



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

**Determinación de la frecuencia de la enfermedad de la frontera
en cabras pertenecientes al cantón Zapotillo provincia de Loja**

Trabajo de Integración Curricular, previo a
la obtención del título de Médica
Veterinaria

AUTORA:

Clarisa Nayeli Carrión Jumbo

DIRECTORA:

Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2024

Certificación

Loja, 08 de agosto de 2023

MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera Mg. Sc.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Determinación de la enfermedad de la frontera en cabras pertenecientes al cantón Zapotillo provincia de Loja**, previo a la obtención del título de **Médica Veterinaria**, de la autoría de la estudiante **Clarisa Nayeli Carrión Jumbo**, con **cédula de identidad Nro. 2100798434**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, apruebo y autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



Firmado electrónicamente por:
**JHULIANA KATHERINE
LUNA HERRERA**

MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera Mg. Sc.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Clarisa Nayeli Carrión Jumbo**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma: 

Cédula de identidad: 2100798434

Fecha: 31 de enero de 2024

Correo electrónico: clarisa.carrion@unl.ec

Teléfono: 0968730564

Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Integración Curricular

Yo, **Clarisa Nayeli Carrión Jumbo**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Determinación de la enfermedad de la frontera en cabras pertenecientes al cantón Zapotillo provincia de Loja** como requisito para optar por el título de **Médica Veterinaria** autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los treinta y uno del mes de enero de dos mil veinticuadro.

Firma: 

Autor/a: Clarisa Nayeli Carrión Jumbo

Cédula: 2100798434

Dirección: Loja – Ecuador

Correo electrónico: clarisa.carrion@unl.edu.ec

Teléfono: 0968730564

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de Integración Curricular: MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera,
Mg. Sc.

Dedicatoria

Quiero dedicar este logro a los dos pilares fundamentales de mi existencia.

A mis amados padres. En especial a mi Mamá, tú siempre has sido mi luz en los momentos más oscuros. Tu amor inagotable paciencia y sabiduría han sido un faro que me ha guiado en cada paso de este camino académico. Gracias por estar siempre a mi lado, alentándome y dándome la confianza para enfrentar cualquier desafío que presente en mi vida. Tu ejemplo de perseverancia y dedicación me ha inspirado a nunca rendirme y a luchar por mis metas con determinación. Gracias por creer en mí cuando yo dudaba de mis propias capacidades.

Con todo mi amor.

Clarisa Nayeli Carrión Jumbo

Agradecimiento

Me gustaría expresar mi profundo agradecimiento a Luis Pacheco y Bolívar Pacheco por ser mi guía y apoyo incondicional. Tu presencia siempre estuvo a mi lado, animándome y motivándome a perseguir mis sueños.

Agradezco a la Universidad Nacional de Loja, a mis queridos docentes, especialmente a mi tutora de Trabajo de Integración Curricular, MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera Mg. Sc. Vuestra dedicación, conocimientos y orientación fueron fundamentales para enriquecer mi trabajo y llevarlo a su mejor versión.

A todos mis amigos juntos hemos enfrentado retos y tristezas, celebrado triunfos y sobre todo apoyado mutuamente en los momentos difíciles.

Con todo mi corazón.

Clarisa Nayeli Carrión Jumbo

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras	x
Índice de anexos	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1 Etiología	6
4.1.1 <i>Clasificación Taxonómica</i>	6
4.1.2 <i>Clasificación Genotípica</i>	6
4.2 Características del virus	7
4.2.1 <i>Morfología</i>	7
4.2.2 <i>Estructura general</i>	7
4.2.3 <i>Estructura molecular</i>	8
4.2.4 <i>Clasificación del virus según la patogenicidad</i>	10
4.2.5 <i>Probables factores de susceptibilidad de especies</i>	11
4.3 Transmisión	11
4.3.1 <i>Transmisión horizontal</i>	11
4.3.2 <i>Transmisión vertical</i>	12
4.3.3 <i>Transmisión iatrogénica</i>	12
4.4 Patogenia	12
4.5 Manifestaciones clínico patológicas	13
4.6 Respuesta inmunitaria	14
4.6.1 <i>Respuesta inmunitaria innata</i>	14
4.6.2 <i>Respuesta inmunitaria adquirida</i>	15
4.7 Lesiones	17
4.7.1 <i>Lesiones microscópicas</i>	17
4.7.2 <i>Lesiones macroscópicas</i>	17
4.8 Diagnóstico de laboratorio e identificación del agente etiológico	18
4.8.1 <i>Diagnóstico directo</i>	18
4.8.2 <i>Diagnóstico indirecto</i>	19
4.9 Tratamiento y prevención	20
4.10 Epidemiología	21

5. Material y Métodos	23
5.1 Area de estudio	23
5.2 Procedimiento	23
5.2.1 <i>Enfoque metodológico</i>	23
5.2.2 <i>Diseño de la investigación</i>	24
5.2.3 <i>Tamaño de la muestra y tipo de muestreo.....</i>	24
5.2.4 <i>Técnicas.....</i>	24
5.2.5 <i>Procesamiento y análisis de la información</i>	25
5.2.6 <i>Variables de estudio</i>	25
5.2.7 <i>Consideraciones éticas.....</i>	26
6. Resultados.....	27
6.1 Características de los Animales Estudiados.....	27
6.2 Frecuencia de la enfermedad de la frontera y factores asociados a la presencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera.	27
7. Discusión	28
8. Conclusiones	31
9. Recomendaciones	32
10. Bibliografía	33
11. Anexos	44

Índice de tablas

Tabla 1. Caracterización de variables dependiente e independientes por individuo y aprisco.	25
Tabla 2. Características de los caprinos considerados para el estudio.....	27
Tabla 3. Materiales, equipos y reactivos (técnica ELISA competitivo)	45
Tabla 4. Datos para validación de test positivo o negativo de ELISA competitivo.	47

2. Resumen

La enfermedad de la frontera es una enfermedad de distribución mundial, cuyo agente causal es un virus del género *Pestivirus* (VEF), responsable de producir alteraciones reproductivas como abortos espontáneos, reabsorciones embrionarias y una reducción significativa en los índices de fertilidad en hembras. Además, genera deterioro en el estado inmunológico de los neonatos resultando en el nacimiento de cabritos débiles. A causa de la alta transmisibilidad del virus, los antecedentes de casos reportados de la enfermedad en el vecino país de Perú, la presentación de trastornos reproductivos en cabras del cantón Zapotillo y las consecuentes pérdidas económicas en los apriscos, es sustancial realizar investigaciones sobre esta enfermedad en el Ecuador. Los objetivos de esta investigación fueron identificar la presencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja y determinar los factores asociados a su presentación. Para tal fin, se tomaron muestras de sangre de 92 caprinos de 19 fincas de la parroquia Limones y se recogió información epidemiológica a partir de una encuesta a los propietarios. Las muestras fueron analizadas mediante ELISA de competición para la detección de anticuerpos contra la proteína p80 (NSP2-3) del virus. El 100% (92/92) de los caprinos fueron seronegativos en la prueba de detección de anticuerpos circulantes contra el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) por lo que no se pudo ejecutar el análisis para determinar los factores asociados.

Palabras clave: Enfermedad de la frontera, cabras, ELISA de competición.

Abstract

Border disease is an infectious disease of worldwide distribution, whose causal agent is a virus of the genus *Pestivirus* (VEF), responsible for producing reproductive alterations such as spontaneous abortions, embryonic reabsorptions and a significant reduction in fertility rates in females. It also causes deterioration in the immunological status of neonates, resulting in the birth of weak kids. Because of the high transmissibility of the virus, the history of reported cases of the disease in neighboring Peru and the presentation of reproductive disorders in goats in the Zapotillo canton, together with the economic losses in sheepfolds, it is important to conduct research on this disease in Ecuador. The aims of this research were to identify the presence of antibodies against the border disease virus in goats from Zapotillo canton in the province of Loja and to determine the factors associated with its presentation. For this purpose, blood samples were taken from 92 goats from 19 farms in Limones parish and epidemiological information was collected from a survey of the owners. The samples were analyzed by competitive ELISA for the detection of antibodies against the p80 protein (NSP2-3) of the virus. 100% (92/92) of the goats tested were seronegative in the test for circulating antibodies against FADV so the analysis could not be run to determine associated factors.

Key words: Border disease, goats, competitive ELISA.

3. Introducción

La producción de ganado caprino es importante para el desarrollo socioeconómico de muchas familias que habitan en áreas rurales alrededor del mundo, esto debido a su fácil adaptabilidad a los distintos sistemas de producción y su eficiencia para convertir el alimento en leche y carne con alto valor proteico (Castel et al., 2010).

La importancia de esta especie cobra mayor relevancia en las zonas de clima cálido seco donde prevalecen suelos áridos y poca vegetación. Sin embargo, si bien la especie es bastante adaptable a distintos medios, su margen de productividad, al menos en la provincia de Loja, ha decrecido en los últimos años a causa de que las producciones son marginadas hacia aquellas zonas donde las condiciones ambientales son poco favorables y existe una escasa disponibilidad de vegetación para la alimentación (Aguirre et al., 2020).

En el Ecuador, según datos publicados en el Sistema de Información Pública Agropecuaria para el año 2022 se registró un total de 23,789 cabezas de caprinos distribuidas en las regiones costa, sierra y oriente (INEC, 2022). Un porcentaje significativo del 77%, es decir 18,300 caprinos residen en el ecosistema del bosque seco tropical de la provincia de Loja, en donde se destaca el cantón Zapotillo que sostiene el 40% de la productividad total, siendo el territorio de producción más extensa de la provincia (Aguirre et al., 2020; INEC, 2022).

El limitado desarrollo de estudios sobre enfermedades en caprinos limita las actividades de control y prevención, lo que afecta directamente a la economía de los capricultores, quienes afrontan el costo de atención veterinaria, medicamentos, pérdidas de productos de ganadería, disminución de los animales de reemplazo y la muerte de los mismos (Palomares et al., 2021).

Las patologías frecuentemente observadas en caprinos a causa de *Pestivirus*, son de distribución mundial, agente que es responsable de provocar alteraciones reproductivas como abortos espontáneos, mortalidad fetal, malformaciones, bajos índices en la fertilidad, gestación y digestibilidad (Kalaiyarasu et al., 2019). Así como deficiencias en el estado inmunológico del animal manifestando un cuadro de infección persistente en la descendencia (Becher et al., 2003).

Este tipo de enfermedades infecciosas son de gran interés debido su alta capacidad de transmisibilidad entre individuos y la aparición repentina de la sintomatología, lo que causa grandes pérdidas económicas en el aspecto de la cría de animales de granja (Kaiser et al., 2016). Mundialmente la enfermedad de la frontera es reportada en diversos países, sin

embargo, en el Ecuador, se dispone de pocos datos sobre la búsqueda de caprinos con anticuerpos contra el virus (VEF). El presente trabajo de investigación permitió conocer la situación epidemiológica actual sobre la enfermedad de la frontera en caprinos del cantón Zapotillo, para lo cual se plantearon siguientes objetivos específicos:

- Identificar la presencia de anticuerpos contra el virus de enfermedad de la frontera en cabras del cantón Zapotillo.
- Determinar los factores asociados a la presencia de anticuerpos contra el virus de enfermedad de la frontera en cabras del cantón Zapotillo.

4. Marco Teórico

4.1 Etiología

El virus de la enfermedad de la frontera (VEF) es el agente causal de la enfermedad que lleva su nombre. Esta afección es endémica de pequeños rumiantes domésticos y otras especies silvestres (Oguzoglu et al., 2009), se define como una patología viral y congénita reportada por primera vez en el año de 1959 en ovejas y cabras en la región fronteriza de Inglaterra y Gales (Nettleton et al., 1998). El agente etiológico está serológicamente relacionado con el virus de la diarrea viral bovina tipo 1 y tipo 2 (BVDV - 1) (BVDV - 2) y virus de la peste porcina clásica (VPPC) (Torleiv. L, 1995; Vilcek & Belák, 1996).

4.1.1 Clasificación Taxonómica

El VEF pertenece al género *Pestivirus* y a la familia *Flaviviridae*, que también comprende otros géneros como *Flavivirus*, *Hepacivirus* y *Pegivirus* (Simmonds et al., 2017). Los miembros de esta familia reciben sus distintas denominaciones según la especie afectada y las enfermedades que causan, por lo tanto los integrantes del género *Pestivirus* se catalogan de la siguiente manera: virus de la diarrea viral bovina tipo 1 y tipo 2 (*BVDV - 1*) (*BVDV - 2*) afectan principalmente a la especie bovina; virus de la enfermedad de la frontera (VEF) (*BDV por sus siglas en inglés - Border disease in goats*) observado en ovinos y caprinos (W. Li et al., 2013) y el virus de la peste porcina clásica (*CSFV*), aislado en porcinos (Kaiser et al., 2016; Ridpath. J., 2015) en rumiantes salvajes y jabalíes (Shannon et al., 1997).

4.1.2 Clasificación Genotípica

Los *Pestivirus* se encuentran conformados por secuencias totales de ARN simple viral monocatenario (Becher et al., 2003) de polaridad positiva compuesto por aproximadamente 12,300 nucleótidos (Righi et al., 2021) y una longitud general que puede ir de 11,3 a 13,0 kilobases (Becher et al., 2014) con un valor promedio de 12,3 kilobases (Pankraz et al., 2005).

La clasificación genómica del virus representa un desafío debido a su marcada diversidad genética y antigénica, además de su estrecha relación con otros organismos del género *Pestivirus*. Sin embargo, gracias a diversos aislamientos desarrollados a campo en ovinos y caprinos, ha sido posible identificar al menos ocho genotipos denominados de la siguiente manera (VEF - 1; VEF - 8) (Becher et al., 2003; Valdazo et al., 2007; Giammarioli et al., 2011).

