



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN
VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN
LOJA”**

*TESIS DE GRADO PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO ZOOTECNISTA*

AUTOR:

Jorge Amable Labanda González

DIRECTOR:

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.

LOJA - ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación titulado, **“PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”**, realizado por el egresado, JORGE AMABLE LABANDA GONZÁLEZ previo a la obtención del título de MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA, ha sido revisado y se autoriza su presentación final para la calificación correspondiente.

Loja, mayo del 2015



.....
Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg Sc.
DIRECTOR DE TESIS

**“PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS
LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”**

**Trabajo de investigación presentado al Tribunal de Grado como
requisito previa a la obtención del título de:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA:

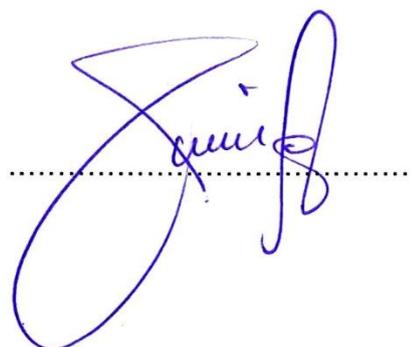
**Dr. Segundo Barragán Fierro Mg.Sc
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



**Dr. Héctor Castillo Castillo Mg.Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



**Dr. Tito Muñoz Guarnizo. Mg.Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



AUTORÍA

Yo, Jorge Amable Labanda González declaro ser el autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Jorge Amable Labanda González.

Firma: 

Cedula: 1105000143

Fecha: 06 de Enero del 2016

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, **Jorge Amable Labanda González**, declaro ser autor de la tesis titulada: **“PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”**, como requisito para optar al grado de **Médico Veterinario Zootecnista**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, 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 de la Tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los seis días del mes de enero del dos mil dieciséis, firma el autor.

FIRMA: 

AUTOR: Jorge Amable Labanda González

CEDULA: 1105000143

DIRECCIÓN: Loja;

CORREO ELECTRÓNICO: jor0071989@hotmail.es

TELÉFONO: 0939720069

DATOS COMPLEMENTARIOS

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.

TRIBUNAL DE GRADO

(Presidente) Dr. Segundo Barragán Fierro Mg. Sc

(Vocal) Dr. Héctor Castillo Castillo Mg. Sc

(Vocal) Dr. Tito Muñoz Guarnizo Esp.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a la Virgen Santísima por darme la oportunidad de haber estudiado esta hermosa carrera muy importante para el desarrollo de nuestro país.

A la Universidad Nacional de Loja por permitirme ingresar en su prestigioso establecimiento e impartirme por medio de sus docentes sus conocimientos tan valiosos que nos hacen crecer como profesionales y personas a la vez.

Al Laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnología de la UNL que por intermedio del Dr. Rómulo Chávez Valdivieso me concedió ser parte de su gran proyecto.

A mi Director de tesis Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc., por haberme guiado en la elaboración de mi trabajo de tesis que con su gran experiencia permitió que este trabajo sea de alto contenido científico.

A la Médico Veterinario Vanessa Herrera Mg. Sc. Conjuntamente con el Dr. Franklin Román por su ayuda en el trabajo en campo, ya que gracias a ellos pude comprender en gran manera los procedimientos que abarcaba mi investigación.

A la Lic. Loidy Zamora por su orientación y colaboración en el desarrollo de este trabajo.

Jorge Amable Labanda González

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios y la Virgen Santísima, ya que son los seres que motivan y guían mi vida.

A toda mi familia especialmente mis padres que han sido parte esencial para que yo llegue a estas instancias.

A todos mis docentes por haberme impartido sus conocimientos que me serán útiles en mi vida profesional.

A todos mis amigos que fueron parte de mi vida universitaria y a todas las personas que hicieron que se cumpla este sueño. A todos ellos va dedicado esto de todo corazón.

Jorge Amable Labanda González

ÍNDICE GENERAL

Contenidos	Pág.
PORTADA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
APROBACIÓN.....	iii
AUTORÍA.....	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
TÍTULO.....	xiv
RESUMEN.....	xv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 LA DIARREA VIRAL BOVINA	3
2.1.1 Antecedentes.....	3
2.1.2 Etiología.....	4
2.1.2.1 Taxonomía y Estructura	4
2.1.3 Variabilidad.....	5
2.1.4 Organización del Genoma Viral.....	6
2.1.5 Clasificación del vDVB.....	6
2.1.6 Genotipificación del vDVB	7
2.2 REPLICACIÓN VIRAL.....	8
2.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	8
2.3.1 Hospedador.....	9
2.3.2 Fuentes de la Infección.....	9

2.3.3	Métodos de Transmisión.....	10
2.3.3.1	Transmisión vertical.....	10
2.3.3.2	Transmisión horizontal.....	10
2.3.3.3	Transmisión entre rebaños	11
2.3.3.4	Transmisión dentro del rebaño.....	11
2.3.4	Animales Persistentemente infectados portadores del vDVB.....	11
2.4	PATOGENESIS.....	12
2.4.1	Infección Subclínica.....	13
2.4.2	Infección Aguda.....	13
2.4.3	Enfermedades de las Mucosas.....	14
2.4.4	Síndrome Hemorrágico.....	14
2.4.5	Complejo Respiratorio.....	15
2.4.6	Infección Persistente.....	15
2.4.7	Infección Venérea.....	15
2.4.8	Virus de la Diarrea Viral Bovina en Terneros Recién Nacidos.....	16
2.4.9	Infección en Hembras Gestantes.....	16
2.6.	Métodos de Diagnóstico.....	17
2.6.1.	Técnicas de Diagnóstico.....	17
2.6.1.1.	Aislamiento viral.....	17
2.6.1.2.	Inmunohistoquímica.....	18
2.6.1.3.	ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a enzimas).....	18
2.6.1.4.	Pruebas de detección de ácidos nucleicos.....	21
2.7	OTROS ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE PREVALENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA.....	22
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1	MATERIALES.....	23
3.1.1	De Campo.....	23

3.1.2 Equipos y Materiales de Laboratorio.....	23
3.1.3 Muestras Biológicas.....	24
3.1.4 Materiales de Oficina.....	24
3.2 MÉTODOS.....	24
3.2.1 Ubicación del Ensayo.....	24
3.2.2 Método de Muestreo.....	25
3.2.3 Tamaño de la Muestra.....	25
3.2.4 Cálculo de la Fracción del Muestreo.....	26
3.2.5 Distribución de la Población en el Cantón Loja y Parroquias.....	26
3.2.6 Recolección de las Muestras de Leche.....	27
3.2.7 Conservación de las muestras.....	28
3.2.8 Preparación de ELISA Indirecto.....	28
3.2.8.1 Preparación de reactivos.....	29
3.2.8.2 Protocolo del ensayo.....	29
3.2.8.3 Calculo de los Resultados.....	30
3.2.9 Registro de Datos.....	31
3.2.10 Variables.....	31
3.2.11 Análisis de Resultados.....	32
3.2.12 Análisis Estadístico.....	33
4. RESULTADOS.....	34
4.1 RESULTADO POR PARROQUIAS.....	34
4.2 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS PISOS ALTITUDINALES.....	35
4.3 PREVALENCIA DE ACUERDO AI NUMERO DE PARTOS.....	37
4.4 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA RAZA.....	38
4.5 PREVALENCIA DE ACUERDO AL SISTEMA DE MANEJO.....	39
4.6 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD....	40

