueba.

Posteriormente, se adicionaron 100 ul de una suspensión que contenía 150.000 células por ml a cada pocillo que contiene la mezcla suero-virus. Las microplacas se sellaron con Parafilm ® y se incubaron a 37°C en un ambiente con un 5% de CO₂ por un período de 5 días realizándose lecturas microscópicas diarias en busca del efecto citopático producido por la cepa NADL del VDVB (Edwards, 1990).

El título del suero correspondió a la dilución de suero que protege al 50% de los pocillos con monocapas celulares de la acción de 100 DICT₅₀ de virus y se obtiene empleando el método de Reed y Muench (Lennette y Schmidt, 1964).

Análisis de resultados:

Los resultados fueron analizados por distribución de frecuencias de títulos serológicos, separados por sexo y por lugar geográfico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de analizar las 166 muestras de suero de camélidos sudamericanos domésticos constituidas por 136 sueros de llamas y 30 sueros de alpacas, los resultados muestran que ningún suero de los animales estudiados presentó anticuerpos neutralizantes para la cepa NADL del VDVB.

Que todas estas muestras hayan tenido como resultado la negatividad a la prueba de seroneutralización con la cepa NADL del VDVB podría deberse a que:

1°. En la Primera Región de Tarapacá existen algunas de las especies que podrían infectarse con pestivirus y servir como agentes diseminadores, como son bovinos con 4.648 cabezas, ovinos 46.005, porcinos 5.150 y caprinos 10.838 (INE, 1997). También se debe considerar que después de estar en peligro de extinción las vicuñas, CSA silvestre, ahora se encuentran en un mayor número compartiendo con los CSAD los bofedales para alimentarse y los cursos de agua para beber, y de estar infectadas con pestivirus pueden también ser fuente de infección para los CSAD. En la zona altiplánica, entre las especies adaptadas a las condiciones climáticas adversas, además de las vicuñas sólo se encuentran, en bajo número, ovinos y caprinos que se alimentan y viven en los mismos sectores que las alpacas y llamas y el no encontrar anticuerpos para pestivirus en los CSAD, haría suponer que estas especies que acompañan a los CSAD en el altiplano, tampoco estarían infectadas y no serían fuente de infección.

Considerando que los animales pueden compartir pasturas, fuentes de agua y alimento con el ganado en pastoreo, principalmente en zonas donde se utiliza el sistema de crianza mixto, es posible pensar en la transmisión entre especies (Morán *et al.*, 2006).

Los *Pestivirus* tienen la capacidad de cruzar barreras de especies, y la principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos PI, que son los que eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus por sus secreciones. Los animales con infección aguda también son fuente de infección, pero menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades mas bajas y por cortos periodos (Lértora, 2003).

Las alpacas y llamas de la provincia de Parinacota, Región de Tarapacá no se encuentran infectadas con el VDVB. Este resultado, puede atribuirse a que por las condiciones climáticas que ahí se encuentran, como son la marcada oscilación térmica entre el día y la noche y la condición de hipoxia con la que se vive en el altiplano por encontrarse por encima de los 3.500 m.s.n.m., hace que difícilmente puedan acceder otras especies emparentadas con los camélidos, o que pertenezcan al Orden *Artiodáctila* como son los porcinos, bovinos, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres.

No obstante, en un trabajo que realizó Rivera *et al.* (1987) en Puno, departamento de La Sierra sur del Perú, localidad ubicada a unos 3.200 a 4.500 m.s.n.m., a un total de 117 alpacas se le tomaron muestras de sangre para practicar exámenes en busca de anticuerpos para diferentes virus incluido el VDVB, los cuales dieron un total de 13 muestras positivas a anticuerpos contra VDVB (un 11.1%) utilizando la cepa Singer del VDVB. Del mismo modo, Álvarez *et al.* (2002) realizó una investigación en CSA de la comunidad de Silla, en la provincia de Canchis, Cuzco Perú, que se encuentra a una altura de 3500 m.s.n.m. y detectó que 23 de 200 alpacas (11.5%) presentaron anticuerpos neutralizantes contra la cepa Singer del VDVB (Álvarez *et al.*, 2002).