4.2 Características del virus

4.2.1 Morfología

La forma de los *Pestivirus* en general es semejante a muchas otras estructuras celulares envueltas, lo cual complica su diferenciación (Tautz et al., 2015). Este tipo de agente patógeno consta de partículas víricas denominadas viriones. El virión es una partícula con características infecciosas a nivel extracelular, cuyo objetivo es iniciar un ciclo de replicación viral en las células del huésped (Siddell et al., 2023). Tienen forma esférica y una envoltura que mide de 40 a 60 nm de diámetro. La envoltura es simétrica, con un núcleo no tipificado y una conformación de anillo que mide entre 10 a 12 nm en su superficie (Lefkowitz et al., 2018).

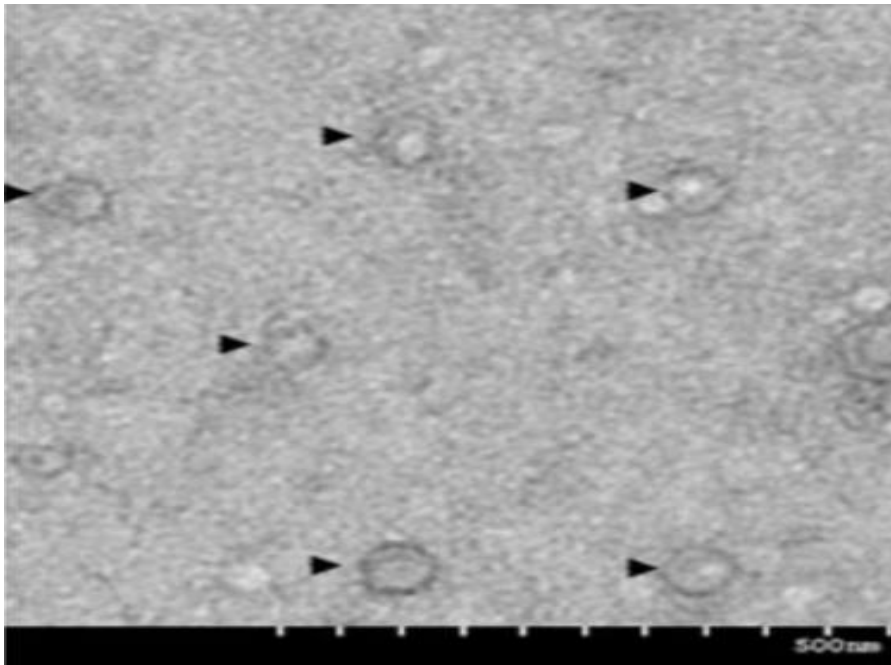


Figura 1. Partículas aisladas del virus de la enfermedad de la frontera. Obsérvese las partículas virales de 50 a 60 nm mediante microscopía electrónica (flechas negras); cada graduado en la barra de escala representa 50 nm.

Nota: Extraído de Li et al., (2013)

4.2.2 Estructura general

El virus está conformado por cuatro proteínas estructurales, una proteína central, la proteína de la cápside (C) (14 kDa de peso) (Tautz et al., 2015), tres glicoproteínas de la cubierta: E^{ms} (gp44/48), E1 (gp33) y E2 (gp55) (Lefkowitz et al., 2018) y de 7 a 8 proteínas no estructurales: N^{pro}, p7, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B (Lefkowitz et al., 2018; Righi et al., 2021).

La estructura de la cápside desde el punto de vista físico químico no tiene una composición lipídica y la composición de carbohidratos se ve reflejada en todas las glicoproteínas que conforman la envoltura debido a que contienen glucanos (Lefkowitz et al., 2018).

Según la estructura de la envoltura del virus, una vez que sale del hospedador puede ser rápidamente inactivado por desinfectantes comunes, solventes y detergentes orgánicos. La infectividad del virión tolera un amplio rango de pH, aunque es bastante inestable a temperaturas superiores a los 40 °C (Depner et al., 1992). La resistencia del organismo infeccioso en el medio ambiente es limitada, cuando los animales portadores se desplazan en un área donde mantienen contacto con animales sanos, estos pueden propagar el virus con gran facilidad (Tautz et al., 2015; Tizard. I, 2018).

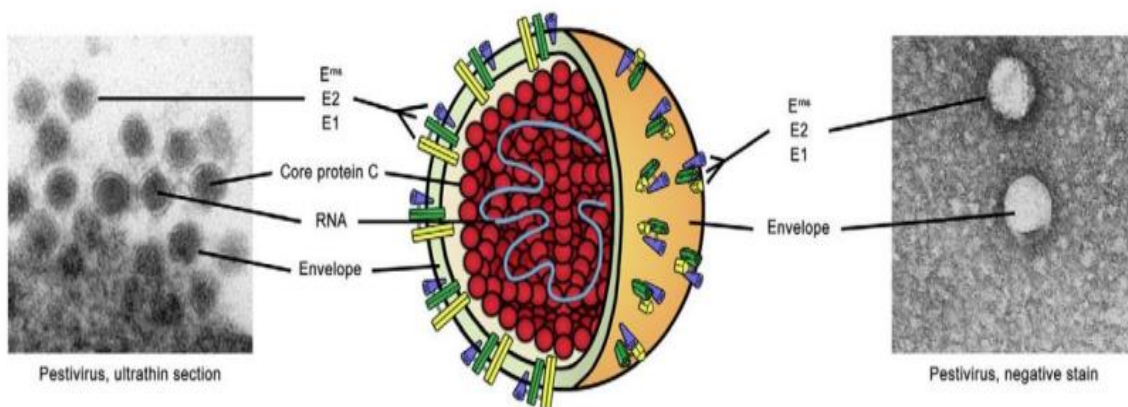


Figura 2. Características básicas de los Pesticivirus.

Representación gráfica de una partícula pestiviral flanqueada por imágenes microscópicas electrónicas.

Nota: Adaptado por Tautz et al. (2015).

4.2.3 Estructura molecular

Genómicamente posee un marco de lectura abierto (región de ARN que contiene la secuencia de codificación de proteínas) “ORF” (Open Reading Frame) acompañado por dos regiones no codificadoras en la sección del extremo 5’ y 3’ “UTR” (Figura 3) (Untranslated Region) (Tajima et al., 2001). Concretamente el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) codifica 4,000 aminoácidos cuya función es descifrar cuatro proteínas estructurales, la cápside (C), tres glicoproteínas de la cubierta (Erns, E1 y E2) y de 7 a 8 proteínas no

estructurales (N^{pro}, p7, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) (Lefkowitz et al., 2018; Righi et al., 2021)

Los *Pestivirus* tienen una serie de proteínas responsables de generar trastornos en el organismo. Los componentes virales estructurales conforman las partículas víricas y se pueden clasificar en proteínas centrales de la nucleocápside (proteína C) y proteínas de la membrana situadas en la envoltura (Wang et al., 2015). Por otro lado, las proteínas no estructurales son codificadas por el genoma del virus, pero no siempre forman parte de la partícula viral durante los procesos de replicación, aunque pueden tener importancia durante la etapa de ensamblaje de virus (Tautz et al., 2015).

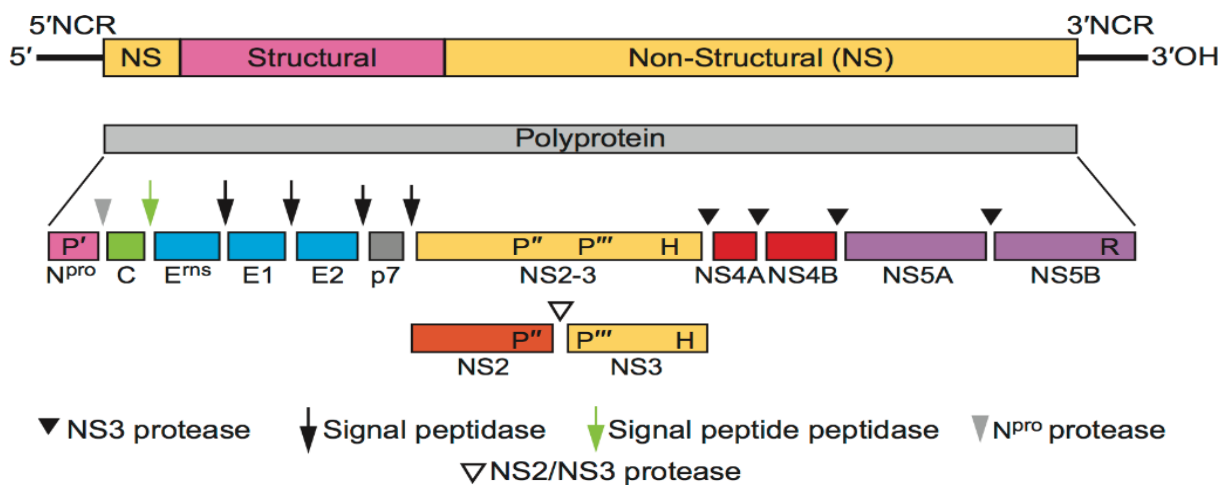


Figura 3. Organización gráfica del genoma y proteínas de Pestivirus. Observe la región no codificadora en la sección del extremo 5' y 3' "UTR" y las proteínas virales generadas.
Nota: Extraído de Simmonds et al. (2017)

Las proteínas estructurales se manifiestan cuando los viriones se encuentran en estado de madurez (Boehring. 2010). La proteína C, es una de las más básicas que posee el virus, esta tiene la función de adherirse al ARN en una baja afinidad y sin especificidad clara. La secuencia genética de esta proteína puede ser modificada de tal forma que una porción de los aminoácidos que conforman su estructura puede llegar a desaparecer lo que provoca una disminución de los títulos de virus (Andrew et al., 2012; Riedel et al., 2012).

Investigaciones en cuanto a la actividad genética de las proteínas de *Pestivirus* como el virus de la Peste porcina clásica (CSFV), permiten concluir que el gen de la proteína (C) puede ser eliminado *in vitro* lo que demuestra que esta proteína es importante para los procesos de replicación vírica (Riedel et al., 2012).

La proteína (E^{ms}) “rns”. Es una glicoproteína con características específicas y actividad ribonucleolítica en el ARN, dado que se encarga de descomponer los ácidos ribonucleicos (Behrens et al., 1998; Krey et al., 2012). Este tipo de proteína está presente en la partícula viral (Rumenapf et al., 1998) y tiene participación directa en la actividad genética del agente patógeno, su desempeño no siempre es esencial para la viabilidad del virus en los cultivos de tejido, y su supresión provoca una disminución de la respuesta inmunitaria innata del huésped (Hulst et al., 1998; Meyer et al., 2002).

La proteína (E1) no tiene ninguna función directa en la estructura del virus, los animales infectados no desarrollan anticuerpos lo cual dificulta su detección (Tautz et al., 2015). La proteína (E2), es la encargada de generar el complejo de unión a los receptores de los *Pestivirus* y de generar el tropismo de especie entre los distintos biotipos existentes (Liang et al., 2003), precisamente esta proteína expresa epítomos con regiones específicas, en donde se concentran las respuestas generadas por el sistema inmunológico del hospedador (Tizard. I, 2018). De tal forma que se unen las células del huésped e inhiben la infección o a su vez imposibilita que se genere una respuesta inmune eficiente (Liang et al., 2006; Li et al., 2011).

Además, con respecto a las proteínas no estructurales, la proteína (Npro) proteínas (p7 y NS2) no tienen participación en el proceso de replicación viral del ARN, aunque la proteína (P7) si cumple una actividad en el proceso de maduración del virus (Lefkowitz et al., 2018; Righi et al., 2021).

4.2.4 Clasificación del virus según la patogenicidad

El virus de la enfermedad de la frontera también es conocido como *Pestivirus tipo D* y se clasifica en biotipos según la capacidad que presenta para producir cambios en la morfología, función y estructura de las células infectadas. Por lo cual es posible encontrar biotipos citopatogénicos (CP) y no citopatogénicos (NCP) (Garcia et al., 2019).

El biotipo citopatogénico (CP) sufre cambios en su conformación dado que se redondea se desprende de la monocapa del virus y en ocasiones muere posiblemente a causa del proceso de apoptosis durante la ejecución de los mecanismos de defensa del sistema inmune. A nivel celular es responsable de generar vacuolización y lisis de las células infectadas y clínicamente causa una infección aguda que puede ser eliminada rápidamente (Garcia et al., 2019; Tautz et al., 2015).

El biotipo no citopatogénico (NCP) no causa signos microscópicos visibles, sin embargo, su aislamiento a campo es más frecuente debido a su capacidad para causar infección fetal persistente provocando que sea un factor clave para la diseminación constante del virus por parte de los animales PI (García et al., 2019; OIE, 2018)

Los aislamientos a campo son posibles por la alta relación genética y antigénica que existe entre el virus de la diarrea viral bovina (VDVB 1 y 2) y el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) (Nettleton & Entrican, 1995; Nettleton et al., 1998; Becher et al., 2003; Nettleton. & Willoughby, 2007), lo cual permite que se desarrollen análisis en poblaciones de animales por medio del uso de kits comerciales de ELISA de detección de anticuerpos para BVD Ag-ELISA, con el objetivo de identificar anticuerpos en muestras sanguíneas de pequeños rumiantes contra el virus de la enfermedad de la frontera (Kittelberger & Pigott, 2008).

4.2.5 Probables factores de susceptibilidad de especies

Los *Pestivirus* afectan primordialmente a los rumiantes domésticos como bovinos, ovinos y caprinos (García et al., 2019). Aunque también infecta a rumiantes salvajes como ciervos, renos, bisonte europeo, bisonte americano, llamas, alpacas, jirafas y rebeco pirenaico (Ignasi. M et al., 2007).

La especie caprina, tiene poca sensibilidad al agente patógeno, sin embargo, cuando llega a infectarse la manifestación clínica y signos de viremia aguda son poco notorios, además la tasa de supervivencia de los cabritos recién nacidos es bastante baja reduciendo la cantidad de animales infectados por primera vez, actuando como factor principal para la diseminación del virus (García et al., 2019; Tautz et al., 2015).