4.7 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA FORMA DE REPRODUCCIÓN.....	41
4.8 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SINTOMAS.....	42
5. DISCUSIÓN.....	44
5.1 PREVALENCIA DE ACUERDO A LAS PARROQUIAS.....	44
5.2 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS PISOS ALTITUDINALES.....	44
5.3 PREVALENCIA DE ACUERDO AL NUMERO DE PARTOS.....	45
5.4 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA RAZA.....	45
5.5 PREVALENCIA DE ACUERDO AL SISTEMA DE MANEJO.....	46
5.6 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD.....	46
5.7 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA FORMA DE REPRODUCCIÓN.....	47
5.8 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SINTOMAS.....	47
6. CONCLUSIONES.....	49
7. RECOMENDACIONES.....	51
8. BIBLIOGRAFÍA.....	52
9. ANEXOS.....	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros:	Pág.
Cuadro 1. Parroquias urbanas y rurales con su altitud del Cantón Loja.....	24
Cuadro 2. Parroquias con su respectiva población y número de muestras a coleccionar.....	27
Cuadro 3. Reactivos del kit de EIISA INDIRECTO.....	28
Cuadro 4. Resultados de las parroquias con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.....	34
Cuadro 5. Resultados de acuerdo a los pisos altitudinales con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes	36
Cuadro 6. Resultados de acuerdo al número de partos con muestras positivas, negativas y sus porcentajes.	37
Cuadro 7. Resultados de acuerdo a las razas con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.....	38
Cuadro 8. Resultados de acuerdo al sistema de manejo con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.....	39
Cuadro 9. Resultados de acuerdo a las normas de bioseguridad con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.....	40
Cuadro 10. Resultados de los métodos de reproducción con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.	41
Cuadro 11. Resultados de acuerdo los síntomas con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras:	Pág.
Figura 1. Representación Esquemática del Virión del vDVB...	5
Figura 2. Resultados porcentuales de acuerdo a las parroquias.....	35
Figura 3. Resultados porcentuales de acuerdo a los pisos altitudinales.....	37
Figura 4. Resultados porcentuales de acuerdo al número de partos.....	38
Figura 5. Resultados porcentuales de acuerdo a las razas....	39
Figura 6. Resultados porcentuales de acuerdo a los sistemas de manejo.....	40
Figura 7. Resultados porcentuales de acuerdo a las normas de bioseguridad.....	41
Figura 8. Resultados porcentuales de acuerdo a los métodos de reproducción.....	42
Figura 9. Resultados porcentuales de acuerdo a los síntomas	43

**“PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS
LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”**

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en vacas lecheras de las ganaderías de las parroquias del cantón Loja: El número de muestras a coleccionar fue de 394, para la detección de anticuerpos contra el vDVB mediante la prueba de ELISA indirecta. Se utilizó un análisis estadístico descriptivo y una fórmula para calcular la prevalencia, también se consideró la frecuencia de cada una de las variables obtenidas, en las que se determinó los porcentajes con ayuda de cuadros y gráficos. En resultados: la parroquia de Vilcabamba es la que más alto porcentaje de vDVB posee con un 87,7%. Las vacas que habitan en lugares en pisos altitudinales de 1400 a 1750 msnm resultaron ser más susceptibles al virus obteniendo un porcentaje del 60,4%. En vacas entre 7 a 9 partos presentaron un alto porcentaje de positividad con un 53,8 %. En razas las vacas Holstein presentaron un porcentaje elevado de positividad con un 45,2%, seguida por vacas Brown Swis que presentó un 27,3%. En sistemas de manejo las vacas sometidas al manejo semiextensivo y extensivo obtuvieron el mayor porcentaje de positividad con 37,5% para el primero y 24,7 para el segundo. En bioseguridad tanto las granjas que contaban con normas de bioseguridad como las que no contaban obtuvieron un porcentaje alto de positividad en sus vacas. Las vacas que fueron sometidas a Inseminación artificial fueron las que más porcentaje de positividad obtuvieron con un 51,9%. Se encontró en algunos casos asociación entre los síntomas de los animales y la presencia de anticuerpos contra el vDVB.

Palabras clave: Prevalencia, Vacas lecheras, anticuerpos.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence of the virus from the bovine viral diarrhoea (BVDV) in dairy cattle of livestock farming of the parishes of the canton Loja: The number of the samples to be collected was of 394, for the detection of antibodies against the BVDV by means of the indirect ELISA test.

A descriptive statistical analysis and a formula were used to calculate the prevalence, there were also considered the frequency of each of the variables obtained, in which the percentages were determined with the aid of tables and graphs.

Results: the parish of Vilcabamba is the one with the highest percentage of BVDV it possesses an 87.7%.

Cows that live in places altitudinal levels of 1400-1759 meters above sea level turned out to be more susceptible to the virus obtaining a percentage of the 60.4%. Cows with between 7 to 9 deliveries have a high percentage of positivity with a 53.8%.

In breeds Holsteins presented a high percentage of positivity with a 45.2%, followed by the Brown Swiss cows which presented a 27.3%. In cows handling systems subjected to extensive and semi extensive management they obtained the highest percentage of positivity with a 37.5% for the first and 24.7 for the second.

In biosecurity so much as the farms that counted on biosecurity standards such as those lacked obtained a high percentage of positivity in their cows.

The cows that were subjected to artificial insemination were those that obtained a more positive percentage with a 51.9%.

It was found in some cases a relationship between symptoms of the animals and the presence of antibodies against the BVDV.

Keywords: Prevalence, dairy cattle, antibodies

1. INTRODUCCION

La enfermedad del vDVB tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. La mayoría de las encuestas en diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovino seropositivos (Houe, 1999).

Un estudio realizado por investigadores de la Universidad Técnica Particular de Loja (Loja Saa Luis et al 2008) sobre el vDVB en Ecuador encontraron una sero prevalencia individual de 39.4%.

Estudios previos sobre el vDVB en el cantón Loja evidenciaron la infección en algunos establos. Según estudios realizados por Sánchez en el año 2014 se encontró una prevalencia del 7.6% en animales seropositivos mayores a un año de edad.

Considerando que la ganadería en el cantón Loja están constituida principalmente por pequeños ganaderos con 4 a 12 vacas en producción que constituyen el sustento de sus familias y en ellas el (vDVB) ocasiona problemas de tipo reproductivo, como nacimientos de crías débiles, reabsorciones embrionarias, nacimiento de crías muertas, abortos, muertes fetales e infertilidad y de tipo productivo como baja producción de leche, surge la necesidad de conocer cuál es la prevalencia actual de este virus en vacas lecheras ya que son las que en más número se encuentran en nuestro cantón, siendo un medio de sustento para gran parte de la población lojana.