2°. Que las alpacas y llamas de la zona geográfica estudiada se encuentren infectadas con una cepa nativa, o adquirida de otros animales, que no comparte antígenos neutralizables con la cepa NADL del VDVB. Ensayos de neutralización viral para detectar anticuerpos afectados por la diversidad antigénica del VDVB (Bolin y Ridpath, 1992). Títulos de anticuerpos neutralizantes para el VDVB reportados por diferentes laboratorios empleando dos cepas diferentes pueden variar significativamente (Edwards, 1990). En este caso, la diferencia con el estudio de Rivera *et al.* (1987) y de Álvarez *et al.* (2002), señalados anteriormente, podría deberse a la diferente antigenicidad de la cepa viral empleada. También cabe destacar que en una población donde el virus circulante es de tipo 2, al emplear una cepa tipo 1 en la prueba de neutralización, los títulos de anticuerpos obtenidos son significativamente diferentes que si se emplea una cepa tipo 2, de tal modo que cuando se van a realizar pruebas de neutralización viral para el VDVB, como herramienta diagnóstica, es recomendable emplear los dos tipos virales. (Bolin y Grooms, 2004). En este estudio se utilizó sólo la cepa NADL que corresponde al tipo 1 del VDVB (Ronchi *et al.*, 2001). Bolin y Grooms (2004) empleando la cepa NADL no encontraron

anticuerpos neutralizantes en los sueros de novillos de un año de edad, incluso en la dilución más baja (1:2), en tanto que empleando una cepa tipo 2 como es la cepa 1373, obtuvieron títulos incluso mayores a 4096. Por lo tanto, sería necesario realizar las pruebas de seroneutralización viral del VDVB con alguna cepa diferente a la NADL, ya que de acuerdo a estos antecedentes no es posible señalar que la zona estudiada está libre de infección con el VDVB.

3°. Que la prueba serológica empleada no sea lo suficientemente sensible para detectar anticuerpos para pestivirus en CSD. En este caso, lo recomendado sería aplicar una prueba serológica de mayor sensibilidad, como ELISA, ya que ésta se describe como un método apto para el diagnóstico serológico de grandes animales (Reinhardt *et al.*, 2001). No obstante, la prueba de neutralización es comúnmente utilizada en todo el mundo y el Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG), la considera como prueba oficial en el país (Departamento de Protección Pecuaria, Servicio Agrícola y Ganadero (Barrientos, 2004), y las cepas más comúnmente utilizadas en la prueba de seroneutralización son las citopáticas NADL, Singer y Oregon C24V y todas corresponden a VDVB-1 (Saliki y Dubovi, 2004).

Se podría pensar, que el manejo de las muestras de sueros, desde una región lejana del país, podría haber afectado la viabilidad de los sueros, lo que hubiese alterado la presencia de anticuerpos en los mismos, sin embargo, ésto es poco probable, debido a que se utilizaron los mismos sueros para detectar la presencia de anticuerpos para el virus parainfluenza 3 (VPI-3) con resultados positivos (Aguirre, 2006).

De acuerdo a los resultados de este estudio es importante mantener las barreras sanitarias que impidan el contagio de los CSD con el VDVB, vigilando la introducción de CS desde otras regiones de Chile y desde otros países, pero, principalmente, resguardar la introducción de otras especies animales que también se infectan con el VDVB hacia las zonas altiplánicas donde habitan los CSD, para así impedir el contacto cercano entre estas especies, y un eventual contagio de los camélidos con un virus que podría traer negativas consecuencias para la producción de estas especies tan importantes para la población del altiplano de la Región de Tarapacá.