4.3 Transmisión

4.3.1 Transmisión horizontal

La transmisión horizontal ocurre por contacto directo entre un animal sano y un animal infectado con un cuadro de viremia aguda. El virus ingresa al organismo por medio de la vía (oro – nasal), conjuntival o genital por medio del coito (Berriatua et al., 2004). A través del contacto con secreciones oculares, descargas nasales, saliva, orina, líquido seminal o heces (García et al., 2019; Oguzoglu. T, 2012; Romeral. M, 2015).

4.3.2 Transmisión vertical

La transmisión vertical tiene una participación importante en la epidemiología de la enfermedad (Nettleton et al., 1998). Generalmente ocurre desde las hembras gestantes hacia los fetos a través de la placenta (García et al., 2019). Cuando el feto está en contacto con el biotipo no citopatógeno, se desarrolla un cuadro de infección persistente, especialmente en aquellos que se infectan prenatalmente antes del desarrollo de su sistema inmunitario (Oguzoglu. T, 2012).

En la especie caprina, el desarrollo del sistema inmunitario del neonato durante la gestación ocurre durante los primeros 60 a 85 días, sin embargo, producto de la infección se puede presentar nacimientos prematuros, junto a un sistema inmune inmaduro y una alta susceptibilidad a la enfermedad (Maclachlan N. et al., 2010).

Los animales persistentemente infectados con un cuadro de viremia e inmunotolerancia a la cepa que circula en su organismo, tienen la capacidad de excretar el virus constantemente por secreciones como saliva, semen, orina, leche, sangre y lágrimas por lo que son la principal fuente de infección en el rebaño y su eliminación es un factor primordial en cualquier programa de control (OIE, 2018).

4.3.3 Transmisión iatrogénica

Es poco frecuente, aunque si es posible que se produzca una transmisión iatrogénica, a través de inyecciones intramusculares, subcutáneas, endovenosas o vacunaciones con virus no inactivados, contaminadas con *Pestivirus* (Barkema et al., 2001).

4.4 Patogenia

Las infecciones provocadas por *Pestivirus* en rumiantes provocan enfermedades similares. El virus de la enfermedad de la frontera, es predominante en la especie ovina y caprina y su patología es semejante en muchos aspectos a los casos de diarrea viral bovina, reportados en bovinos (Predrera et al., 2008; Rüménapf et al., 1993).

El VEF se caracteriza por producir un cuadro de viremia durante la fase aguda de la enfermedad (González. J, 2010). Este periodo es el tiempo en el cual el virus se encuentra circulante en la sangre, tiene una duración de 7 a 15 días y un periodo de incubación de 1 a 4 días (García et al., 2019). Junto con la viremia se presenta un cuadro ligero de hipertermia y una leucopenia leve asociadas a una viremia de vida corta detectable entre el día 4 y 11 día de infección (Maclachlan N. et al., 2010; Nettleton et al., 1998; Nettleton & Entrican, 1995; Nettleton. P & Willoughby. K, 2007).

En algunos casos se pueden observar el cuadro de viremia hasta el día 21 post infección, al mismo tiempo que aparecen los anticuerpos neutralizantes del virus en el suero sanguíneo (García et al., 2019). Transcurrido el cuadro de viremia diversos estudios describen epizootias con elevada mortalidad en pequeños rumiantes asociadas a síndrome hemorrágico severo (Tautz et al., 2015).

El cuadro patológico en neonatos se ve reflejado en el nacimiento de cabritos débiles y tiene un sistema inmune inmaduro, por lo cual cursan por infecciones persistentes. Estos pueden presentar el denominado "síndrome del agitador peludo" (pelaje más largo y fino) (Righi et al., 2021). Este tipo de infección persistente surge del contagio vía transplacentaria y pueden sucumbir por un síndrome parecido a la enfermedad de las mucosas en rumiantes mayores (Kaiser et al., 2016).

4.5 Manifestaciones clínico patológicas

La infección en rumiantes menores se ha descrito en su mayoría de casos en la especie ovina y ocasionalmente en caprinos (Oguzoglu. T, 2012). El virus puede infectar al huésped de manera transitoria o persistente, además de provocar inmunosupresión y aumenta la vulnerabilidad del organismo del animal frente a otros agentes patógenos considerados oportunistas (Oguzoglu. T, 2012; Schweizer & Peterhans, 2014). Cuando se desarrolla el cuadro patológico la enfermedad puede presentarse de forma subclínica o inaparente, se manifiesta en animales adultos gestantes o no gestantes. En caso de las hembras gestantes el cuadro clínico aparece mientras la gestación se encuentra en su etapa inicial, con alteraciones como reabsorciones embrionarias o abortos desapercibidos (Nettleton et al., 1998).

Durante la gestación el feto puede contraer la enfermedad vía transplacentaria entre el día cincuenta o sesenta, el contagio se desarrolla antes del inicio de competitividad inmunológica. Después del nacimiento este puede permanecer saludable hasta una edad madura pero constantemente excreta grandes cantidades de virus infeccioso (Dubois et al., 2008). Otras alteraciones son los trastornos congénitos como: abortos, mortinatos, nacimiento de corderos débiles, conformación corporal anormal, vellón peludo, inmunosupresión y mayor riesgo de contagio de otras enfermedades (Righi et al., 2021).

El cuadro presente en los neonatos, afecta a su estado inmunológico. Los cabritos pueden nacer de forma prematura y son incapaces de mantenerse en pie acompañado de signos neurológicos como temblores corporales producto de la disfunción locomotora reciente, convulsiones, incapacidad para mamar, opacidad de la córnea y conjuntivitis.

Diversos estudios mencionan que los neonatos que nacen débiles y con sintomatología nerviosa, fallecen entre los 3 y 5 días después de nacimiento (Abdel et al., 2013). El cuadro clínico en especies no convencionales como los rumiantes salvajes, se desarrolla de forma distinta, evidenciando cambios en su comportamiento natural, pasando a un estado de docilidad en la que no escapan de la presencia del ser humano. Acompañado de otros signos clínicos como caquexia, deshidratación, estado febril, pelaje débil y parasitación abundante por garrapatas (Ignasi. M et al., 2007).

4.6 Respuesta inmunitaria

4.6.1 Respuesta inmunitaria innata

La inmunidad innata es la primera barrera de protección frente al virus, desempeña un papel esencial en la detección temprana y la reacción inflamatoria inicial. Para lograr este propósito se generan dos rutas: la generación de interferón (IFN) y la activación de la apoptosis (Oguzoglu. T, 2012).

En base a la generación del interferón, cuando el virus infecta a un individuo inmunológicamente susceptible, pueden hacer que se generen interferones (IFN) los cuales son esenciales para eliminar la infección viral (Raftery et al., 2017) tienen la capacidad de amortiguar la replicación de diferentes biotipos y genotipos de *Pestivirus* (Elsheikh. A et al., 2019; Quintana et al., 2020).

Los interferones son considerados glicoproteínas capaces de generar efectos en el sistema inmunológico, ayudar en el desarrollo de la respuesta inflamatoria, generar sustitución celular, entre otros (Fensterl et al., 2015). Biológicamente existen tres clases principales de interferón: IFN tipo I, IFN tipo II e IFN tipo III. Se agrupan en familias según su homología estructural, ubicación cromosómica y su interrelación con los receptores (Raftery et al., 2017).

En el organismo del animal infectado, los interferones no inactivan al agente viral por lo contrario se encargan de la síntesis de proteínas antivirales para amortiguar la replicación de los virus. El mecanismo de transducción de señales de IFN-I e IFN-III es semejante dado que ambos actúan a través de transductores que inducen a una respuesta antiviral sinérgica (Mordstein et al., 2010; Onoguchi et al., 2007; Sommereyns et al., 2008). En base a la actividad que realizan los (IFN) podrían clasificarse en tres tipos: aquellos que inhiben la entrada de virus, los que inhiben la síntesis de proteínas y aquellos que inhiben la liberación de virus (Hong et al., 2023; Raftery et al., 2017).

Si bien los interferones actúan muy bien en cuanto a la respuesta inmunitaria en el organismo, ciertos agentes patógenos del género *Pestivirus*, poseen la capacidad de utilizar sus proteínas auto codificadas con el fin de generar un efecto antagonista sobre la respuesta inmune del huésped y sobrevivir durante la infección, lo cual facilita los procesos de replicación viral (Cai et al., 2017; Maldonado et al., 2020). Además, podrían emplear las proteínas no estructurales N^{pro} y E^{ms} para contrarrestar la respuesta antiviral del hospedador al bloquear la acción de los interferones (IFN), provocando una resistencia a los procesos de apoptosis, controlar el proceso de mitofagia y otras vías similares (Cao et al., 2019; Fan et al., 2021; Gou et al., 2017; Xie et al., 2021; Zhang et al., 2018).

La apoptosis o muerte celular programada también forma parte de la primera línea de defensa del organismo contra las infecciones virales (Clemens, 2006). Se define como una muerte celular fisiológica que se genera como respuesta a estímulos endógenos o exógenos (Clemens, 2006; Ma et al., 2019). Cuando este proceso se presenta por inducción de un virus se convierte en un proceso importante para la patogénesis viral, en donde las células huésped inician rápidamente el proceso apoptótico para restringir la replicación y transmisión de los virus eliminando rápidamente las células infectadas (Carruthers et al., 2007; Clarke et al., 2005; Clarke, 2009; Nordén et al., 2013).

4.6.2 Respuesta inmunitaria adquirida

La respuesta inmune adquirida tiene un desarrollo más lento y su objetivo principal es identificar el virus a través de células linfocíticas (Tautz et al., 2015). Se genera a través de dos mecanismos: la respuesta inmune humoral, en la cual los linfocitos B tienen un rol crucial; y la respuesta inmune celular, en la que los linfocitos T son las células clave. Ambas respuestas se originan con la activación de los linfocitos en los órganos periféricos, desencadenada por la célula presentadora del antígeno (CPA) (Kenneth et al., 2017).

La respuesta inmune celular se encuentra mediada por los linfocitos T - CD4+ y T - CD8+. Estas células se ubican en mayor proporción en el tejido epitelial del intestino y su principal función es proteger las superficies mucosas. En los rumiantes jóvenes el número de linfocitos circulantes es superior al 60%, al llegar al año de edad estos disminuyen hasta un 30% y en edad adulta sólo conservan del 5 a 10% (Bruschke et al., 1998). La actividad inmunológica de los linfocitos T CD4+ es secretar citocinas que permiten regular la respuesta inmune mientras que los linfocitos T CD8+ son de carácter citotóxico, lo cual induce a la destrucción total de las células infectadas (Clarke et al., 2005).

Estas respuestas surgen a partir de los estímulos captados por los receptores que se encuentran en las superficies de los linfocitos B y T que reconocen regiones discretas de antígenos virales, conocidos como determinantes antigénicos o epítomos (Predrera M et al., 2008; Uriel & Moreno Nieves, 2020). Patológicamente la enfermedad puede desarrollar cuadros de linfopenia que oscila en rangos del 50% hasta el 90% según la cepa del virus. En donde los linfocitos T CD8+ disminuyen mucho más que los linfocitos T CD4+, de tal manera que existe poca afectación en las células T γ/δ circulantes (Archambault et al., 2000; Brodersen et al., 1999; J. A. Ellis et al., 1998). La disminución de los linfocitos CD4+, provoca el cuadro de viremia prolongada y además participa en la coordinación de la respuesta celular durante la fase temprana de la infección, desarrollando el mecanismo inmune de control de infecciones primarias, contra las proteínas virales E2 y NS3 (Letesson et al., 1997; Predrera M et al., 2008; Uriel & Moreno Nieves, 2020).

Por otro lado, la disminución de los linfocitos T CD8+ o células T γ/δ no causan prolongación en el cuadro de viremia. La presentación de cuadros infecciosos persistentes en el organismo, depende de la interacción entre la replicación viral y el sistema inmunológico del hospedador. Este proceso se ve modificado por la capacidad del virus para evadir los tipos de respuesta inmune innata o adaptativa, lo cual permite que los virus se repliquen en las células del huésped durante mucho tiempo sin causar daño o aumentar la susceptibilidad a enfermedades infecciosas a través de la represión inmunológica general (Tautz et al., 2015).

Una respuesta inmunitaria mediada por células como los linfocitos B se produce a causa de una respuesta inmune activa que se desarrolla después de una exposición al antígeno o por inmunidad pasiva mediante la ingestión de los anticuerpos presentes en el calostro, los anticuerpos antivirales se pueden detectar en caprinos frente a enfermedades como la diarrea viral bovina y la enfermedad de la frontera, debido a su alta especificidad y parentesco genotípico (Benito. 2017; Ellis et al., 2001).

La adquisición de los anticuerpos neutralizantes maternos por los animales PI reduce temporalmente la viremia, sin embargo, en casos en los que la enfermedad surge a causa de un *Pestivirus*, estos no tienen la capacidad de suprimirla completamente por lo cual la inmunidad humoral es insuficiente para la eliminación de las células infectadas (Howard et al., 1989).

4.7 Lesiones

4.7.1 Lesiones microscópicas

Las lesiones microscópicas se evidencian en su mayor proporción en los órganos diana como el sistema nervioso central por medio de cambios en la morfología de la célula, produciéndose hiper celularidad, desorganización celular y disminución del contenido de mielina (Loken et al., 1991). La disminución de la cantidad de mielina en el sistema nervioso central en la mayoría de los casos se desarrolla cuando el virus se adquiere de forma congénita (Möller et al., 1993).

Los cambios microscópicos más persistentes y severos se evidencian en las regiones periventriculares, el cerebelo, el tronco encefálico y los hemisferios cerebrales, y en ocasiones, también en la médula espinal. Estos cambios se caracterizan por la presencia de meningoencefalomielitis, la cual puede ser de tipo no supurativa y/o necrotizante, y con frecuencia se asocia con hipomielinogénesis (Toplu et al., 2011).