Para ello con esta investigación se determinó la prevalencia actual de esta enfermedad por el método ELISA Indirecto utilizando leche como alternativa al suero sanguíneo debido a dos razones fundamentales. La primera, que existe buena correlación entre las concentraciones de

anticuerpos presentes en el suero y la leche con respecto a infecciones por vDVB y otros agentes (Pritchard, 2001), siendo la IgG la principal inmunoglobulina presente en leche y calostro (Tizard, 2002) y la segunda evitar el menos estrés posible de las vacas en producción, permitiéndonos obtener información sobre el número de vacas lecheras infectadas en las ganaderías del Cantón Loja.

En esta investigación se propuso siguientes objetivos:

- Calcular la prevalencia del vDVB de acuerdo a las parroquias.
- Determinar la prevalencia del vDVB de acuerdo a los pisos altitudinales.
- Calcular la prevalencia del vDVB de acuerdo al número de partos y raza.
- Determinar la prevalencia de vDVB de acuerdo al sistema de manejo, bioseguridad y métodos de reproducción.
- Relacionar los síntomas que presentaron los bovinos analizados con los resultados positivos de ELISA.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 LA DIARREA VIRAL BOVINA

El virus de la diarrea viral bovina (vDVB), agente causal del complejo diarrea viral bovina (DVB) enfermedad de las mucosas (EM), es responsable de la ocurrencia de diferentes cuadros clínicos, de variable intensidad y gravedad. El carácter inmunodepresor del virus predispone al animal a otras enfermedades causadas por agentes comensales y/o patógenos (Duffell y Harkness 1985). Especial importancia adquiere esta virosis cuando la infección ocurre en la etapa reproductiva, ya que puede interferir con la concepción (Kirkland y col., 1991) y la infección trasplacental dependiendo de la edad de la gestación y de las características biológicas de la cepa viral, puede producir muerte embrionaria o fetal, aborto, momificación, malformaciones congénitas, mortalidad perinatal, retraso en el desarrollo, respuesta inmune protectora o reconocimiento del virus como propio sin capacidad de responder inmunológicamente a él y en este caso, si el animal sobrevive, queda con una infección persistente comportándose en vida extrauterina como portador inmunotolerante al virus y expuesto a cursar la EM que es siempre de curso fatal (Baker et al , 1990)

2.1.1 Antecedentes

En 1940 fue descrita en Saskatchewan, Canadá, una enfermedad en bovinos la cual se caracterizaba por una severa diarrea, depresión, anorexia, leucopenia y ulceración de las mucosas de la cavidad bucal a la cual se la denominó «enfermedad X» por la dificultad en la identificación del agente causal y fallas en el intento de reproducirla experimentalmente (Childs, 1946). Un síndrome de similares características clínicas e histopatológicas fue descrita posteriormente en New York, EEUU (Olafson et al., 1946) y se le denominó diarrea viral bovina (DVB).

En 1950 se presentaron casos más severos en Iowa, EEUU, caracterizados por descarga nasal mucopurulenta, hemorragias y erosiones en el tracto intestinal con mínima infiltración de células inflamatorias; sin embargo, los animales inoculados con sangre y machacados de tejidos de animales solo presentaban fiebre ligera y fue denominada enfermedad de las mucosas (EM) (Ramsey y Chivers, 1953).

2.1.2 Etiología

2.1.2.1 Taxonomía y estructura

El virus de la diarrea viral bovina (vDVB) pertenece al género Pestivirus de la familia Flaviviridae (*Donis RO. 1995*). Son virus envueltos, esféricos y miden 40 a 60 nm de diámetro. Se componen de una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella. (Nettleton PF, Entrican G. 1995). Entre las proteínas más importantes que conforman la estructura de la partícula tenemos:

- E2/gp53, es la glicoproteína más importante del virión y antígeno del serotipo. Esta glicoproteína contiene los epítomos que inducen la producción de anticuerpos neutralizantes luego de una infección o vacunación. Contiene una región hipervariable y altamente mutable. Es el sitio donde ocurren las mutaciones y cambios antigénicos que dan lugar a la aparición de cepas variantes del VDVB (Paton, 1995; Donis, 1995; Van Oirschot et al, 1998; Brusckhe et al, 1997).
- P125/ NS23. Es una proteína no estructural indispensable para la multiplicación del virus; es la más conservada en todos los pestivirus. Los animales infectados o vacunados con virus modificado desarrolla una fuerte respuesta humoral contra esta proteína responsable de las reacciones cruzadas con los VCP y VEF (Potgieter, 1995).

- P80/NS3, esta proteína surge a partir de la p125 determina el fenotipo del VDVB, tiene actividad de licasa en el extremo de carbono terminal y de proteasa en el extremo amino terminal. Está presente únicamente en el biotipo citopatogénico del virus (Paton, 1995)

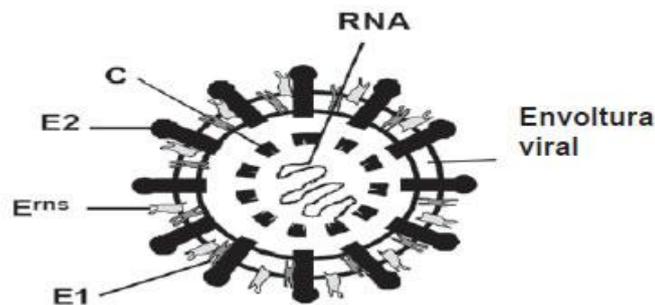


Figura 1. Representación Esquemática del Virión del vDVB. El vDVB está constituida por 3 proteínas de envoltura (Erns, E1, E2.) y la proteína de la capsida viral la cual empaqueta el ARN genómico (Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2008).

2.1.3 Variabilidad

La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica (Caropi WV, et al 1996). La característica principal de un virus ARN es su plasticidad y ésta se debe a la falta de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia (1 error por cada 10.000 nucleótidos polimerizados). El vDVB usa esta estrategia para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador (Donis RO. 1995.) El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente. Sin embargo, el virus DVB aislado de cerdos y

ovejas tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino (Paton DJ. 1995.)

Otra posible causa para la variabilidad es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados períodos de replicación en animales persistentemente infectados. Sin embargo, esta última posibilidad no parece suceder con el vDVB (Bolin y Ridpath 1992) demostraron que nuevas variantes antigénicas se originan durante el pasaje del virus en bovinos susceptibles que desarrollan una infección aguda.

Esto sugiere que, mientras los animales persistentemente infectados son más importantes como reservorios, los animales con infección aguda pueden ser más importantes para la generación de nuevas variantes antigénicas (Patón DJ, et al 1994).