CONCLUSIÓN

Se concluye que menos del 2% de los CSD del Altiplano de la Región de Tarapacá, de las doce localidades de donde se obtuvieron muestras de suero de los CSD para este estudio, podrían estar infectadas con el VDVB o con algún otro *Pestivirus* que comparta antígenos neutralizables comunes con la cepa NADL del VDVB.

ANEXO 1

Número	Especie	Sexo	Edad	Localidad	Propietario
1	Llama	Hembra	2,5	Guallatire	Dominga Álvarez
2	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
3	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
4	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
5	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
6	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
7	Llama	Macho	2	Cruzani	Florentina Poma
8	Llama	Hembra	2	Cruzani	Florentina Poma
9	Llama	Hembra	2	Cruzani	Florentina Poma
10	Llama	Hembra	2	Cruzani	Florentina Poma
11	Llama	Hembra	2	Cruzani	Florentina Poma
12	Llama	Hembra	2	Cruzani	Florentina Poma
13	Llama	Hembra	2	Cruzani	Florentina Poma
14	Llama	Macho	2,5	Surire	Jacinto Gómez
15	Llama	Hembra	2,5	Surire	Jacinto Gómez
16	Llama	Macho	2,5	Surire	Jacinto Gómez
17	Llama	Macho	2,5	Surire	Jacinto Gómez
18	Llama	Macho	2,5	Surire	Jacinto Gómez
19	Llama	Hembra	2,5	Surire	Jacinto Gómez
20	Llama	Hembra	2,5	Surire	Jacinto Gómez
21	Llama	Macho	2,5	Surire	Jacinto Gómez
22	Llama	Hembra	3	Guallancallan	Andrea Blas
23	Llama	Hembra	3	Guallancallan	Andrea Blas
24	Llama	Hembra	3	Guallancallan	Andrea Blas
25	Llama	Hembra	3	Guallancallan	Andrea Blas
26	Llama	Hembra	3	Guallancallan	Andrea Blas
27	Llama	Macho	3	Guallancallan	Andrea Blas
28	Llama	Hembra	3	Guallancallan	Andrea Blas
29	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
30	Llama	Hembra	3	Guallatire	Dominga Álvarez
31	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
32	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
33	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
34	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
35	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
36	Llama	Hembra	4	Guallatire	Maria Mamani
37	Llama	Hembra	4	Guallatire	Maria Mamani
38	Llama	Hembra	4	Guallatire	Maria Mamani
39	Llama	Hembra	4	Guallatire	Maria Mamani
40	Llama	Hembra	4	Guallatire	Maria Mamani
41	Llama	Hembra	4	Guallatire	Maria Mamani
42	Alpaca	Macho	2,5	Cruzani	Florentina Poma

43	Alpaca	Macho	2,5	Cruzani	Florentina Poma
44	Alpaca	Macho	2,5	Cruzani	Florentina Poma
45	Alpaca	Hembra	2,5	Cruzani	Florentina Poma
46	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
47	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
48	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
49	Llama	Macho	1,5	Caquena	Fernando Gutiérrez
50	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
51	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
52	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
53	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
54	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
55	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
56	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
57	Llama	Macho	1,5	Visviri	Julián Onofretapia
58	Llama	Macho	4	Guallatire	Anacleto
59	Llama	Macho	4	Guallatire	Anacleto
60	Llama	Macho	4	Guallatire	Anacleto
61	Llama	Macho	4	Guallatire	Anacleto
62	Llama	Macho	4	Guallatire	Anacleto
63	Llama	Macho	4	Guallatire	Anacleto
64	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Roberto Gualla
65	Llama	Macho	3,5	Guallatire	Roberto Gualla
66	Llama	Macho	3,5	Guallatire	Reimunda Jiménez
67	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Reimunda Jiménez
68	Llama	Macho	3,5	Guallatire	Reimunda Jiménez
69	Llama	Macho	3,5	Guallatire	Reimunda Jiménez
70	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Reimunda Jiménez
71	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Roberto Gualla
72	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Roberto Gualla
73	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Roberto Gualla
74	Llama	Hembra	3,5	Guallatire	Roberto Gualla
75	Llama	Hembra	4	Guallatire	Alberto Álvarez
76	Llama	Hembra	4	Guallatire	Alberto Álvarez
77	Llama	Hembra	4	Guallatire	Alberto Álvarez
78	Llama	Hembra	4	Guallatire	Alberto Álvarez
79	Llama	Hembra	4	Guallatire	Alberto Álvarez
80	Llama	Hembra	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
81	Llama	Macho	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
82	Llama	Macho	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
83	Llama	Macho	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
84	Llama	Hembra	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
85	Llama	Hembra	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
86	Llama	Hembra	2,5	Humapalca	Evaristo Huanca
87	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
88	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
89	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas

90	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
91	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
92	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
93	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
94	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
95	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
96	Llama	Hembra	4	Tacora	Filimun Blas
97	Llama	Macho	4,5	Colchane	Claudio Vilches
98	Llama	Macho	4,5	Colchane	Claudio Vilches
99	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
100	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
101	Llama	Macho	4,5	Colchane	Claudio Vilches
102	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
103	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
104	Llama	Macho	4,5	Colchane	Claudio Vilches
105	Llama	Macho	4,5	Colchane	Claudio Vilches
106	Llama	Macho	4,5	Colchane	Claudio Vilches
107	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
108	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
109	Llama	Hembra	4,5	Colchane	Claudio Vilches
110	Llama	Hembra	2,5	Putre	Evaristo Huanca
111	Alpaca	Hembra	2,5	Putre	Evaristo Huanca
112	Llama	Hembra	2,5	Putre	Evaristo Huanca
113	Llama	Hembra	2,5	Putre	Evaristo Huanca
114	Llama	Hembra	2,5	Putre	Evaristo Huanca
115	Llama	Hembra	2,5	Putre	Evaristo Huanca
116	Llama	Macho	2,5	Putre	Evaristo Huanca
117	Llama	Macho	3,5	Surire	Natividad Mamani
118	Llama	Hembra	3,5	Surire	Natividad Mamani
119	Llama	Macho	3,5	Surire	Natividad Mamani
120	Llama	Macho	3,5	Surire	Natividad Mamani
121	Llama	Hembra	3,5	Surire	Natividad Mamani
122	Llama	Macho	3,5	Surire	Natividad Mamani
123	Llama	Hembra	3,5	Surire	Natividad Mamani
124	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
125	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
126	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
127	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
128	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
129	Llama	Macho	3	Guallatire	Dominga Álvarez
130	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
131	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
132	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
133	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
134	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
135	Alpaca	Hembra	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
136	Alpaca	Hembra	3	Guallatire	Tomacina Jiménez

137	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
138	Alpaca	Macho	3	Guallatire	Tomacina Jiménez
139	Alpaca	Macho	3,5	Chislluma	José Luís Marca
140	Llama	Macho	3,5	Chislluma	José Luís Marca
141	Llama	Macho	3,5	Chislluma	José Luís Marca
142	Llama	Hembra	3,5	Chislluma	José Luís Marca
143	Alpaca	Hembra	3,5	Chislluma	José Luís Marca
144	Alpaca	Macho	3,5	Chislluma	José Luís Marca
145	Alpaca	Hembra	3,5	Chislluma	José Luís Marca
146	Llama	Hembra	3,5	Chislluma	José Luís Marca
147	Alpaca	Macho	3,5	Chislluma	José Luís Marca
148	Llama	Macho	3,5	Chislluma	José Luís Marca
149	Alpaca	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
150	Llama	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
151	Llama	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
152	Llama	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
153	Llama	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
154	Alpaca	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
155	Alpaca	Hembra	2,5	Visluvia	Juan Quispe
156	Llama	Hembra	2,5	Visluvia	Juan Quispe
157	Llama	Hembra	2,5	Visluvia	Juan Quispe
158	Llama	Hembra	2,5	Visluvia	Juan Quispe
159	Alpaca	Hembra	2,5	Visluvia	Juan Quispe
160	Alpaca	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
161	Alpaca	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
162	Alpaca	Macho	2,5	Visluvia	Juan Quispe
163	Alpaca	Macho	3	Colchane	Fernando Gutiérrez
164	Alpaca	Macho	3	Colchane	Fernando Gutiérrez
165	Alpaca	Macho	3	Colchane	Fernando Gutiérrez
166	Alpaca	Macho	3	Colchane	Fernando Gutiérrez