4.7.2 Lesiones macroscópicas

Esta enfermedad se caracteriza por desarrollar lesiones macroscópicas y anomalías en el sistema nervioso central (SNC), como hidranencefalia, hipoplasia cerebelosa, cifosis, escoliosis, braquignatismo, artrogriposis del sistema esquelético (Möller et al., 1993; Toplu et al., 2011). En el caso de los neonatos se puede detectar, porencefalia y cavitaciones subcorticales en la corteza cerebral, además de hidrocefalia braquignatia inferior e hipertrofia gingival (Dincel & Kul, 2015).

También se pueden manifestar lesiones en el tracto gastrointestinal, a manera de hemorragias localizadas en el estómago, intestino delgado e intestino grueso (W. Li et al., 2013), enteritis hemorrágica, úlceras abomasales y abomasitis hemorrágica. En el hígado puede encontrarse degeneración hepática. Y a nivel del sistema linfático, puede observarse a los nódulos linfáticos ligeramente aumentados junto con un cuadro de edema subcutáneo y ascitis (Li et al., 2013; Rosamilia et al., 2014).

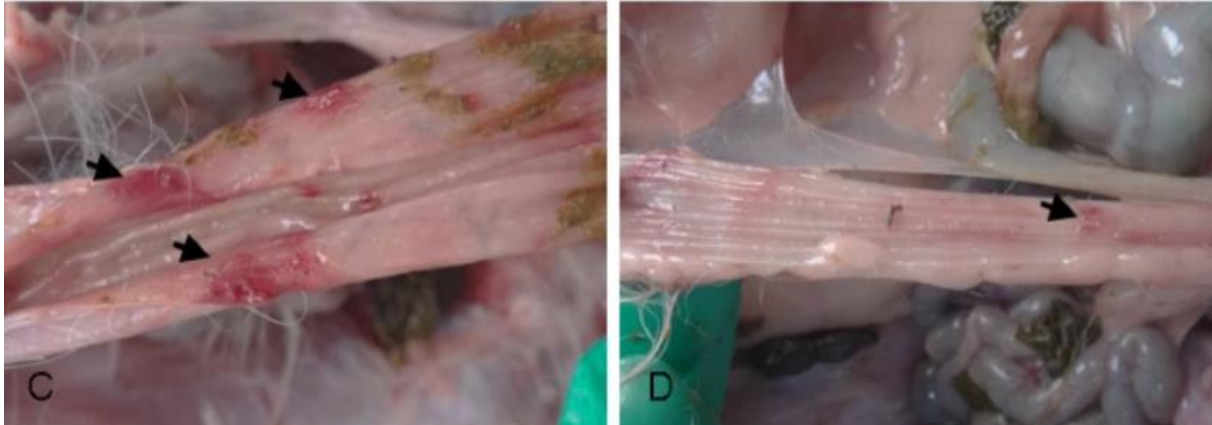


Figura 4. Proceso necrótico en el sistema digestivo de cabras con (VEF)
Hemorragia y proceso necrótico en el intestino delgado e intestino grueso de cabras con el virus de la enfermedad de la frontera. La necropsia corresponde a cabras enfermas de 2 a 4 meses de edad. Observe la hemorragia y necrosis en el intestino delgado (señalado con flechas negras).
Nota: Extraído de Li et al., (2013)

4.8 Diagnóstico de laboratorio e identificación del agente etiológico

4.8.1 Diagnóstico directo

Para este tipo de diagnóstico de manera general se pueden remitir muestras de sangre con anticoagulante (EDTA), orina, exudado genital e hisopado nasofaríngeo (Romeral. M, 2015). Para casos específicos, si es un animal vivo se puede tomar muestras de leucocitos, piel o suero sanguíneo. Si el animal es lactante, se pueden analizar muestras de leucocitos o piel, debido a que el virus puede estar neutralizado en el suero sanguíneo gracias a los anticuerpos maternos y se puede obtener un falso negativo (García et al., 2019). En el caso de tratarse de un animal muerto, se pueden remitir muestras de órganos diana como el sistema nervioso central, bazo, riñón o placenta. También se puede incluir en las muestras aquellos fetos abortados (García et al., 2019). Independientemente del tipo de muestra elegida, existen diversas técnicas de diagnóstico directo.

a) Transcriptasa reversa- reacción en cadena polimerasa (RT – PCR)

La técnica (RT – PCR) es altamente sensible y utilizada para el diagnóstico de virus pertenecientes al género *Pestivirus*. No requiere de manipulación post PCR y sus resultados son expresados en tiempo real (Epsy, et al., 2006). Las muestras que pueden ser remitidas para este tipo de análisis son muestras de suero, hisopos (nasales, bucales, rectales) y órganos como linfonodos, pulmón, riñón, estómago, intestino delgado, intestino grueso y partes del sistema nervioso (Cuello, et al., 2016).

El fundamento de la técnica es una enzima específica llamada transcriptasa inversa la cual posee polipéptidos específicos para amplificar genes del virus (Diaz. A et al., 2013) analizando la secuencia de la estructura genómica en la región 5'UTR misma que está muy conservada y es muy similar en este tipo de virus y posibilita el diagnóstico molecular y genotipado (Diaz de Arce, 2008).

b) Aislamiento viral en cultivo celular

Esta es una técnica de diagnóstico altamente sensible, el agente causal puede aislarse por inoculación de muestras clínicas en cultivos de diferentes líneas celulares de la especie ovina o bovina (Sashi. 1983) Es recomendable utilizar células de ambos orígenes en las zonas donde el ovino o caprino se pueda infectar, órganos como: bazo, riñón, cerebro, linfonodos o intestino son tejidos óptimos para el aislamiento vírico (García et al., 2019).

c) Inmunohistoquímica

Esta técnica se basa en el análisis post mortem y en el estudio de relación entre el antígeno y anticuerpos específicos para el virus (de Dios Soler, 2018). Esta técnica es utilizada para la detección de agentes virales, debido a que muchos virus tienen la capacidad de producir cambios patológicos característicos y cuerpos de inclusión (Ramsey, 2015). En el caso del VEF, la técnica se desarrolla con anticuerpos antipestivirus que se puede detectar en las biopsias cutáneas *in vivo* de los casos de la infección persistente de la enfermedad (García et al., 2019).

4.8.2 Diagnóstico indirecto

Para el diagnóstico indirecto, la muestra estándar es el suero sanguíneo. Si se encuentran anticuerpos lo más probable es que el animal sea positivo a los anticuerpos, pero negativo al virus, debido a la neutralización vírica por parte de los mismos. Existen 2 pruebas serológicas más utilizadas para la detección de anticuerpos, las cuales son: la prueba de ELISA y la prueba de Neutralización vírica (García et al., 2019).

d) Análisis inmunoenzimático (ELISA) de antígeno

La prueba de ELISA aplicada para el diagnóstico es el ELISA tipo sándwich. Este ensayo es una técnica serológica que se realiza por medio de una muestra de leucocitos sanguíneos (García et al., 2019). El fundamento del estudio es 'intercalar' un antígeno entre dos anticuerpos (Shah & Maghsoudlou, 2016). Observando el tipo de reacción que se produce entre el primer antígeno presente en un pocillo que contiene anticuerpos y posterior

reconocimiento por un segundo anticuerpo con ayuda de una anti inmunoglobulina unida a una enzima. Lo que forma el complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo (Li et al., 2013).

e) Prueba de ELISA para detección de anticuerpos

La técnica de ELISA competitivo es posible desarrollar a través de kits comerciales que tienen la capacidad de reconocer la presencia de antígenos anti-VEF (Garcia et al., 2019). Este tipo de ELISA es un proceso de competición en el cual inicialmente el anticuerpo primario se incuba con una sustancia no purificada y se une a cualquier antígeno presente en la muestra, cuanto más antígenos presente la muestra se formarán mayor número de complejos antígeno-anticuerpo. Luego de la primera reacción se añaden complejos antígeno-anticuerpo a una placa de 96 pocillos que está previamente recubierta con el antígeno. Cualquier anticuerpo no unido anteriormente se unirá a el antígeno en el pocillo. Por tal razón se denomina ELISA de competición entre los antígenos de la muestra y los pre-recubierto en el pozo para los anticuerpos (Shah & Maghsoudlou, 2016).

f) Test de ser neutralización vírica

Es una prueba que permite identificar y cuantificar la capacidad que tienen los anticuerpos séricos para inhibir o neutralizar el efecto citopático de una cepa específica (Reinhardt et al., 2001). Esta técnica de diagnóstico presenta una alta especificidad, se fundamenta en la capacidad que presentan los anticuerpos para neutralizar la citopatogenicidad in vitro (Edwards. 1990).

4.9 Tratamiento y prevención

La enfermedad de la frontera es considerada una patología de carácter exótico y no se encuentra sometida a programas oficiales de erradicación como es el caso de la enfermedad de la diarrea viral bovina, por lo tanto no existe un tratamiento específico, estrategias de vacunación o programa de inmunización para este tipo de enfermedad (Garcia et al., 2019).

Como parte de los métodos de control algunos autores señalan que es recomendable el control tanto de (DVB) en rumiantes menores como en rumiantes mayores, con el objetivo de asegurar que se minimice el riesgo de transmisión de *Pestivirus* entre las 2 especies (Carlsson & Belák, 1994).

4.10 Epidemiología

La enfermedad de la frontera es una patología de distribución mundial y endémica de los pequeños rumiantes como ovejas y cabras en cualquier edad (Oguzoglu et al., 2009). También son sensibles aquellos rumiantes silvestres que pueden infectarse e incluso llegar a mantener la enfermedad de forma endémica entre sus poblaciones (Becher et al., 2003). Esta patología constituye un desafío debido a su capacidad de atravesar la barrera transplacentaria durante la preñez causando abortos, reabsorciones embrionarias y graves problemas en la reproducción (Lanyon et al., 2014).

Los virus requieren de la predisposición de factores tanto del hospedador como del medio ambiente, para el desarrollo de la enfermedad. En el caso del virus de la enfermedad de la frontera (VEF) no se ha demostrado que factores como la edad, raza o sexo del individuo influyen directamente en la manifestación de los signos clínicos. Sin embargo, el entorno sí, debido a que el virus necesita de un abundante número de animales para permanecer activo mediante la transmisión horizontal a través del contacto entre animales sanos y animales con viremia aguda, primo infectados o de forma iatrogénica mediante el uso de vacunas contaminadas (García et al., 2019).

Aquellos caprinos sometidos a un sistema de producción intensiva en donde el número de animales es abundante son considerados como un espacio propicio para el desarrollo del virus; Por otro lado, los sistemas de producción extensivo también presentan un riesgo de exposición a animales primo infectados debido al vínculo que existe entre la convivencia, la disposición de recursos alimenticios y medioambientales (García et al., 2019).

Al ser una enfermedad de distribución mundial, los factores del medio ambiente también se relacionan con la ubicación geográfica, las cepas activas del virus se ubican en distintas áreas y la seroprevalencia de la enfermedad cambia según el tipo de producción animal y la ubicación geográfica (Kaiser et al., 2016). La enfermedad se ha reportado en Asia Occidental con una prevalencia del 15.9% en los caprinos de la región de Mosul en Irak (Hassan, 2020). En zonas comprendidas entre Europa y Asia, países como Turquía presentan una prevalencia del 2.0% para el antígeno de *Pestivirus* (Oguzoglu et al., 2009). En el este de China también se encontraron cepas estrechamente relacionadas con la cepa *Gifhorn* detectadas mediante análisis filogenético (W. Li et al., 2013).

En países latinoamericanos, sí se reportan estudios, como es el caso de México, que para el año 2017 demostró un alto índice de seropositividad contra *Pestivirus* con una prevalencia del 32,95% en la población caprina en el estado de Nuevo León (Rodríguez, 2017). En Perú, para el año 2017 en base a estudios realizados en caprinos de la provincia de Huaura, se comprueba que existe una seropositividad del 1,2% al virus de la diarrea viral bovina y virus de la enfermedad de la frontera (Benito, 2017).

En la provincia de Loja a pesar de que las cabras son una especie económicamente importante no se reportan análisis científicos que demuestren la búsqueda de anticuerpos contra este tipo de agentes infecciosos. El panorama epidemiológico a nivel nacional tampoco es diferente dado que en el Ecuador hasta la actualidad tampoco se reportan investigaciones sobre esta enfermedad. Además, el diagnóstico patológico sanitario se apoya en el análisis del estado sanitario, considerando parámetros reproductivos, índices de conversión alimenticia, número de servicios, entre otros factores, según lo propuesto por Hurtado, B (2019).

5. Material y Métodos

5.1 Area de estudio

La investigación se realizó en el cantón Zapotillo, parroquia Limones, situada en la parte occidental de la provincia de Loja, en el sur de Ecuador. El cantón Zapotillo, se sitúa entre los 400 y 900 m.s.n.m, con una superficie total de 121.157,79 hectáreas. Este cantón posee un clima tropical semiárido y tropical sabana; la temperatura máxima promedio asciende a entre 33 y 36 °C y la temperatura mínima promedio está entre 17 y 21 °C. La precipitación varía desde <300 mm hasta 1100 mm por año. Según los datos del plan de desarrollo y ordenamiento territorial del Cantón Zapotillo (PDOT, 2020).