2.1.4 Organización del Genoma Viral

El VDVB y demás pestivirus están constituidos por una molécula de ARN de polaridad positiva de 12.5 kb de longitud. El virus posee un solo marco de lectura abierta (ORF), presentando en ambos extremos 5' y 3' regiones no traducidas (UTR). La región UTR del extremo 5' es importante para la iniciación de la traducción del ORF; es una región altamente conservada y contiene el sitio de Entrada Interno al Ribosoma (IRES) que promueve la iniciación de la traducción de la poli proteína viral, de manera similar al virus de la hepatitis C (Myers et al., 2001). El IRES es un complejo de elementos utilizado por la célula eucariota, como un mecanismo alternativo para el inicio de la traducción de proteínas reclutando la maquinaria de traducción celular al codón de iniciación (AUG) en el ARNm como respuesta a un agudo estrés celular (Oh et al., 1992; Martínez-Salas et al., 2001).

2.1.5 Clasificación del vDVB

De acuerdo a sus efectos en los cultivos celulares, los Pestivirus se dividen en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte celular, los virus NCP no ocasionan

cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar infección persistente (Deregt D, Loewen KG. 1995). El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad mucosa y se originan por mutación a partir del biotipo NCP; ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral. (Meyers G, Tautz N, Dubovi EJ, Heinz-Jürden Thiel. 1996.)

2.1.6 Genotipificación del vDVB

Comparando las secuencias de las regiones 5' UTR del genoma de más de 140 aislados del VDVB, consideraron agruparlas en genotipos 1 y 2, donde ambos están conformados por cepas del VDVB ncp y cp. El genotipo 1, corresponde al que fue reconocido por décadas, y está constituido por cepas de VDVB de referencia, utilizadas en preparación de vacunas, como antígeno en pruebas diagnósticas e investigación. El genotipo 2 corresponde al VDVB que fue identificado a fines de la década del 80 en EEUU y Canadá asociado a un síndrome hemorrágico agudo y hasta fatal, pero también por cepas aisladas de animales PI nacidos de madres vacunadas contra el VDVB y cepas aisladas de sueros fetales (Pellerin et al., 1994; Ridpath et al., 1994). Cepas del genotipo 2 han sido reconocidas esporádicamente en algunos países europeos (Wolfmeyer et al., 1997) y en países de América Latina como Brasil, Argentina y Chile (Canal et al., 1998). Recientemente, estudios preliminares de secuenciación genética en pocas cepas del VDVB aisladas en Perú resultaron pertenecer al genotipo 1 (Stahl et al., 2006).

Estudios de relación filogenética han determinado que la homología entre las cepas del VDVB del mismo genotipo es más del 93%, mientras que entre el genotipo 1 y 2 es solo de 74%, indicando que son antigénica y

molecularmente diferentes (Pellerin et al., 1994; Ridpath et al., 1994). Los genotipos 1 y 2 fueron posteriormente agrupados en subgenotipos 1a y 1b, y 2a y 2b (Ridpath y Bolin, 1998); sin embargo, resultados de otros estudios señalan que habría al menos 11 subgenotipos del VDVB (Vilcek et al., 2001). El alto grado de mutación del genoma pestiviral y la disponibilidad de animales susceptibles en el mundo, resulta, sin duda, en una alta tasa de evolución genética que es expresada en una amplia variabilidad antigénica que permite al virus escapar de la respuesta inmunitaria, resultando, por un lado, en una incompleta protección del animal y, por otro lado, en capacidad del virus para sobrevivir en la naturaleza (Fulton et al., 2005; Ridpath, 2005).

2.2 REPLICACIÓN VIRAL

Al parecer, el virus ha evolucionado para utilizar la maquinaria sintética de la célula en la cual se replica, desarrollando diversas y eficientes maneras de competir con la célula infectada por los substratos. La presencia de los IRES en el genoma fue reconocido inicialmente en los virus de la familia Picornaviridae (Jang et al., 1988) y desde entonces, los IRES están siendo reconocidos en muchos virus ARN de cadena simple de polaridad positiva como son los del género pestivirus (vDVB, vPPC, vEF), hepacivirus (virus de la hepatitis C) (Myers et al., 2001) e incluso en virus ADN como los virus herpes (Bielecki y Talbot, 2001).

2.3 EPIDEMIOLOGIA

Las primeras enfermedades producidas por pestivirus, fueron identificadas como enfermedad de las mucosas y diarrea viral bovina (DVB), ambas causadas por el VDVB; el cual también puede causar enfermedad en otros rumiantes y en cerdos. El VDVB tiene una distribución mundial y es responsable de un síndrome que va desde muy benignos a severos, e incluyen la potenciación de otras infecciones, fallas reproductivas (Polak y Zmudzinski, 1999), defectos congénitos, animales

PI, infecciones agudas, y una generalmente fatal enfermedad de las mucosas (Njaa et al, 2000).

2.3.1 Hospedador

Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. Los Pestivirus rumiantes infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres. Estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los Pestivirus cruzan la barrera de especie (Nettleton PF, Entrican G. 1995).

2.3.2 Fuentes de la Infección

Los animales PI, juegan un rol importante como la fuente principal de diseminación del VDVB, y por ende de la infección (Njaa et al, 2000; Polak y Zmudzinski, 1999). Los animales PI eliminan grandes cantidades de virus durante toda su vida a través de secreciones y excreciones tales como descarga nasal, saliva, semen, orina, heces, lágrimas y leche (Brock et al, 1991); siendo la prevalencia de los animales PI es de 0.5 - 2.0% (Polak y Zmudzinski, 1999; Houe, 1995).

Los animales con infección aguda, representan también una fuente importante de diseminación viral durante la infección, el virus es usualmente excretado a partir del día 4 al día 10; aunque el virus puede ser excretado durante un periodo mayor (Brownlie et al, 1991). Si bien, los animales con infección aguda también eliminan virus por secreciones y excreciones, la cantidad del virus es mucho menor en relación a los animales PI (Houe, 1995; Kirkland et al, 1992).

El virus también ha sido aislado de otros rumiantes incluyendo ovinos, caprinos, y algunos de vida silvestre o en cautiverio; siendo estas especies, consideradas fuente potencial de transmisión del virus (Houe, 1995).

2.3.3 Métodos de Transmisión

Los métodos de transmisión pueden ser vertical y horizontal; siendo la transmisión vertical la que se da de una generación a la siguiente, pudiéndose esta aplicarse para los animales PI. Sin embargo, en muchos casos, la transmisión vertical es precedida por una transmisión horizontal a la madre, y durante esta infección aguda de la madre atraviesa la placenta e infecta al feto (Houe, 1995).

2.3.3.1 Transmisión Vertical

La transmisión vertical ocurre de una generación a otra. Se incluye la transmisión al feto a través del semen infectado de toros con infección aguda o persistentemente infectados (PI). Las hembras seronegativas pueden ser inseminadas con semen infectado pudiendo infectarse, sin embargo, la producción de fetos PI raramente ocurre por esta ruta; en caso de ocurrir la producción de una cría PI, entonces es una transmisión vertical, aunque como ya se menciona va precedida de una transmisión horizontal. A pesar de la alta mortalidad entre los terneros PI (Houe, 1993), algunos pueden llegar a adultos y reproducirse, entonces los terneros de madres PI son también PI, por lo tanto, se forman líneas familiares de animales PI y puede ocurrir en varias generaciones (Houe, 1991). Además, puede ocurrir transmisión vertical después de la transferencia de embriones, si la receptora es PI, si la hembra donante es PI.