Antecedentes de las muestras obtenidas

ANEXO 2



Mapa de la Región de Tarapacá con localidades altiplánicas (Orplan, 2007).

BIBLIOGRAFIA

AGUIRRE, I.M.; SANTIBAÑEZ, M.C.; CELEDÓN, M.O. 2006. Detection of neutralizing antibodies against Bovine Parainfluenza virus-3 (BPIV-3) in vicuñas in Chile. ESVV. 7th Internacional Congreso of Veterinary Virology – September 2006, Lisboa, Portugal.

ÁLVAREZ, S.; RIVERA, H.; PEZO, D.; GARCIA, W. 2002. Detección de anticuerpos contra pestivirus de una comunidad campesina de la provincia de Canchas, Cuzco. Rev. Inv. Vet. Perú. 13 (1): 46-51.

ARF (ALPACA RESEARCH FOUNDATION). 2006. Alpaca Research Foundation Update: Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Camelids. [en línea]. < <http://www.alpacaresearchfoundation.org/> > [consulta: 23/04/07].

BAKER, J. C. 1987. Bovine viral diarrhea virus: A review. J. Am. Vet. Assoc. 190: 1449-1458.

BARRIENTOS, S.M. 2004. Presencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus de diarrea viral bovina (VDVB), en sueros bovinos de 4 predios de la IX región. Memoria Título Médico Veterinario. Temuco, Chile. U. Católica Temuco. Fac. Acuicultura y Cs. Vet. Esc. Med. Veterinaria. 59 p.

BOLIN, S. R.; RIDPATH, J.F. 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves. Am. J. Vet. Res. 53 (11): 2157-2163.

BOLIN, S. R.; GROOMS, D. L. 2004. Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. Vet. Clin. Food Anim. 20: 51–68.

BROCK, K.; DENG, R.; RIDPATH, J. 1993. Comparative hybridization and nucleotide sequence information from two noncytopathic isolates of bovine viral diarrhea virus. *Vet. Microbiol.* 36 (1-2): 69-82.

BROWNLIE, J.; CLARKE, M.C.; HOWARD, C.J.; POCOCK, D.H. 1987. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann. Rech. Vet.* 18: 157-166.

CELEDÓN, M.O.; VARGAS, C.; SALINAS, A.; CASANOVA, A.; IBARRA, L.; BERRIOS, P. 1996. Prevalencias serológicas para el virus de la diarrea viral bovina y de la rinotraqueítis infecciosa bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. *Av. Cs. Vet.* 11 (2): 75-80.

CELEDÓN, M.O.; PALACIOS, V.L.; PIZARRO, J.; IBARRA, L. 1997. Prevalencia de anticuerpos para el virus de la diarrea viral bovina en ganado de carne de la Región Metropolitana de Chile. *Av. Cs. Vet.* 12 (2): 98-100.

CELEDÓN, M.O.; CARBONELL, J.; IBARRA, L.; PIZARRO, J. 1998. Detección de bovinos portadores e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. *Arch. Med. Vet.* 30 (1): 125-132.

CELEDÓN, M.O.; SANDOVAL, A.; DROGUETT, J.; CALFIO, R.; ASCENCIO, L.; PIZARRO, J.; NAVARRO, C. 2001. Pesquisa de anticuerpos seroneutralizantes para pestivirus y herpesvirus en ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos de Chile. *Arch. Med. Vet.* 33 (2): 165-172.