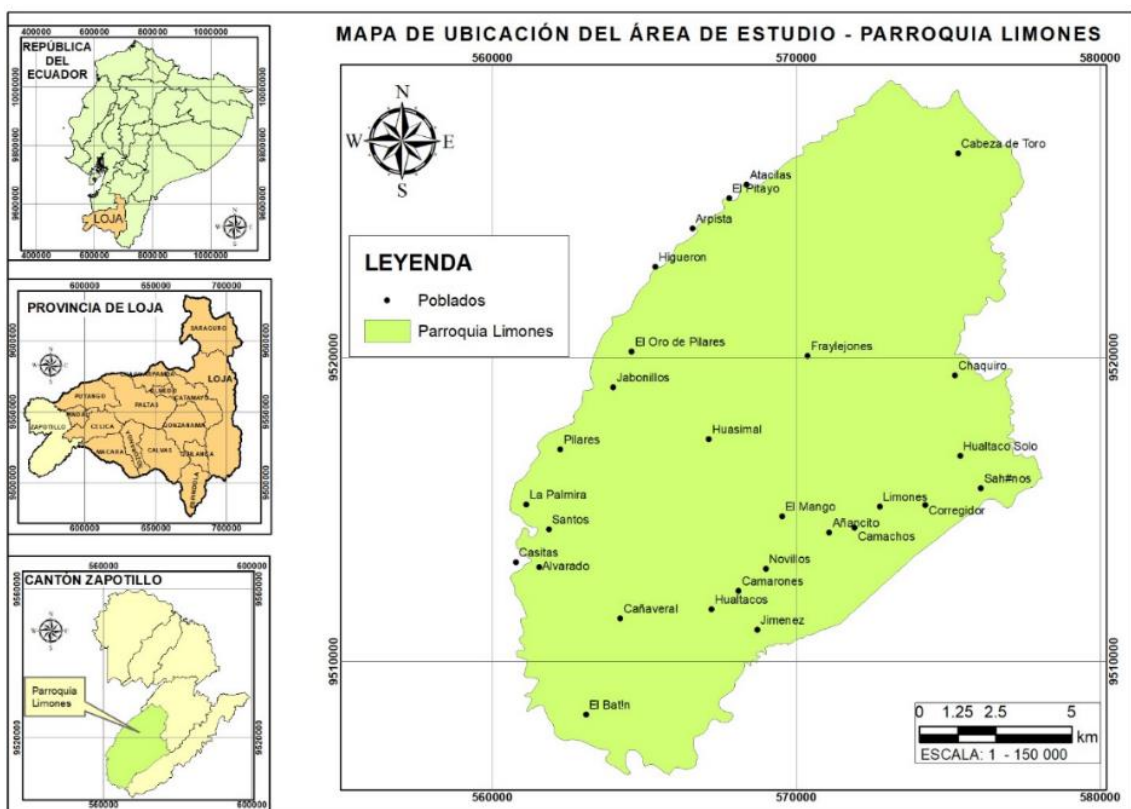


Figura 5. Mapa de la parroquia Limones y sus barrios.

Nota. Obtenido del Centro de Investigaciones Territoriales UNL (2023).

5.2 Procedimiento

5.2.1 Enfoque metodológico

Se adoptó un enfoque metodológico de naturaleza cuantitativa. Este enfoque se caracterizó por su estructuración en fases específicas, las cuales se destinaron a los procesos de recolección y análisis de datos, con la finalidad de someter a evaluación las hipótesis previamente formuladas (Sánchez. et al., 2021).

5.2.2 Diseño de la investigación

Este es un estudio de tipo observacional descriptivo y de corte transversal, para identificar la presencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) y además, determinar los factores asociados.

5.2.3 Tamaño de la muestra y tipo de muestreo

Se recolectaron muestras de sangre de cabras adultas (*Capra aegagrus hircus*) provenientes de 19 fincas ubicadas en los barrios de la parroquia Limones. En cada finca, se seleccionaron aleatoriamente 5 animales, totalizando así 92 cabras. Cabe destacar que este método de muestreo se llevó a cabo por conveniencia, dada la dificultad de acceso a los lugares de muestreo.

5.2.4 Técnicas

Toma de Muestras de Sangre y registro de la información

De cada cabra, se obtuvo una muestra de 5 ml de sangre de la vena yugular mediante el sistema de vacío y tubos vacutainer sin anticoagulante. Cada muestra fue identificada con un código asignado en la ficha de datos y transportada a una temperatura aproximada a 4 °C hasta el Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja.

Adicionalmente, se llevó a cabo una encuesta para recopilar información de los propietarios con el objetivo de conocer la presencia de alteraciones reproductivas en los rebaños, así como para registrar datos como la procedencia, el género y la edad de los animales.

Procesamiento de muestras

En el laboratorio, se sometieron las muestras a centrifugación a 1500 gravedades (g) durante 5 minutos con el fin de obtener los sueros sanguíneos. Estos sueros fueron transferidos a tubos individuales y almacenados a una temperatura de -20 °C en las instalaciones del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja. Permanecieron en esta condición hasta su procesamiento mediante la prueba de ELISA competitivo.

Fundamento de la técnica para diagnóstico serológico de la enfermedad de la frontera

El kit de diagnóstico está diseñado para la detección de anticuerpos específicos dirigidos contra la proteína p80 - 125 (también conocida como NSP2-3) del virus de enfermedad de la frontera por ELISA de competición. El principio de la técnica se basa en

la sensibilidad presente en la placa, cada uno de los pocillos esta sensibilizado con el antígeno p80 del virus de la enfermedad de la frontera (ID. Vet Innovative Diagnostic).

Las muestras y los controles fueron añadidos según el procedimiento (Anexo 3). Si los anticuerpos están presentes en el suero se forma el complejo antígeno – anticuerpo que enmascara los epítomos de la proteína p80. En base a lo observado fue posible interpretar lo siguiente: En ausencia de anticuerpos, aparece una coloración azul, que cambia a color amarillo cuando se adiciona la solución de parada y se puede interpretar como resultado negativo cuando el resultado de porcentaje de competición es mayor al 50%. A diferencia de cuando se confirma la presencia de anticuerpos, no existe coloración y se interpreta como positivo si el resultado del porcentaje de competición es menor o igual que el 40%. En casos especiales se puede considerar un resultado de interpretación dudosa cuando el porcentaje de competición es menor que el 40% o menor o igual que el 50% (Tabla 7).

5.2.5 Procesamiento y análisis de la información

La información obtenida del diagnóstico de laboratorio, así como la recogida en campo respecto a las variables consideradas como posibles factores asociados, fue organizada en tablas de frecuencia haciendo uso de estadística descriptiva. Mientras que se para la determinación de los factores asociados se había previsto emplear el estadístico chi cuadrado, considerando un valor de p de 0,05 como estadísticamente significativo.

5.2.6 Variables de estudio

Tabla 1. Caracterización de variables dependiente e independientes por individuo y aprisco.

Variables	Definición	Categorías	Unidades	Instrumento
Dependiente				
Resultado de ELISA competitivo para el virus de la enfermedad de la frontera (VEF)	Resultados de diagnóstico en función de la detección de anticuerpos específicos contra la proteína p80 del VEF	Positivo Negativo	Porcentaje (%)	Prueba ELISA competitivo
Independientes				
Individuales				
Edad	Tiempo que ha transcurrido un ser vivo contando desde su nacimiento	Grupo (Etario 1) 1 – 3 años Grupo (Etario 2) >3 años	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica

Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras	Hembra Macho	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica
Aprisco				
Procedencia	Lugar de origen de los individuos que forman parte del estudio.	Sectores	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica
Presentación de aborto	Presencia o no de aborto en los apriscos de estudio	Presencia (Si) Ausencia (No)	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica

5.2.7 Consideraciones éticas

Previo a obtener la autorización de los dueños para la toma de muestras y la recopilación de información, se proporcionó información detallada sobre el propósito de la investigación y el procedimiento a seguir con el material obtenido. La manipulación de los animales se llevó a cabo de manera técnica y respetando los principios del bienestar animal, con el objetivo de minimizar el estrés en las cabras. Todas estas acciones se basaron en las regulaciones para el cuidado y uso de animales en investigación, según el Código Orgánico del Ambiente (ROS N°983, Ecuador. Art. 142).

6. Resultados

6.1 Características de los Animales Estudiados

De todos los animales considerados para el estudio, la mayoría de ellos son hembras (91,3 %). El rango de edad (77,17 %) se encuentran en el grupo de edades comprendidas entre 1-3 años. Un porcentaje significativo de cabras proviene de la zona de Guasimal (23,91 %), seguido por Chaquiro y Cabeza de Toro, ambos con un (21,7 %). En relación con la incidencia de abortos en los apriscos, casi la totalidad (94,74 %) es decir 18 establecimientos, experimentaron este problema y solo 1 (5,26%) no lo presentado (véase Tabla 2).

Tabla 2. Características de los caprinos considerados para el estudio (n = 92)

Características	N	(%)
Sexo		
Hembra	84	91,30
Macho	8	8,70
Edad		
1 – 3 años	71	77,17
>3 AÑOS	21	22,82
Procedencia (Sectores)		
Guasimal	22	23,91
Cabeza de Toro	20	21,74
Chaquiro	20	21,74
Totomitos	15	16,30
Paletilla	5	5,43
Limonos	5	5,43
Las Torres	5	5,43

6.2 Frecuencia de la enfermedad de la frontera y factores asociados a la presencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera.

El 100% de los animales estudiados resultaron negativos a la presencia de anticuerpos circulantes contra el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) mediante el análisis de ELISA competitivo (Anexo 2). Al no existir casos positivos no fue posible realizar el análisis estadístico inicialmente propuesto con el fin de determinar factores asociados.

7. Discusión

En el presente estudio, el 100% (92/92) de los caprinos analizados fueron seronegativos en la prueba de detección de anticuerpos circulantes contra el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) mediante la técnica de ELISA competitivo. Estos resultados sugieren que en el cantón Zapotillo, provincia de Loja, no hay evidencia de la presencia del virus. Esta investigación representa el primer estudio serológico del Ecuador para la búsqueda de anticuerpos específicos contra el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) en pequeños rumiantes, por lo cual actualmente no es posible realizar una comparación de seroprevalencias con otras provincias del país debido a la ausencia de datos. Sin embargo, informes epidemiológicos de distintas partes del mundo han demostrado que el virus se distribuye ampliamente y su prevalencia puede variar de forma significativa .

De manera específica el resultado seronegativo del presente estudio es interesante cuando se compara con los datos obtenidos en países colindantes como es el caso de un reporte en Lima, Perú donde existe una seropositividad baja del 1,2 % (9/754) de caprinos con anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y el virus de la enfermedad de la frontera (VEF). Mediante la técnica de laboratorio denominada neutralización viral y una estrategia metodológica empleada que no corresponde a un tamaño probabilístico puesto que las muestras formaban parte de un programa de monitoreo de brucelosis a cargo del Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú.

Es importante que para la evaluación de conclusiones del estudio actual con lo reportado en Perú en el año 2017, se consideren los aspectos de manejo en la producción, dado que la mayor parte de los sistemas de producción caprina adaptados en el Ecuador corresponden al manejo de tipo extensivo, lo cual es similar en Perú (Aguirre et al., 2022), Donde la nutrición de los caprinos gira entorno al aprovechamiento de alimentos disponibles en el medio al mismo tiempo que comparten espacio con especies como bovinos y ovinos, lo cual puede constituir un riesgo de transmisibilidad de agentes patógenos (Nagati.S et al., 2016).

El riesgo latente de transmitibilidad de agentes patógenos toma relevancia cuando se conoce que existen casos positivos del virus de la enfermedad de la frontera en territorio peruano, dado la cercanía fronteriza de ambas naciones representa un grave riesgo de introducción y propagación de enfermedades de origen infeccioso. Por lo que, controlar el flujo comercial y verificar el estatus sanitario de los animales antes de su ingreso a territorio

ecuatoriano es necesario para prevenir la diseminación de enfermedades, como la enfermedad de la frontera, que podrían terminar afectando la producción caprina y la salud pública en el Ecuador.

Paralelamente que se aborda la importancia de controlar el flujo comercial de caprinos entre Perú y Ecuador, es esencial ampliar nuestro enfoque a otras áreas geográficas como es el caso de Uruguay, donde un estudio realizado por Dorsch et al., (2022). Reportó un análisis completo de 100 casos de aborto analizando muestras de fetos y/o placentas correspondientes a ovinos mediante técnicas patológicas, moleculares, bacteriológicas y serológicas. Logrando la identificación de distintos agentes patógenos entre ellos *Pestivirus* causales de abortos, como el virus de la diarrea viral bovina, sin embargo no se identificó el virus de la enfermedad de la frontera en ninguno de los casos de abortos analizados.

Desde el punto de vista epidemiológico, en Sudamérica no se han registrado casos clínicos significativos en la especie caprina y tampoco se ha comprobado la asociación serológica directa entre los signos clínicos de aborto y el virus. Sin embargo en la especie ovina sí existen reportes de la enfermedad, siendo que en Chile, Tadich et al., (1998) reportó una seroprevalencia del 23% (5/22) mediante la técnica de ELISA captura de anticuerpos monoclonales dobles. En Perú, Alvarez et al., (2002) reportó que el 10.6% (7/45) de ovinos presentaron anticuerpos contra (VEF), bajo un sistema de crianza mixto en comunidades campesinas. En mismo territorio peruano, más tarde Llancares et al., (2012) reportó un 4,9% (94/330) de ovinos reproductores con anticuerpos contra (VEF).

En São Paulo, Brasil, Gaeta et al. (2016) analizaron 268 muestras de suero de ovejas con antecedentes de aborto, encontrando sólo dos (0,75%) individuos positivos para anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera a través de la prueba de seroneutralización viral (SNV).

En el otro lado del mundo, especialmente en países de Medio Oriente donde existe una producción caprina a gran escala, se han llevado a cabo investigaciones sobre la seroprevalencia de *Pestivirus* en ovinos y caprinos. En la ciudad de Mosul, Irak, Dhahir et al., (2019) reportó una seropositividad del 16% (16/100) de animales con anticuerpos circulantes contra el VEF. Además, reportaron una seroprevalencia mayor del 47% (124/264) en ovinos. La presencia del virus en estas especies obedece, de acuerdo a los autores, a la falta de vacunación contra el virus. Asimismo, en la región de Rafha, ubicada

en el norte de Arabia Saudí (Kamil Saeed, 2020), un porcentaje considerable de los caprinos han estado expuestos al *Pestivirus*, ya que se reportó una seroprevalencia del 18,4%.

En resumen, la alta seroprevalencia de *Pestivirus* en caprinos, y los datos obtenidos en países de Medio Oriente resaltan la presencia extendida del virus en esta especie.