2.3.3.2 Transmisión Horizontal

La transmisión horizontal puede ser directa o indirecta. La transmisión directa, ocurre por contacto entre animales susceptibles y animales persistentemente infectados (PI), siendo esta la vía más importante de transmisión de la infección; presumiblemente, la más eficiente es el contacto de nariz a nariz (Travén et al, 1991), existe además la posibilidad de transmisión por el aire siendo a poca distancia, aunque esto no está

probado experimentalmente. Al igual que en la transmisión vertical, la principal fuente de infección son los animales PI, aunque también está probado la capacidad de transmitir el VDVB a partir de animales con infección aguda. El semen es una fuente importante de transmisión horizontal para las vacas, esto está asociado con la eliminación del virus a través de este medio.

2.3.3.3 Transmisión entre Rebaños

Una de las formas en la cual el virus entra a un rebaño susceptible es a través de la adquisición de bovinos PI o hembras que transportan fetos PI. Otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con ovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda

2.3.3.4 Transmisión dentro del Rebaño.

La tasa de transmisión dentro del rebaño depende de la forma de introducción del virus al mismo. Cuando un animal PI es introducido a un rebaño, la transmisión a animales susceptibles ocurre rápidamente a la mayoría de los animales del rebaño. Por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje del rebaño antes que la transmisión cese. El sistema de producción y la virulencia de la cepa también participan en la tasa de transmisión. La diseminación es más eficiente en sistemas de producción que permiten un estrecho contacto entre animales y con cepas virulentas (Houe H. 1995.; Tremblay R. 1996).

2.3.4 Animales Persistentemente Infectados Portadores del VDVB

Los pestivirus son considerados como uno de los agentes virales más exitosos de la naturaleza por su habilidad de difundirse, causar

enfermedad y aun persistir dentro de una población sin ser descubierto (Sándwich, 1999). En este sentido el virus es mantenido en la naturaleza principalmente a través de animales persistentemente infectados, es decir, un animal que fue infectado en algún momento antes de los 120 - 125 días de su desarrollo fetal, cuando su sistema inmune no es capaz de reconocer al virus como invasor convirtiéndose en inmunotolerante al virus infectante y PI por toda su vida (Brownlie et al, 1998).

La inmunotolerancia es a la cepa viral específica, es decir, estos animales no desarrollan anticuerpos neutralizantes contra el vDVB presente en el animal, sin embargo, son inmunocompetentes a otras cepas diferentes del vDVB u otros agentes infecciosos. En estos animales el virus persiste en todos los tejidos, especialmente en las células del sistema inmune y tejidos inmunológicamente privilegiados como el sistema nervioso central (Sandvick, 1999).

El animal PI es considerado el reservorio o portador más importante del VDVB ya que elimina continuamente grandes cantidades del virus en sus secreciones y excreciones y son incapaces de responder formando anticuerpos o inmunidad mediada por células, por ser animales inmunotolerantes y probablemente también por el continuo daño funcional de las células del sistema inmune. Los animales inmunocompetentes infectados agudamente, también eliminan el virus por varios días o semanas pero, la cantidad de virus que eliminan es menor y finalmente el virus puede ser removido eficientemente del animal por los anticuerpos neutralizantes con la subsiguiente recuperación del animal (Houe, 1999).

2.4 PATOGÉNESIS

La transmisión horizontal del virus es en forma directa, por inhalación de saliva infectada, descarga óculo nasal, vaginal, orina, heces. La transmisión, también puede ocurrir a través de semen de toros infectados en forma aguda o toros PI (Vanroose et al, 1998; Baker, 1995).

La transmisión vertical ocurre en cualquier etapa de la gestación; además la transmisión también es posible vía agujas hipodérmicas (Baker et al, 1987).

Las primeras poblaciones celulares que soportan la replicación viral son las células epiteliales de la cavidad bucal, tonsilas y del tracto digestivo, células linfoides, como consecuencia el animal puede presentar múltiples expresiones clínicas como:

2.4.1 Infección Subclínica

El 70 a 90% del ganado adulto susceptible puede presentar la DVB subclínico. El periodo de incubación es de 5 a 7 días aproximadamente luego de lo cual se presenta una ligera fiebre y leucopenia, que usualmente no es notado por el veterinario o ganadero siendo esto seguido por una producción de anticuerpos neutralizantes (Baker, 1987). En general es raro que el VDVB cause enfermedad en animales inmunocompetentes; sin embargo, debido a su rol inmunosupresor el VDVB puede potenciar o favorecer el desarrollo de infecciones secundarias, sobre todo aquellas de tipo respiratorio como el complejo respiratorio bovino (Obando, 1999).

2.4.2 Infección Aguda

La infección aguda en animales seronegativos e inmunocompetentes, puede dar un rango muy amplio de signos clínicos, estando relacionados con factores como cepa del virus, edad del animal, inmunidad y estado fisiológico del animal y, la presencia de otros agentes patógenos. La mayoría de las infecciones agudas están causadas por el biotipo NCP, generalmente ocurre en animales entre 6 meses y 2 años de edad (Baker, 1995).

El periodo de incubación es de 5 - 7 días; seguido de fiebre transitoria y viremia por encima de los 15 días. Luego del ingreso del virus se replica

en las células epiteliales de la mucosa oro nasal y tonsilas, la progenie se disemina vía sanguínea y linfática, como virus libre o asociado a linfocitos y monocitos. Además, clínicamente la enfermedad se caracteriza por: estomatitis erosiva aguda, gastroenteritis y diarrea, leve depresión, inapetencia, descarga óculo nasal. Las infecciones agudas causan ovaritis y producen infertilidad temporal (Vanroose et al, 1998).

Los hatos susceptibles experimentan diarrea con alta morbilidad, pero con baja o nula mortalidad; la producción lechera también se ve afectada. Generalmente, los anticuerpos neutralizantes son detectados en suero 3 a 4 semanas post infección y persisten probablemente por años (Vanroose et al, 1998).

2.4.3 Enfermedad de las Mucosas

La enfermedad de las mucosas, es usualmente de curso fatal y está asociado con superinfección del animal PI con el biotipo NCP, por el biotipo CP del VDVB (Brownlie et al, 1998), teniendo como condición, que el biotipo superinfectante CP debe ser antigénicamente homólogo al biotipo NCP presente en el animal. (Vanroose et al, 1998; Paton 1995). Estos animales desarrollan profusa diarrea, u una rápida pérdida de condición corporal, erosiones a nivel del tracto gastrointestinal, y muerte (Tautz et al, 1994; Bolin et al, 1995).