CHASE, C.L.; ELMOWALID, G.; YOUSIF, A. 2004. The immune response to bovine viral diarrhoea virus: a constantly changing picture. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 20: 95-114.

DUFFELL, S.J.; HARKNESS, J.W. 1985. Bovine viral diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet. Rec.* 117: 240-245.

EDWARDS, S. 1990. The diagnosis of bovine virus diarrhoea-mucosal disease in cattle. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 9: 115-130.

EVERMANN, J.F. 2006. Pestiviral infection of llamas and alpacas. *Small Rum. Res.* 61: 201–206.

FERNÁNDEZ-BACA, S. 1971. La alpaca, reproducción y crianza. *Rev. del Centro de Investigación. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA), Perú.* 7: 43 p.

FIA (FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA). 2000. Camélidos en Chile situación actual y perspectivas. FIA. Santiago, Chile. 130 p.

FREDRIKSEN, B.; SANDVICK, T.; LOKEN, T.; ODEGAARD, A. 1999. *Vet. Rec.* 30: 111-114.

GROOMS, D. L. 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Vet. Clin. North Am Food Anim Pract.* 20: 5–19.

GUTEKUNST, D.E; MALMQUIST, W.A. 1963. Separation of a soluble antigen and infectious particles of bovine viral diarrhea viruses and their relationship to hog cholera. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 27: 121-123.

INE (INSTITUTO NACIONAL ESTADISTICA). 1997. VI Censo Agropecuario. Resultados preliminares. Edición José Cayuela. Stgo. Chile, INE, 443 p.

KRUMBIEGL, I. 1944. Die neuveltlichen tylopoden. *Zoologischer Anzeiger.* 145:45-70.

LENNETTE, E.H.; SCHMIDT, N.J. 1964. Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Diseases. 3th ed. American Public Health Association, Inc. New York. USA.

LÉRTORA, W.J. 2003. Diarrea viral bovina: actualización. Rev. Vet. 14 (1): 42-51.

LINNAEUS, C. 1758. Systema Naturae per Regna tria Naturae, Secundum Classes, Ordines, Genera, Species cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis. Editio decimal, reformata. Holmiae, Laurentii Salvii.

LÖNNBERG, E. 1913. Notes on Guanacos. Arkiv för Zoologi 8 (19):1-8.

MATTSON, D.E.; BAKER, R.J.; CATANIA, J.E.; IMBUR, S.R.; WELLEJUS, K.M.; BELL, R.B. 2006. Persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in an alpaca. J. Am. Vet. Assoc. 228 (11): 1762-1765.

MIRANDA, M.P. 2000. Determinación ultrasonográfica de los períodos de pérdidas embrio-fetales durante la gestación en alpacas (*Lama pacos*). Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Medicina Veterinaria. 66p.

MOLINA, J.I. 1782. Saggio Sulle Storia Naturale del Chile. Bologna.

MORAN, P.; DI SANTO, M.; GOGORZA, L. 2006. Transmisión del virus de la diarrea viral bovina. Factores de riesgo en el ingreso y diseminación en los rodeos. Rev. Vet. 17 (1): 50-56.

MOTHA, J.; THAM, K-M. 1992. Pestivirus infection in a llama (*Lama glama*). N.Z. Vet. J. 40: 126.

MÜLLER, P.L.S. 1776. Natursystem.

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.P.; HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. 1999. Veterinary Virology. Third Edition. Academic Press San Diego California, USA. 629 p.

NETTLETON P.F., 1990. Pestivirus infections in ruminants other than cattle. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 9 (1): 131–150.

ORPLAN (EDICIONES ORPLAN). 2007. Mapa de la Primera Región de Tarapacá. [en línea].

<http://www.vi.cl/secciones/mapasregionales/primer_a_region_de_tarapaca.html>
[consulta: 23/01/07].