La diferencia significativa en los resultados de seroprevalencia entre diferentes partes del mundo puede deberse a múltiples factores, como los sistemas de manejo caprino, la presencia de vectores oportunistas, y la interacción con otras especies portadoras del virus. Estos estudios de tipo serológico son de vital importancia para comprender la dinámica de la infección y diseñar estrategias efectivas de control y prevención. Sin embargo, el empleo de técnicas más sensibles para el diagnóstico e identificación del agente también son importantes como es el caso del empleo de la técnica de reacción en cadena de polimerasa.

8. Conclusiones

- La búsqueda de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera en cabras del cantón Zapotillo reveló una ausencia total de animales seropositivos a través del método de ELISA competitivo, por lo que no hay evidencia de circulación del VEF
- No fue posible realizar el análisis de factores asociados a la enfermedad con las variables sexo, raza, edad y procedencia de los animales, debido a que ningún caprino de los que formaron parte del estudio resultó positivo en la búsqueda de anticuerpos.

9. Recomendaciones

- Se sugiere extender el alcance de la investigación a todos los cantones de la provincia de Loja y a nivel nacional, con el propósito de enriquecer la comprensión epidemiológica de la enfermedad y facilitar la implementación de estrategias preventivas y de control sanitario.
- Además, se recomienda colaborar con profesionales médicos veterinarios autorizados para llevar a cabo una vigilancia integral de la enfermedad de la frontera y otros patógenos del género *Pestivirus* que afectan a diversas especies animales.

10. Bibliografía

- Abdel, A., Goyal, S., Chander, Y., Abdel-Moneim, A., Tamam, S., & Madbouly, H. (2013). Isolation and molecular characterisation of a *Pestivirus* from goats in Egypt. *Acta Veterinaria Hungarica*, 61(2), 270–280. <https://doi.org/10.1556/avet.2013.007>
- Aguirre, L., Albito, O., Abad-Guamán, R., & Maza, T. (2022). Determinación de la curva de crecimiento en la cabra “Chusca Lojana” del bosque seco del Sur del Ecuador. *CEDAMAZ*, 12(2). <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v12i2.1216>
- Aguirre, L., Maza, T., Quezada, P., Albito, O., Flores, A., Camacho, O., Martinez, A., Consortium, B., & Delgado, J. (2020). Genetic Characterization of the “Chusca Lojana”, a Creole Goat Reared in Ecuador, and Its Relationship with Other Goat Breeds. *Animals*, 10(6), 1026. <https://doi.org/10.3390/ani10061026>
- Alvarez., S., Rivera G., Pezo C., & García V., W. (2013). Detección de anticuerpos contra *Pestivirus* en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 13(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v13i1.1705>
- Andrew MQ (Ed.), *Virus Taxonomy* (pp. 1003–1020). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384684-6.00086-0>
- Archambault, D., Beliveau, C., Couture, Y., & Carman, S. (2000). Clinical response and immunomodulation following experimental challenge of calves with type 2 noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Research*, 31(2), 215–227. <https://doi.org/10.1051/vetres:2000117>
- Barkema, H., Bartels, C. J., van Wuijckhuise, L., Hesselink, J. W., Holzhauer, M., Weber, M. F., Franken, P., Kock, P. A., Brusckhe, C. J., & Zimmer, G. M. (2001). [Outbreak of bovine virus diarrhea on Dutch dairy farms induced by a bovine herpesvirus 1 marker vaccine contaminated with bovine virus diarrhea virus type 2]. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*, 126(6), 158–165.
- Becher, P., Avalos Ramirez, R., Orlich, M., Cedillo Rosales, S., König, M., Schweizer, M., Stalder, H., Schirrmeier, H., & Thiel, H.-J. (2003). Genetic and antigenic characterization of novel *Pestivirus* genotypes: implications for classification. *Virology*, 311(1), 96–104. [https://doi.org/10.1016/S0042-6822\(03\)00192-2](https://doi.org/10.1016/S0042-6822(03)00192-2)
- Becher, P., Fischer, N., Grundhoff, A., Stalder, H., Schweizer, M., & Postel, A. (2014). Complete Genome Sequence of Bovine *Pestivirus* Strain PG-2, a Second Member of the

Tentative *Pestivirus* Species Giraffe. Genome Announcements, 2(3).
<https://doi.org/10.1128/genomea.00376-14>

- Behrens, S.-E., Grassmann, C. W., Thiel, H.-J., Meyers, G., & Tautz, N. (1998). Characterization of an Autonomous Subgenomic *Pestivirus* RNA Replicon. *Journal of Virology*, 72(3), 2364–2372. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.3.2364-2372.1998>
- Benito Diana. (2017). Detección de anticuerpos contra diarrea viral bovina y enfermedad de la frontera en cabras de cuatro provincias del departamento de Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos .
- Berriatua, E., Barandika, J., Aduriz, G., Atxaerandio, R., Garrido, J., & García-Pérez, A. L. (2004). Age-specific seroprevalence of Border disease virus and presence of persistently infected sheep in Basque dairy-sheep flocks. *The Veterinary Journal*, 168(3), 336–342. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.11.005>
- Boehringer. I. BVD SERO Comprender el virus. (2010). Obtenido de: https://www.bvdzero.es/sites/default/files/2021-03/1_bvdzero_entendiendo_el_virus.pdf.
- Brodersen, Bruce W, & Kelling Clayton L. (1999). Alteration of Leukocyte Populations in Calves Concurrently Infected with Bovine Respiratory Syncytial Virus and Bovine Viral Diarrhea Virus. *Viral Immunology*, 12(4), 323–334. <https://doi.org/10.1089/vim.1999.12.323>
- Brusckke, C. J. M., Haghparast, A., Hoek, A., Rutten, V. P. M. G., Wentink, G. H., van Rijn, P. A., & van Oirschot, J. T. (1998). The immune response of cattle, persistently infected with noncytopathic BVDV, after superinfection with antigenically semi-homologous cytopathic BVDV. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 62(1), 37–50. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(97\)00165-7](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(97)00165-7)
- Cai, B., Bai, Q., Chi, X., Goraya, M. U., Wang, L., Wang, S., Chen, B., & Chen, J.-L. (2017). Infection with Classical Swine Fever Virus Induces Expression of Type III Interferons and Activates Innate Immune Signaling. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02558>
- Campos-Cuello, T., Coroas-González, L., & Martínez-Rodríguez, L. (2016). Detección mediante RT-PCR en tiempo real del virus vacunal en cerdos inmunizados con la vacuna cubana contra la peste porcina clásica. *VacciMonitor*, 25(2), 37-42.
- Carlsson, U., & Belák, K. (1994). Border Disease Virus Transmitted to Sheep and Cattle by a Persistently Infected Ewe: Epidemiology and Control. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 35(1), 79–88. <https://doi.org/10.1186/BF03548357>

- Carruthers, V. B., Cotter, P. A., & Kumamoto, C. A. (2007). Microbial Pathogenesis: Mechanisms of Infectious Disease. *Cell Host & Microbe*, 2(4), 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2007.09.007>
- Castel, J. M., Ruiz, F. A., Mena, Y., & Sánchez-Rodríguez, M. (2010). Present situation and future perspectives for goat production systems in Spain. *Small Ruminant Research*, 89(2–3), 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.045>
- Clarke Penny, T. K. (2009). Apoptosis en modelos animales de enfermedad inducida por virus. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2071>
- Clarke, P., de Biasi, R. L., Goody, R., Hoyt, C. C., Richardson-Burns, S., & Tyler, K. L. (2005). Mechanisms of Reovirus-Induced Cell Death and Tissue Injury: Role of Apoptosis and Virus-Induced Perturbation of Host-Cell Signaling and Transcription Factor Activation. *Viral Immunology*, 18(1), 89–115. <https://doi.org/10.1089/vim.2005.18.89>
- Clemens, M. (2006). Epstein-Barr virus: Inhibition of apoptosis as a mechanism of cell transformation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 38(2), 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.09.014>
- De Dios Soler, M. A. H. Gabriela. (2018). Guía de inmunohistoquímica para técnicos / inmunohistochemist ry guide for technicians. Extraído de: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-994427>
- Depner, K., Bauner, K., & Liess, B. (1992). Thermal and PH stability of pestiviruses. *Revue Scientifique et Technique de l’oie*, 11(3), 885–893. <https://doi.org/10.20506/rst.11.3.638>
- Dhahir, H. S., Talb, A.-O. Q., & Asim, M. H. (2019). Preliminary Study of Seroprevalence of Border Disease Virus (BDV) Among Sheep and Goats in Mosul City, Iraq. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 7(7). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.7.566.569>
- Díaz de Arce, Heidy y Pérez, L.J. (2008). Detección de *Pestivirus* mediante transcripción inversa-amplificación de la cadena de polimerasa de la región 5' de adnc no traducida. *Revista de Salud Animal*, 30 (3), 146-151. Recuperado el 15 de enero de 2024 de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253570X2008000300002&lng=en&tlng=en.
- Dincel, G. C., & Kul, O. (2015). Increased Expressions of ADAMTS-13, Neuronal Nitric Oxide Synthase, and Neurofilament Correlate with Severity of Neuropathology in Border Disease Virus-Infected Small Ruminants. *PLOS ONE*, 10(3), e0120005. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120005>

- Dorsch, M. A., Francia, M. E., Tana, L. R., González, F. C., Cabrera, A., Calleros, L., Sanguinetti, M., Barcellos, M., Zarantonelli, L., Ciuffo, C., Maya, L., Castells, M., Mirazo, S., da Silva Silveira, C., Rabaza, A., Caffarena, R. D., Doncel Díaz, B., Aráoz, V., Matto, C., ... Giannitti, F. (2022). Diagnostic Investigation of 100 Cases of Abortion in Sheep in Uruguay: 2015–2021. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.904786>
- Dubois, E., Russo, P., Prigent, M., & Thiéry, R. (2008). Genetic characterization of ovine pestiviruses isolated in France, between 1985 and 2006. *Veterinary Microbiology*, 130(1–2), 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.01.002>
- Edwards, S. (1990). The diagnosis of bovine virus diarrhoea-mucosal disease in cattle. *Revue Scientifique et Technique de l'oie*, 9(1), 115–130. <https://doi.org/10.20506/rst.9.1.486>
- Ellis, J. A., West, K. H., Cortese, V. S., Myers, S. L., Carman, S., Martin, K. M., & Haines, D. M. (1998). Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 62(3), 161–169.
- Ellis, J., West, K., Cortese, V., Konoby, C., & Weigel, D. (2001). Effect of maternal antibodies on induction and persistence of vaccine-induced immune responses against bovine viral diarrhoea virus type II in young calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(3), 351–356. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.219.351>
- Elsheikh, A., Braun, L. J., Mansour, S. M. G., Orabi, A., Alqahtani, A. S., Benfield, D. A., & Chase, C. C. L. (2019). The effect of human interferon alpha on replication of different bovine viral diarrhoea virus strains. *Acta Virologica*, 63(03), 261–269. https://doi.org/10.4149/av_2019_303
- Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, Yao JDC, et al. 2006. Real Time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol. Rev* 19: 165-256.
- Fensterl, V., Chattopadhyay, S., & Sen, G. C. (2015). No Love Lost Between Viruses and Interferons. *Annual Review of Virology*, 2(1), 549–572. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055249>

- Gaeta NC, Rizzo H, Meira Jr EBS, Pituco EM, Okuda LH, Ribeira CP, Gregory L. (2016). Detecção de anticorpos anti-pestivírus em ovinos com histórico de problema reprodutivo no Estado de São Paulo. *Rev Bras Med Vet* 38:153–156.
- Garcia, Zafra Rafael, Cabezón Oscar, Colom Andreu, Espunyes Johan, & Fernandez Xavier. (2019). *Enfermedades infectocontagiosas en rumiantes* (1st ed.).
- Giammarioli, M., La Rocca, S. A., Steinbach, F., Casciari, C., & De Mia, G. M. (2011). Genetic and antigenic typing of border disease virus (BDV) isolates from Italy reveals the existence of a novel BDV group. *Veterinary Microbiology*, 147(3–4), 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.06.027>
- González. J. (2010). Técnicas virológicas y virología clínica. In *Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico* (pp. 501–510). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-84-458-2029-2.50036-7>
- Hassan, S. D. (2020). Prevalence of border disease virus in sheep and goats in Mosul, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(2), 257–262. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2020.126758.1372>
- Hong, T., Yang, Y., Wang, P., Zhu, G., & Zhu, C. (2023). Pestiviruses infection: Interferon-virus mutual regulation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1146394>
- Howard, C. J., Clarke, M. C., & Brownlie, J. (1989). Protection against respiratory infection with bovine virus diarrhoea virus by passively acquired antibody. *Veterinary Microbiology*, 19(3), 195–203. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(89\)90066-7](https://doi.org/10.1016/0378-1135(89)90066-7)
- Hulst, M. M., Panoto, F. E., Hoekman, A., van Gennip, H. G. P., & Moormann, R. J. M. (1998). Inactivation of the mase Activity of Glycoprotein E^{ms} of Classical Swine Fever Virus Results in a Cytopathogenic Virus. *Journal of Virology*, 72(1), 151–157. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.1.151-157.1998>
- Ian. K Ramsey, B. J. T. (2015). *Manual de Enfermedades Infecciosas en pequeños animales (LEXUS)*.
- Ignasi. M, Rosellb. C Rosa, Gregorio Mentaberrea, Casasa Encarna, Cabezóna Oscar, Ramón Jorge, Olveraa López, Velardea Rose, & Lavína Santiago. (2007). *EL VIRUS DE La Enfermedad de la Frontera en el Rebeco Pirenaico*. Servei d'Ecopatologia de Fauna Salvatge, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona.
- INEC. (2022). Instituto Nacional de Estadísticas y Censos .
- John M. King. (2013). *Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Cornell*.