2.4.4 Síndrome Hemorrágico

En USA y Canadá, se han reportado como severos, en estos casos se observa diarrea con sangre, epistaxis, congestión en conjuntiva y mucosas, hemorragias petequiales y equimóticas en mucosas, los animales muestran pirexia, leucopenia, linfopenia y neutropenia. Este síndrome ha sido asociado con infecciones por cepas NCP del genotipo II (Ridpath et al, 2000).

2.4.5 Complejo Respiratorio

La infección con VDVB en animales inmunocompetentes y seronegativos tiene poca importancia; pero si como un agente inmunosupresor. El vDVB potencia a otras infecciones virales y bacterianas como: Parainfluenza tipo 3, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Coronavirus, Rotavirus, Pasteurella spp., Salmonella spp., Coccidia, etc; produciendo un cuadro de enfermedad respiratoria severa denominado complejo respiratorio bovino, que es uno de los problemas causantes de grandes pérdidas económicas en el mundo (Fulton et al, 2000)

2.4.6 Infección Persistente

La infección persistente con el VDVB en el ganado bovino resulta de infecciones en útero (Fredriksen et al, 1999). Las hembras gestantes PI usualmente producen crías PI; teniendo estas las siguientes características: terneros anormales, nacimientos prematuros, retardo en el crecimiento, y dificultad para la lactación. Algunos mueren dentro de los primeros 6 meses de vida, tal vez por el debilitamiento de la respuesta inmune contra la enfermedad. Sin embargo, algunos muestran salud y crecimiento normal. Los animales PI resultan en una inmunotolerancia a los antígenos del virus de la DVB, resultando de esto evidencias de la interacción sinérgica del VDVB con otros agentes patógenos (Bock et al, 1997).

2.4.7 Infección Venérea

Los toros infectados en forma aguda o PI, producen semen infectado con el VDVB, como consecuencia de la replicación del virus en la vesícula seminal y glándula prostática (Kirkland et al, 1997), el cual sirve como medio para la transmisión del virus a vacas susceptibles.

La calidad del semen infectado por el VDVB, es caracterizado por el decrecimiento de la motilidad, incremento del porcentaje de

anormalidades morfológicas de las células espermáticas (Kirkland et al, 1994).

2.4.8 Virus de la Diarrea Viral Bovina en Terneros Recién Nacidos

El VDVB, raramente causa enfermedad en animales menores de 6 meses de edad. Los terneros recién nacidos infectados con VDVB pueden padecer de severas enteritis que son ocasionalmente de curso fatal (Baker, 1987). Experimentalmente se ha demostrado que en terneros que tomaron tarde el calostro, la infección que resulto fue una enfermedad clínica benigna con rápido restablecimiento.

2.4.9 Infección en Hembras Gestantes

La infección transplacentaria con VDVB es muy frecuente, ya que el virus cruza la placenta con casi 100% de eficiencia. El resultado de la infección en el feto dependerá principalmente del periodo de gestación cuando ocurra la infección, y del biotipo de la cepa infectante. Los efectos pueden ser: muerte embrionaria fetal, aborto o momificación, malformación congénita, nacimientos de terneros débiles, nacimientos de terneros PI y nacimiento de terneros sanos (Baker, 1995; Hoenning y Liess, 1995). Los terneros PI son el resultado de la infección del feto en un momento entre los 120 a 125 días de edad fetal con una cepa NCP (Vanroose et al, 1998).

Los fetos bovinos son capaces de desarrollar una respuesta inmune contra el virus de la DVB a los 180 días de gestación; aunque, para algunos fetos ya es posible una respuesta con anticuerpos entre los 120 y 165 días de gestación. Dicha respuesta inmune en el feto se desarrolla luego de 20 a 30 días post infección (Bruschke et al, 1996).

2.5 ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

E0/gp48, es una glicoproteína asociada a la envoltura viral, responsable en parte de la inducción de los anticuerpos neutralizantes (Paton, 1995),

y cumple una función de una ARNasa y es secretada al espacio extracelular por exocitosis durante la replicación viral. El anticuerpo es una inmunoglobulina G2b que reacciona con un epítopo de la glicoproteína viral E0/gp48.

2.6 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Para el control y eventual erradicación de esta enfermedad es fundamental contar con adecuadas pruebas de diagnóstico, de hecho estas pruebas son esenciales para realizar cualquier programa. La idea que la DVB podría ser erradicada de la población bovina comercial descansa en los progresos que se han realizado durante los últimos años para detectar con seguridad la infección del vDVB en el ganado. La biología molecular ha aportado el desarrollo de los anticuerpos monoclonales y la implementación de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa - transcriptasa reversa. Tres acciones son importantes para intentar el control: identificación y eliminación de animales persistentemente infectados, aumentar la respuesta inmune post vacunación e implementación de medidas de bioseguridad (Dubovi, 2013).

2.6.1 Técnicas de Diagnóstico

2.6.1.1 Aislamiento viral

El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Sin embargo, es económicamente prohibitivo para ser usado en el diagnóstico de animales PI en un programa de control y erradicación (Dubovi EJ. 1996). El cultivo celular se ha optimizado con el sistema microtitre multi-well, donde células cultivadas en placas con múltiples pocillos son inoculadas con 10 a 50 µl de suero problema e incubadas por 4 días; la presencia de biotipos NCP se detecta con el empleo de anticuerpos anti-vDVB marcados con peroxidasa o fluorocromos (Sandvik T.1999).

2.6.1.2 Inmunohistoquímica

La detección directa del vDVB en tejidos de animales sospechosos ha sido de gran ayuda en el diagnóstico, especialmente en la detección y eliminación de animales persistentemente infectados.

La IHQ se realiza, rutinariamente, en tejido fijado en formalina y embebido en parafina; aventajando a otras técnicas en términos de conveniencia en la remisión de las muestras, posibilita el estudio retrospectivo de muestras enviadas para examen histopatológico y permite una precisa asociación entre el antígeno viral con tipos celulares y lesiones histológicas. (Dubovi EJ. 1996).

2.6.1.3 ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas)

El ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. Los diferentes tipos de ELISA son los que se enumeran a continuación:

a) ELISA Directo

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble (“tapizado”) de antígenos específicos. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición de anticuerpos marcados (“conjugados”) con una enzima; si los anticuerpos reaccionan con los antígenos, el complejo quedará solubilizado. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.

- Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado.

b) ELISA Indirecto

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición del suero problema, de tal forma que sus anticuerpos reaccionarán específicamente con los antígenos fijados al soporte. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de anti-anticuerpos conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los anticuerpos específicos añadidos en el paso anterior y que se encuentran fijados a los antígenos. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado.

c) ELISA sándwich (DAS)

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición de la muestra problema (extracto vegetal, sangre, suero, plasma, etc.), de tal forma que si está presente el agente patógeno de diagnóstico (antígeno), reaccionará específicamente con los anticuerpos fijados al soporte. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados.