PEREZ, J.P.A. 2006. Producción y comercialización de camelidos sudamericanos. [en línea]. <<http://www.monografias.com/trabajos38/camelidos-sudamericanos/camelidos-sudamericanos.shtml>> [consulta: 05/05/07].

PIZARRO-LUCERO, J.; CELEDON, M.O.; NAVARRO, C.; ORTEGA, R.; GONZÁLEZ, D. 2005. Identification of a pestivirus isolated from a free-ranging pudu (*Pudu pudu*) in Chile. Vet. Record. 157: 292–294.

RAGGI, L.A., 1998. Manejo de camélidos y fomento de su producción. Av. Cs. Vet. Vol. 13 (1): 3-15.

REINHARDT, G., S. RIEDEMANN, H FIEDLER, M. NEYDA, M. AGUILAR, V. CUBILLOS. 1986. Diarrea viral bovina/ enfermedad mucosa. Primer aislamiento del agente causal en Chile. Arch. Med. Vet. 18: 157–161.

REINHARDT, G., S. RIEDEMANN, S. ERNST, M. AGUILAR, R. ENRIQUEZ, J. GALLARDO. 1990. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea/mucosal disease in southern Chile. Prev. Vet. Med. 10: 73–78.

REINHARDT, G.; CARRASCO, L.; TADICH, N.; RIEDEMANN, S. 2001. Comparación entre dos técnicas de diagnóstico para diarrea viral bovina (DVB) en 50 predios de la X región, Chile: Seroneutralización y enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA-I). Arch. Med. Vet. 33 (2): 173-183.

RIVERA, H.; MADEWELL, B.; AMENGHINO, E. 1987. Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). Am J Vet. Res Vol 48 (2): 189-191.

RONCHI, J.I.; ESTELA, E.S.; LEUNDA, M.R.; ODEON, A.C. 2001. Infección experimental con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) genotipo 2 en terneros con anticuerpos neutralizantes al VDVB genotipo 1. Arch. Med. Vet. 33: 185-192.

SALIKI, J.T; DUBOVI, E.J. 2004. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. Vet. Clin. North Am Food Anim Pract. 20 (1): 69-83.

SANCHEZ, C. 2004. Crianza y producción de alpacas. Ediciones Ripalme. Lima, Perú. 135p.

SHERI, A.; ROBERT, K.; LARUE, J. 1987. Choosing the best site to perform venipuncture in a llama. Pet practice. 535-537.

THEDFORD, T.R.; JOHNSON, L.W. 1989. Infectious diseases of new-world camelids (NWC). Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract. 5:145-156.

THIEL, H.J.; PLAGEMANN, P.; MOENNIG, V. 1996. Pestiviruses. In: Fields, B.N.; Knipe, D.M.; Howley, P.M. (Eds.). Fields Virology, 3° Edición. Lippincott-Raven Publisher. Philadelphia, Estados Unidos de Norteamérica. pp. 1059-1074.

THOMAS, O. 1917. Preliminary diagnosis of New Mamals obtained by the Yale National Society Peruvian Expedition. Smithsonian Miscellaneous Collection 68.

THRUSFIELD, M. 1986. Veterinary Epidemiology. Butterworths, London, 280p.

VEGA, S.; ORDEN, J.S.; BAYON, C.; FUENTE, R. 1997. Diagnostico Diarrea vírica bovina (II). Rev. Bovis. (74): 55-82.

WENTZ, P.A.; BELKNAP, E.B.; BROCK, K.V.; COLLINS, J.K.; PUGH, D.G. 2003. Evaluation of bovine viral diarrhea virus in New World Camelids. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223 (2): 223-228.

WHEELER, J.C. 1991. Origen, evolución y status actual. Avances y Perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. FAO (Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación oficina regional de la FAO para América latina y el caribe. Santiago, Chile. Cap. 1: 11-48.