- Kaiser, V., Nebel, L., Schüpbach-Regula, G., Zanoni, R. G., & Schweizer, M. (2016). Influence of border disease virus (BDV) on serological surveillance within the bovine virus diarrhoea (BVD) eradication program in Switzerland. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0932-0>
- Kamil Saeed, I. (2020). Border disease of sheep and goats in Saudi Arabia. *Indian Journal of Microbiology Research*, 7(1), 95–98. <https://doi.org/10.18231/j.ijmr.2020.020>
- Kenneth, Murphy, & Casey Weaver. (2017). *Immunology*.
- Kittelberger, & Pigott. (2008). The use of pestivirus antigen ELISA currently available for the detection of hairy shaker disease/border disease virus in sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, 56(6), 343–344. <https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36858>
- Krey, T., Bontems, F., Vonrhein, C., Vaney, M.-C., Bricogne, G., Rümenapf, T., & Rey, F. A. (2012). Crystal Structure of the *Pestivirus* Envelope Glycoprotein Erns and Mechanistic Analysis of Its Ribonuclease Activity. *Structure*, 20(5), 862–873. <https://doi.org/10.1016/j.str.2012.03.018>
- Lanyon, S. R., Hill, F. I., Reichel, M. P., & Brownlie, J. (2014). Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *The Veterinary Journal*, 199(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.024>
- Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., & Smith, D. B. (2018). Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D708–D717. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx932>
- Letesson, Douart, A., Pastoret, P. P., Lambot, M., & Joris, E. (1997). Characterization of the immune response of cattle against non-cytopathic and cytopathic biotypes of bovine viral diarrhoea virus. *Journal of General Virology*, 78(5), 1041–1047. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-78-5-1041>
- Li, W., Mao, L., Zhao, Y., Sun, Y., He, K., & Jiang, J. (2013). Detection of border disease virus (BDV) in goat herds suffering diarrhoea in eastern China. *Virology Journal*, 10(1), 80. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-80>
- Li, X., Wang, L., Zhao, D., Zhang, G., Luo, J., Deng, R., & Yang, Y. (2011). Identification of host cell binding peptide from an overlapping peptide library for inhibition of classical swine fever virus infection. *Virus Genes*, 43(1), 33–40. <https://doi.org/10.1007/s11262-011-0595-7>

- Liang, Delin Sainz, Ignacio Fernández, Ansari, I. H., Laura H.V.G., Vassilev, V., & Donis, R. (2003). La glicoproteína E2 de la envoltura es un determinante del tropismo del cultivo celular en *Pestivirus* de rumiantes. *Journal of General Virology*, Volumen 84(5), 1269–1274.
- Liang, R., van den Hurk, J. V., Babiuk, L. A., & van Drunen Littel-van den Hurk, S. (2006). Priming with DNA encoding E2 and boosting with E2 protein formulated with cpg oligodeoxynucleotides induces strong immune responses and protection from Bovine viral diarrhea virus in cattle. *Journal of General Virology*, 87(10), 2971–2982. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81737-0>
- Llancares A., N., Rivera G., H., Arainga R., M., & Falcón P., N. (2012). Seroprevalencia de *Pestivirus* de rumiantes en ovinos reproductores de una empresa de la sierra central del Perú. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 23(4). <https://doi.org/10.15381/rivep.v23i4.971>
- Loken, T., Krogsrud, J., & Bjerås, I. (1991). Outbreaks of border disease in goats induced by a *Pestivirus*-contaminated orf vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. *Journal of Comparative Pathology*, 104(2), 195–209. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(08\)80103-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(08)80103-X)
- Ma, S., Mao, Q., Yi, L., Zhao, M., & Chen, J. (2019). Apoptosis, Autophagy, and Pyroptosis: Immune Escape Strategies for Persistent Infection and Pathogenesis of Classical Swine Fever Virus. *Pathogens*, 8(4), 239. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040239>
- Maclachlan N., James Edward, & J. Dubovi. (2010). *Virología veterinaria de Fenner*.
- Maldonado, N., Fredericksen, F., Espiñeira, C., Toledo, C., Oltra, J., la Barra, V. De, Fernandez, C., Salvador, J., Villalba, M., & Olavarría, V. H. (2020). BVDV-1 induces interferon-beta gene expression through a pathway involving IRF1, IRF7, and NF- κ b activation. *Molecular Immunology*, 128, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.09.018>
- Meyer, C., von Freyburg, M., Elbers, K., & Meyers, G. (2002). Recovery of Virulent and rnaase-Negative Attenuated Type 2 Bovine Viral Diarrhea Viruses from Infectious cDNA Clones. *Journal of Virology*, 76(16), 8494–8503. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.16.8494-8503.2002>
- Möller, J. R., McLenigan, M., Potts, B. J., & Quarles, R. H. (1993). Effects of Congenital Infection of Sheep with Border Disease Virus on Myelin Proteins. *Journal of Neurochemistry*, 61(5), 1808–1812. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb09820.x>

- Mordstein, M., Neugebauer, E., Ditt, V., Jessen, B., Rieger, T., Falcone, V., Sorgeloos, F., Ehl, S., Mayer, D., Kochs, G., Schwemmler, M., Günther, S., Drosten, C., Michiels, T., & Staeheli, P. (2010). Lambda Interferon Renders Epithelial Cells of the Respiratory and Gastrointestinal Tracts Resistant to Viral Infections. *Journal of Virology*, 84(11), 5670–5677. <https://doi.org/10.1128/JVI.00272-10>
- Nagati, S., Khamis, Hassan, & Safaa. (2016). Diagnosis of Brucella Infection in Sheep and Goat and Evaluation of the associated Practices in Animal Contacts. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*, 4(5), 95–101. <https://doi.org/10.12691/ajidm-4-5-1>
- Nettleton, P., & Entrican, G. (1995). Ruminant pestiviruses. *British Veterinary Journal*, 151(6), 615–642. [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(95\)80145-6](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(95)80145-6)
- Nettleton, P., Gilray, J. A., Russo, P., & Dliissi, E. (1998). Border disease of sheep and goats. *Veterinary Research*, 29(3–4), 327–340.
- Nettleton, P., & Willoughby, K. (2007). DISEASES OF SHEEP (B. P. Cb. Fib. D. H. C. I.D. Aitken OBE, Ed.).
- Nordén, R., Nyström, K., Aurelius, J., Brisslert, M., & Olofsson, S. (2013). Virus-induced appearance of the selectin ligand slex in herpes simplex virus type 1-infected T-cells: Involvement of host and viral factors. *Glycobiology*, 23(3), 310–321. <https://doi.org/10.1093/glycob/cws160>
- Oguzoglu, T. C., Tan, M. T., Toplu, N., Demir, A. B., Bilge-Dagalp, S., Karaoglu, T., Ozkul, A., Alkan, F., Burgu, I., Haas, L., & Greiser-Wilke, I. (2009). Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: A new BDV subgroup? *Veterinary Microbiology*, 135(3–4), 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.085>
- Oguzoglu, T. (2012). A Review of Border Disease Virus Infection in Ruminants: Molecular Characterization, Pathogenesis, Diagnosis and Control.
- OIE. (2018). 3.07.01_Enfermedad_frontera. Manual Terrestre. Obtenido de: https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.07.01_Enfermedad_frontera.pdf
- Onoguchi, K., Yoneyama, M., Takemura, A., Akira, S., Taniguchi, T., Namiki, H., & Fujita, T. (2007). Viral Infections Activate Types I and III Interferon Genes through a Common Mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 282(10), 7576–7581. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608618200>

- Pankraz. A, Thiel, H.-J., & Becher, P. (2005). Essential and Nonessential Elements in the 3' Nontranslated Region of Bovine Viral Diarrhea Virus. *Journal of Virology*, 79(14), 9119–9127. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.14.9119-9127.2005>
- Predrera M, P.J, S. C., M.A Risalde, V. Molina, E. Ruiz Villamor, & J.C Gomez Vilamandos. (2008). Respuesta inmunitaria en la Diarrea Viral Bovina. In *anales* (Vol. 21, Issue 1).
- Quintana, M. E., Barone, L. J., Trotta, M. V., Turco, C., Mansilla, F. C., Capozzo, A. V., & Cardoso, N. P. (2020). In-vivo Activity of IFN- λ and IFN- α Against Bovine-Viral-Diarrhea Virus in a Mouse Model. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00045>
- Raftery, Stevenson, & Nigel J. (2017). Advances in anti-viral immune defence: revealing the importance of the IFN JAK/STAT pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(14), 2525–2535. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2520-2>
- Reinhardt. G, Carrasco. L, Tadich. L, & 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). *Archivos de Medicina Veterinaria*, 33(2). <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2001000200006>
- Ridpath. J. (2015). Emerging pestiviruses infecting domestic and wildlife hosts. *Animal Health Research Reviews*, 16(1), 55–59. <https://doi.org/10.1017/S1466252315000067>
- Riedel, C., Lamp, B., Heimann, M., König, M., Blome, S., Moennig, V., Schüttler, C., Thiel, H.-J., & Rümenapf, T. (2012). The Core Protein of Classical Swine Fever Virus Is Dispensable for Virus Propagation In Vitro. *Plos Pathogens*, 8(3), e1002598. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002598>
- Righi, C., Petrini, S., Pierini, I., Giammarioli, M., & De Mia, G. M. (2021). Global distribution and genetic heterogeneity of border disease virus. *Viruses*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/v13060950>
- Rodríguez. G, Alejandro. J. (2017). Detección serológica, molecular y factores de riesgo de pestivirus en hatos caprinos y ovinos del noreste de México. Extraído de: <http://eprints.uanl.mx/14355/>
- Romeral. M. (2015, November 5). Border, Virus de la enfermedad de ..., (Flaviviridae, Pestivirus) (Border disease virus) - Diagnóstico molecular (RT-PCR). Extraído de: <https://acortar.link/RdIHKm>

- Rosamilia, A., Grattarola, C., Caruso, C., Peletto, S., Gobbi, E., Tarello, V., Caroggio, P., Dondo, A., Masoero, L., & Acutis, P. L. (2014). Detection of border disease virus (BDV) genotype 3 in Italian goat herds. *The Veterinary Journal*, 199(3), 446–450. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.12.006>
- Rumenapf, T., Stark, R., Heimann, M., & Thiel, H.-J. (1998). N-Terminal Protease of Pestiviruses: Identification of Putative Catalytic Residues by Site-Directed Mutagenesis. *Journal of Virology*, 72(3), 2544–2547. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.3.2544-2547.1998>
- Rumenapf, T., Unger, G., Strauss, J. H., & Thiel, H. J. (1993). Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. *Journal of Virology*, 67(6), 3288–3294. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.6.3288-3294.1993>
- Sánchez, M., Arturo, A., & Murillo, G. (2021). Enfoques metodológicos en la investigación histórica: cuantitativa, cualitativa y comparativa. *Debates Por La Historia*, 9(2), 147–181. <https://doi.org/10.54167/debates-por-la-historia.v9i2.792>
- Sashi, B. Mohanty, Sukanta, K. D. (1983). *Virología Veterinaria* (Mexico D. F).
- Schweizer, M., & Peterhans, E. (2014). Pestiviruses. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2(1), 141–163. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114209>
- Shah, K., & Maghsoudlou, P. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *British Journal of Hospital Medicine*, 77(7), C98–C101. <https://doi.org/10.12968/hmed.2016.77.7.C98>
- Shannon, A. D., Orlich, M., Thiel, H. J., Becher, P., Horner, G., & Matthias, K. (1997). Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *Journal of General Virology*, 78(6), 1357–1366. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-78-6-1357>
- Siddell, S. G., Smith, D. B., Adriaenssens, E., Alfenas-Zerbini, P., Dutilh, B. E., Garcia, M. L., Junglen, S., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Lambert, A. J., Lefkowitz, E. J., Łobocka, M., Mushegian, A. R., Oksanen, H. M., Robertson, D. L., Rubino, L., Sabanadzovic, S., Simmonds, P., Suzuki, N., ... Zerbini, F. M. (2023). Virus taxonomy and the role of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Journal of General Virology*, 104(5). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001840>
- Simmonds, P., Becher, P., Bukh, J., Gould, E. A., Meyers, G., Monath, T., Muerhoff, S., Pletnev, A., Rico-Hesse, R., Smith, D. B., & Stapleton, J. T. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae. *Journal of General Virology*, 98(1), 2–3. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000672>

- Sommereyns, C., Paul, S., Staeheli, P., & Michiels, T. (2008). IFN-Lambda (IFN- λ) Is Expressed in a Tissue-Dependent Fashion and Primarily Acts on Epithelial Cells In Vivo. *Plos Pathogens*, 4(3), e1000017. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000017>
 - Tadich, Nettleton, P. F., Morgan, K. L., Hodgson, A., Macaulay, R., Reinhardt, G., & Riedemann, S. (1998). Seroprevalencia de Border Disease en 22 ovejerías del sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 30(2). <https://doi.org/10.4067/s0301-732x1998000200021>
 - Tajima, M., Frey, H.-R., Yamato, O., Maede, Y., Moennig, V., Scholz, H., & Greiser-Wilke, I. (2001). Prevalence of genotypes 1 and 2 of bovine viral diarrhoea virus in Lower Saxony, Germany. *Virus Research*, 76(1), 31–42. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(01\)00244-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(01)00244-1)
 - Tautz, N., Tews, B. A., & Meyers, G. (2015). The Molecular Biology of Pestiviruses (pp. 47–160). <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2015.03.002>
 - Tizard, I. (2018). INMUNOLOGIA VETERINARIA .
 - Toplu, N., Oğuzoğlu, T. Ç., Epikmen, E. T., & Aydoğan, A. (2011). Neuropathologic Study of Border Disease Virus in Naturally Infected Fetal and Neonatal Small Ruminants and Its Association With Apoptosis. *Veterinary Pathology*, 48(3), 576–583. <https://doi.org/10.1177/0300985810371309>
 - Torleiv, L. (1995). Border Disease in Sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 579–595. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30468-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30468-0)
 - Uriel, & Moreno Nieves. (2020). Respuesta inmunológica a virus.
 - Valdazo, González, B., Álvarez-Martínez, M., & Sandvik, T. (2007). Genetic and antigenic typing of border disease virus isolates in sheep from the Iberian Peninsula. *The Veterinary Journal*, 174(2), 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.10.002>
 - Vilcek, S., & Belák, S. (1996). Genetic identification of pestivirus strain Frijters as a border disease virus from pigs. *Journal of Virological Methods*, 60(1), 103–108. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(96\)02031-9](https://doi.org/10.1016/0166-0934(96)02031-9)
 - Wang, F.-I., Deng, M.-C., Huang, Y.-L., & Chang, C.-Y. (2015). Structures and Functions of Pestivirus Glycoproteins: Not Simply Surface Matters. *Viruses*, 7(7), 3506–3529. <https://doi.org/10.3390/v7072783>
- Zhang, L., Qin, Y., & Chen, M. (2018). Viral strategies for triggering and manipulating mitophagy. *Autophagy*, 14(10), 1665–1673. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1466014>

11. Anexos

Anexo 1. Densidades optimas por muestra individual. Las celdas amarillas corresponden al grupo control negativo y las celdas azules al grupo control positivo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,595	2,511	2,606	2,465	2,685	2,462	2,542	2,444	2,090	2,105	2,578	2,510
B	2,480	2,335	2,394	2,021	2,366	2,167	2,098	2,173	2,329	2,190	2,249	2,447
C	0,150	2,322	1,756	2,160	2,391	2,210	2,082	2,578	2,287	2,261	2,479	2,438
D	0,113	2,066	2,157	1,905	1,559	2,422	2,017	2,268	2,314	1,988	2,259	2,212
E	2,273	2,193	2,063	1,980	1,816	2,373	2,132	2,282	2,166	2,281	2,123	2,168
F	2,302	2,216	2,221	1,773	2,380	2,203	1,845	2,076	2,145	2,356	2,140	2,099
G	2,142	2,146	2,504	2,309	2,227	2,258	2,408	2,518	2,291	2,305	2,254	2,440
H	2,193	2,408	2,025	2,456	2,216	2,199	2,481	2,436	1,923	2,225	2,352	2,454

Interpretación: La densidad optima el control negativo es válido, si el promedio de ambos valores es mayor que 0,7. Mientras que la densidad optima del control positivo es válido si el promedio es menor que 0,3.