- Adición de anticuerpos específicos del antígeno a detectar (deben tener un epítipo diferente de los anticuerpos con los que se han tapizado el soporte) conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra problema y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. • Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea. • Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado.

d) **ELISA sándwich HADAS:** Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición de la muestra problema (extracto vegetal, sangre, suero, plasma, etc.), de tal forma que si está presente el agente patógeno de diagnóstico (antígeno), reaccionará específicamente con los anticuerpos fijados al soporte. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados.
- Adición de anticuerpos específicos del antígeno a detectar (deben tener un epítipo diferente de los anticuerpos con los que se han tapizado el soporte), los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra problema y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos que no hayan reaccionado.
- Adición de anticuerpos conjugados con una enzima anti-anticuerpos empleados en el paso anterior. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado.

e) **ELISA competitivo:**

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición en concentración conocida de una mezcla de antígenos del anticuerpo utilizado en el paso anterior, marcados con una enzima y antígenos desconocidos objeto de estudio. Paralelamente, añadir únicamente antígenos del anticuerpo usado en el paso anterior, marcados con una enzima. Lavar para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado.
- Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado de ambas pruebas y comparar los resultados. Si las lecturas de ambas pruebas son análogas, el antígeno a estudio no tienen nada que ver con los anticuerpos empleados para tapizar el soporte. Si hay diferencia en las lecturas de ambos pocillos, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica, es proporcional a la concentración del antígeno problema en la muestra (Soluciones de ELISA Protocolo y Técnicas, 2007)

2.6.1.4 Pruebas de detección de ácidos nucleicos

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido, sensible, que detecta diversos vDVB y permite investigar un gran número de muestras en corto tiempo (Ward P, Misra V. 1991).

Su sensibilidad permite detectar el virus en pool de muestras de sangre y leche de tanque (Laamanen UI, Neuvonen EP, Yliviuhkola EM, Veijalainen PML. 1997).

Sin embargo, su elevada sensibilidad puede originar resultados falsos positivos (Nettleton PF y Entrican G. 1995).

Para maximizar la detección de vDVB se han seleccionado partidores de la región 5' no codificante del genoma pestiviral, ya que es la región del

genoma que más se conserva entre los virus aislados (Nettleton PF, Entrican G. 1995). Sin embargo, Vilcek y col. (2001), considerando la alta variabilidad, recomiendan un cuidadoso examen de los partidores para asegurar que sean capaces de detectar todos los virus del genotipo 1 del vDVB.

2.7 OTROS ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE PREVALENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

Estudios realizados en diferentes países demuestran que la prevalencia del VDVB, se encuentra dentro del 40 - 90% (Niskanen et al, 1991; Houe, 1995; Kirkland, 1994). En el Perú, Contreras, 1999, determino una prevalencia de 72.4% de la DVB, en un estudio realizado en el valle del Mantaro.

En un estudio de 1593 bovinos de un total de 133 hatos en Inglaterra y Gales, se mostró que el 62.5% de animales presentaron anticuerpos neutralizantes contra el VDVB, la prevalencia entre regiones varían entre 43% y 79%. Otros estudios de UK mostró 1.8% de animales virémicos de entre 3151 animales y a la prevalencia de un total de 18759 muestras fue 64.9% (Houe et al, 1995).

En Dinamarca con muestreo al azar, de un total de 1332 muestras colectadas en dos camales, se obtuvo 78% de animales positivos a anticuerpos y 0.9% de los animales fueron positivos al virus de la DVB. Así mismo en un total de 2750 muestras en 19 hatos lecheros, se obtuvieron 37 (1.4%) de animales virémicos; 28 (1.1%) animales PI y 64% fueron anticuerpo positivos (Houe, 1991).

En Suecia evaluaron un total de 711 vaquillonas seleccionadas para inseminación artificial (IA), mostrando 1.7% animales virémicos; 1.3% animales PI y 41% de animales positivos a anticuerpos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materiales de campo

- Bovinos (vacas lecheras)
- Botas
- Vestimenta
- Desinfectante
- Brete
- Guantes desechables
- Recipientes para recolección de leche

3.1.2 Materiales de Laboratorio

- Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Pipeta automática multicanal de volumen ajustable
- Puntas de plástico desechables
- Vasos de precipitación de distintos volúmenes
- Papel absorbente
- Probetas graduadas
- Timer
- Kit para DVB

3.1.3 Muestras Biológicas

- Leche.

3.1.4 Materiales de Oficina

- Computador.

- Impresora.
- Cámara de fotos.
- Suministros de oficina.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Ubicación del Ensayo

La toma de muestras de leche en ganado bovino se realizó en ganaderías de producción lechera de las parroquias del Cantón Loja tanto urbanas como rurales considerando su altitud él cual se muestra en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Parroquias urbanas y rurales con su altitud del Cantón Loja.

Parroquias	
Urbanas	Msnm
San Sebastián	2080
El Sagrario	2430
Sucre	2100
El Valle	2110
Rurales	
Chantaco	2240
Chuquiribamba	2720
El Cisne	2340
Gualel	2520
Jimbilla	1950
Malacatos	1470
Quinara	1570
San Lucas	2430
Santiago	2430
S. Padro de Vilcabamba	1650
Taquil	2280
Vilcabamba	1570
Yangana	1850

Fuente: Investigación directa

3.2.2 Método de Muestreo

En este trabajo se realizara en bovinos hembras en producción lechera en ganaderías del cantón Loja.

3.2.3 Tamaño de la Muestra

Se lo realizó mediante la fórmula para calcular proporción de una enfermedad cuando la población con la que se pretende trabajar es conocida: esta es 49829 según las proyecciones para el 2013, en el censo del 2000. Los cuales el 60% están en edad productiva de esta cantidad se dividen en vacas secas y vacas en actividad lechera la cual es el 50% ya que se va hacer la prueba solo con muestras de leche.

La fórmula es la siguiente:

$$N = \frac{PxQxN}{(N - 1)\frac{E^2}{K^2} + PQ}$$

N = Tamaño de la muestra

P = Probabilidad que se cumpla (0,05)

Q = Probabilidad que no se cumpla (0,05)

E²= Constante

K²= Constante (2)

N= Número de animales

$$n = \frac{0,25 (14950)}{(14950 - 1)\frac{(0.05)^2}{(2)^2} + 0.25}$$

$$n = \frac{3738}{(14949)(0,000625) + 0.25}$$

$$n = \frac{3738}{9.5}$$

$$n = 394$$

3.2.4 Cálculo de la Fracción para el muestreo

Para ello lo hemos realizado de la siguiente forma-

$$F = \frac{n}{N}$$

Donde:

n= Tamaño de la muestra.

N= Población total.

$$F = \frac{394}{14950} = \frac{1}{38} = 0,026$$

Con el valor obtenido en la fracción de muestreo se procedió a determinar la muestra en cada parroquia de la ciudad de Loja.

3.2.5 Distribución de la Población en el Cantón Loja y Parroquias

Cuadro 2. Parroquias con su respectiva población y número de muestras a colectar.