Anexo 2. Cálculo del porcentaje de competición (S/N%) por muestra individual. Las celdas amarillas corresponden al grupo control negativo y las celdas azules al grupo control positivo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	102,27	98,96	102,70	97,14	105,81	97,02	100,18	96,32	82,36	82,96	101,60	98,92
B	97,73	92,02	94,34	79,65	93,24	85,40	82,68	85,64	91,78	86,31	88,63	96,43
C	5,91	91,51	69,20	85,12	94,23	87,09	82,05	101,60	90,13	89,10	97,69	96,08
D	4,45	81,42	85,00	75,07	61,44	95,45	79,49	89,38	91,19	78,34	89,02	87,17
E	89,58	86,42	81,30	78,03	71,57	93,52	84,02	89,93	85,36	89,89	83,67	85,44
F	90,72	87,33	87,53	69,87	93,79	86,82	72,71	81,81	84,53	92,85	84,33	82,72
G	84,41	84,57	98,68	91,00	87,76	88,99	94,90	99,23	90,29	90,84	88,83	96,16
H	86,42	94,90	79,80	96,79	87,33	86,66	97,77	96,00	75,78	87,68	92,69	96,71

Interpretación: Para los valores de control el resultado del porcentaje de competición es positivo siempre y cuando sea menor o igual que el 40%; dudoso si es menor que el 40% o menor o igual que el 50% y negativo si es mayor que el 50%.

Anexo 3. Técnica de ELISA de competición para la detección de anticuerpos contra la proteína p80 (NSP2-3) de los virus BVDV / BDV en suero.

Este kit de diagnóstico está diseñado para la detección de anticuerpos específicos dirigidos contra la proteína p80- 125 (también conocida como NSP2-3) del virus de la enfermedad de la frontera por la técnica de ELISA de competición. Este ensayo puede ser aplicado en sueros, o plasmas de pequeños rumiantes para el diagnóstico de la Enfermedad de la Frontera.

- ***Descripción y Principio***

Los pocillos están sensibilizados con el antígeno p80 del virus BVD. Las muestras y los controles son añadidos a los pocillos. Si los anticuerpos están presentes, se forma el complejo antígeno-anticuerpo que enmascararan los epítomos de la proteína p80.

- ***Materiales, equipos y reactivos***

Tabla 3. Materiales, equipos y reactivos (técnica ELISA competitivo)

Materiales	Equipo	Reactivos
Micropipeta de 10 µl	Vortex	Microplacas sensibilizadas con el antígeno p80 purificado
Micropipeta de 100 µl	Lector de ELISA competitivo	Conjugado listo para usar (1x)
Puntas de pipetas blancas 0,5 a 10 µl	Lavador de placas automático	Control positivo
Puntas de pipetas amarillas de 10 a 100 µl	Incubadora de placa	Control negativo
Microplaca de predilución de 96 pocillos.		Diluyente 19
Agua destilada o desionizada		Solución de lavado (20x) Solución de revelación (TMB) Solución de parada (0,5M)

- ***Preparación de la solución de lavado***

Es necesario elaborar una Solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente (21°C ± 5°C) y agitar correctamente para obtener la disolución de los cristales. Preparar la Solución

de lavado (1X) diluyendo 1:20 la Solución de Lavado Concentrada (20X) en agua destilada/desionizada.

- ***Procedimiento para muestras de suero o plasma***

Inicialmente antes del desarrollo de la técnica como tal, es necesario homogeneizar las muestras utilizando un vortex

Proceso de incubación corta

Primera fase: Para la primera fase de la técnica se debe añadir

1. 90 µl de Diluyente 19 en cada pocillo.
2. 10 µl de cada muestra de suero a analizar en los pocillos restantes.
3. 10 µl del Control Positivo a los pocillos A1 y B1.
4. 10 µl del Control Negativo a los pocillos C1 y D1.

Cubrir la placa e incubar durante 45 min ± 5 min a una temperatura de 37°C (± 3°C). Luego vaciar los pocillos. Finalmente lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300 µl de Solución de lavado.

Segunda fase: Para todos los procedimientos propuestos:

1. Añadir 100 µl del Conjugado listo para usar a cada pocillo.
2. Cubrir la placa e incubar 30 min ± 3 min a 21°C (± 5°C).
3. Vaciar los pocillos.
4. Lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300 µl de Solución de lavado.

Tercera fase:

5. Añadir 100 µl de la Solución de revelación a cada pocillo.
6. Cubrir la placa e incubar 15 min ± 2 min a 21°C (± 5°C) en la oscuridad.
7. Distribuir 100 µl de Solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el paso 7, para parar la reacción.
8. Leer la microplaca a 450 nm.

- **Lectura de ELISA competitivo**

La placa obtenida de las fases de desarrollo de la técnica, debe ser leída por el lector de ELISA, del cual se obtienen una serie de valores que son interpretados según lo siguiente.

- **Validación de los resultados**

Para la validación de los resultados, se tomó en consideración lo establecido por el fabricante

El test es válido si se cumple lo siguiente:

- La densidad óptica media del Control Negativo (DO_{cn}) es superior a 0.7
- $(DO_{cn}) > 0.7$
- El valor medio de la densidad óptica del control positivo (DO_{cp}) es inferior al 30 % del (DO_{cn})

$$DO_{CP} / DO_{CN} < 0.3$$

- **Interpretación**

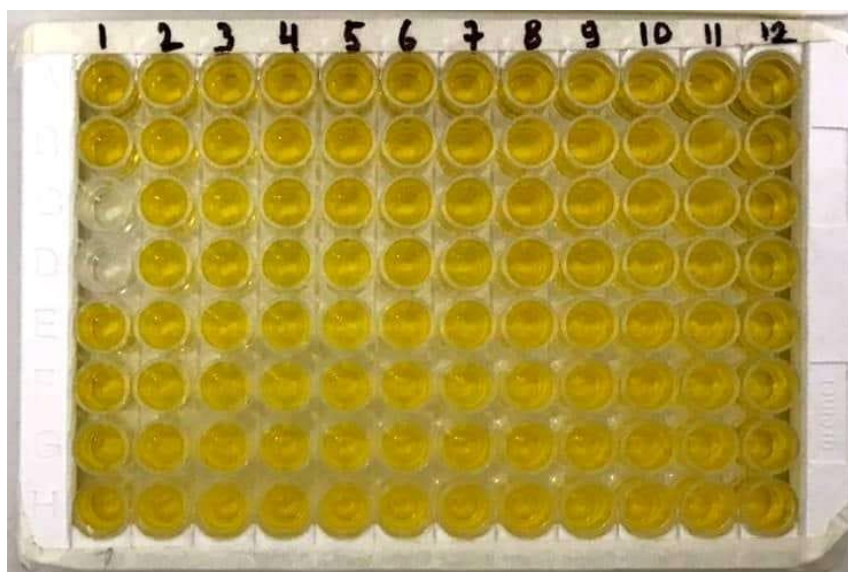
Para cada muestra se calculó el porcentaje de competición (S/N%):

$$S / N \% = \frac{DO_{muestra}}{DO_{CN}} \times 100$$

Tabla 4. Datos para validación de test positivo o negativo mediante la técnica de Elisa competitivo.

Resultado	Interpretación
$S / N \% \leq 40\%$	POSITIVO
$40\% < S / N \% \leq 50\%$	DUDOSO
$S / N \% > 50\%$	NEGATIVO

Anexo 4. Placa de ELISA competitivo, detección de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de la frontera (VEF).



Anexo 5. Resultados de Equipo Lector de ELISA competitivo

Bio-Tek Instruments

Assay: IBR

Date: 06/29/23

Lots: _____

Time: 18:44:07

Operator: _____

Wavelength: 450

Temp: _____

Plate ID: _____

COMMENTS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
CALL												
CalcOD	2.595	2.511	2.606	2.465	2.685	2.462	2.542	2.444	2.090	2.105	2.578	2.510
Well	NC	NC	SMP13	SMP14	SMP29	SMP30	SMP45	SMP46	SMP61	SMP62	SMP77	SMP78
RSLT												
B												
CALL												
CalcOD	2.480	2.335	2.394	2.021	2.366	2.167	2.098	2.173	2.329	2.190	2.249	2.447
Well	PC	PC	SMP15	SMP16	SMP31	SMP32	SMP47	SMP48	SMP63	SMP64	SMP79	SMP80
RSLT												
C												
CALL												
CalcOD	0.150	2.322	1.756	2.160	2.391	2.210	2.082	2.578	2.287	2.261	2.479	2.438
Well	SMP1	SMP2	SMP17	SMP18	SMP33	SMP34	SMP49	SMP50	SMP65	SMP66	SMP81	SMP82
RSLT												
D												
CALL												
CalcOD	0.113	2.066	2.157	1.905	1.559	2.422	2.017	2.268	2.314	1.988	2.259	2.212
Well	SMP3	SMP4	SMP19	SMP20	SMP35	SMP36	SMP51	SMP52	SMP67	SMP68	SMP83	SMP84
RSLT												
E												
CALL												
CalcOD	2.273	2.193	2.063	1.980	1.816	2.373	2.132	2.282	2.166	2.281	2.123	2.168
Well	SMP5	SMP6	SMP21	SMP22	SMP37	SMP38	SMP53	SMP54	SMP69	SMP70	SMP85	SMP86
RSLT												
F												
CALL												
CalcOD	2.302	2.216	2.221	1.773	2.380	2.203	1.845	2.076	2.145	2.356	2.140	2.099
Well	SMP7	SMP8	SMP23	SMP24	SMP39	SMP40	SMP55	SMP56	SMP71	SMP72	SMP87	SMP88
RSLT												
G												
CALL												
CalcOD	2.142	2.146	2.504	2.309	2.227	2.258	2.408	2.518	2.291	2.305	2.254	2.440
Well	SMP9	SMP10	SMP25	SMP26	SMP41	SMP42	SMP57	SMP58	SMP73	SMP74	SMP89	SMP90
RSLT												
H												
CALL												
CalcOD	2.193	2.408	2.025	2.456	2.216	2.199	2.481	2.436	1.923	2.225	2.352	2.454
Well	SMP11	SMP12	SMP27	SMP28	SMP43	SMP44	SMP59	SMP60	SMP75	SMP76	SMP91	SMP92
RSLT												

Anexo 6. Hoja de registro en campo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA								
PROGRAMA DE MAESTRIA DE SANIDAD ANIMAL PROYECTO DE VINCULACIÓN CON LA SOCIEDAD “FORTALEZIMIENTO DE CAPACIDADES EN EL MANEJO SANITARIO PREVENCIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES PARASITARIAS Y REPRODUCTIVAS DE GANADO CAPRINO PREVALENTES DEL CANTÓN ZAPOTILLO”								
REGISTRO DE COLECTA DE MUESTRAS								
Codigo de animal	Nombre del predio	Identificacion del animal (Numero/Nombre)	Raza	Sexo	Edad (años/meses)	Condición corporal	Presencia de garrapatas	Observaciones

- Las muestras en los frascos seran rotulados según el numero de grupo y tipo de colecta
Ejemplo:Muestra de sangre 1 del grupo 1, srgun el codigo corresonde a la muestra (SIG1)

Anexo 7. Certificado de traducción del resumen al idioma Ingles.

Loja, 08 de Enero de 2024.

CERTIFICA:

Yo, Lic. Jennifer Michelle Quezada Aguilar, con cedula de identidad 1104131121, docente del área de inglés, con registro 1031-2023-26926899, doy fe que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma ingles del trabajo de titulación denominado: " **DETERMINACION DE LA FRECUENCIA DE LA ENFERMEDAD DE LA FRONTERA EN CABRAS PERTENECIENTES AL CANTÓN ZAPOTILLO DE LA PROVINCIA DE LOJA**", de la estudiante Clarisa Nayeli Carrión Jumbo, con cédula de identidad N°2100798434 ,egresada de la carrera: Medicina Veterinaria.

Lo certifico en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso de la presente en lo que a sus intereses convenga.



Jennifer M. Quezada Aguilar.

Licenciada en Ciencias de la Educación Mención Inglés

1104131121