Parroquias			
Urbanas	Población Total	N de muestras	Porcentaje
San Sebastián	662	17	0,1
El Sagrario	74	1	0
Sucre	542	14	0,1
El Valle	1799	52	0,3
Rurales			
Chantaco	58	1	0
Chuquiribamba	1658	43	0,3
El Cisne	443	19	0,1
Gualel	1171	30	0,2
Jimbilla	960	25	0,2
Malacatos	950	25	0,2
Quinara	77	2	0
San Lucas	1680	44	0,3

Santiago	1805	48	0,3
S. Padro de Vilcabamba	68	1	0
Taquil	632	17	0,1
Vilcabamba	1116	29	0,2
Yangana	1255	33	0,2

Fuente: investigación directa.

3.2.6 Recolección de Muestras de Leche

Las muestras se recolectaron directamente del pezón, realizando la respectiva antisepsia con algodón y alcohol a 70°, que se preparó en la siguiente proporción: 300 ml de alcohol de 96° + 100 ml de agua destilada, desechamos los tres primeros chorros de leche y procedemos a coleccionar la muestra 8 ml en tubos esterilizados con cierre hermético, los cuales se ponía la identificación de la vaca y el lugar, posteriormente se colocaba en un vial criogénico para llevarlo al laboratorio del Centro de Biotecnología de la UNL, para su respectivo análisis.

Los datos obtenidos en campo fueron anotados en un registro los cuales se verifico si coincidían con la identificación de la muestra en el laboratorio.

3.2.7 Almacenamiento de las muestras

Una vez llegada las muestras de leche fueron depositadas en un congelador a – 10°C para luego realizar su análisis previo a una descongelación y centrifugación para separar la grasa de la leche.

3.2.8 Preparación de ELISA indirecto

Para ello se utilizo el kit IDEXX BVDV Total Ab es un inmunoensayo enzimático indirecto necesario para detectar anticuerpos específicos de BVDV en muestras de suero, plasma y leche. El ensayo consiste una

técnica de ELISA indirecta donde se utilizan placas de micro titulación tapizadas con antígenos de BVDV.

El mismo consta de los siguientes reactivos:

Cuadro 3. Reactivos del kit de EIISA INDIRECTO.

Reactivos.	Volumen
1. Placas tapizadas con antígeno BVDV.	5
2. Control positivo.	1.0 ml
3. Control negativo.	1.0 ml
4. Diluyente de la muestra.	60 ml
5. Diluyente de la muestra.	60 ml
A Substrato TMB n.º12	60 ml
B Solución de frenado n.º 13.	60 ml
C Solución de lavado concentrado. (10x)	480 ml.

Fuente: Manual IDEXX.

3.2.8.1 Preparación de reactivos

a) Solución de lavado.

La solución de lavado concentrada (10x) debe alcanzar de 18-26°C y debe agitarse para asegurar la solución de posibles precipitados. La solución de lavado concentrada debe diluirse de 1 a 10 con agua destilada / des ionizada antes de su uso (ejemplo 30 ml concentrado + 270 ml de agua por placa a analizar). Preparándose en condiciones estériles, la condición de lavado puede almacenarse durante una semana.

b) Preparación de las muestras

Se trabajó con un número de 394 muestras de leche las cuales estuvieron almacenadas en congelación, con el fin de conservarlas para después ser analizadas con el método de ELISA.

3.2.8.2 Protocolo de ensayo

Se verifico que los reactivos hayan alcanzado 18 a 26 °C para empezar la prueba, la leche antes fue sometida a centrifugación, y otras muestras fueron dejadas en refrigeración con el fin de separar la grasa de la leche.

Se utilizó una punta de pipeta por cada muestra, sustrayendo la misma por debajo de la capa de grasa.

Se siguió el siguiente procedimiento

1. Se tomó las placas tapizadas y marcamos la posición de las muestras en una hoja de trabajo.
2. Se añadió 100 µl de Diluyente de la muestra solo en los pocillos duplicados para el control negativo y control positivo.
3. Se añadió 25 µl de control negativo en los pocillos apropiados.
4. Se añadió 25 µl de control positivo en los pocillos apropiados.
5. Se añadió 100 µl de las muestras de leche sin diluir (tomadas por debajo de la capa de grasa) en los pocillos restantes. Continúe en el paso 6 de la selección protocolo del ensayo.
6. Se mezcló el contenido de los pocillos mediante un agitador.
7. Se incubo durante 90 minutos (+- 5 minutos) a 18-26°C en la incubadora, antes de ello las placas las sellamos firmemente para evitar evaporizaciones o algún tipo de contaminación.
8. Luego de ello se aspiró los contenidos líquidos de los recipientes en un reservorio apropiado.
9. Se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 5 veces. Aspiramos los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Tras la aspiración final, eliminamos el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola firmemente sobre material absorbente.
10. Se dispersó 100 µl de conjugado en cada pocillo.
11. Se incubo durante 30 minutos (+- 2 minutos) a 18-26 °C.
12. Se repite los pasos 8 y 9.
13. Se dispersó 100 µl del substrato TMB n° 12 en cada pocillo.

14. Se incubó 10 minutos (+/- minuto) a 18-26 °C en oscuridad. Comenzamos a cronometrar después de llenar el primer pocillo.
15. Se colocó 100 µl de la solución de frenado n°3 en cada pocillo para frenar la reacción. Añadimos la solución de frenado en el mismo orden en que la solución de sustrato fue añadida en el paso 13.
16. Se calibró el espectrofotómetro y preparamos el programa Gen 5.
17. Se midió y se anotó la absorbencia de las muestras y controles a 450 nm.

3.2.8.3 Cálculo de los resultados

Para que el ensayo sea válido, la diferencia (M-N) entre la media de control positivo (CP \bar{x}) y la media del control negativo (CN \bar{x}) debe ser mayor o igual a 0.150 de densidad óptica (DO). Además la media del control del negativo (CN \bar{x}) debe ser menor o igual a 0.250 DO. Para los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica y el ensayo debe repetirse siguiendo una revisión meticulosa del producto.

La presencia o ausencia de anticuerpos BVDV en la muestra se determina mediante el cociente M/P de cada muestra. Se utilizaron las siguientes fórmulas.

Calculo de la media del control negativo

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A 450 + CN2 A 450}{2}$$

Calculo de la media del control positivo

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A 450 + CP2 A 450}{2}$$

Cociente M/P

$$M/P = \frac{\text{muestra A450} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

Fuente: Manual del kit IDEXX BVDV Total Ab

En esta investigación se utilizó el software GEN 5 para la lectura de la D.O mediante un espectrofotómetro y se tomó valores $>$ a 0.30 de cociente M/P.

3.2.9 REGISTRO DE DATOS

Los datos obtenidos se anotaron en registros de campo, para lo cual se tomó en cuenta las parroquias urbanas y rurales del cantón Loja; así como pisos altitudinales, número de partos, razas, sistema de manejo, la bioseguridad, métodos de reproducción y los síntomas a la cual se le añadió los resultados positivos analizados en el laboratorio. (Anexo 1).

3.2.10 VARIABLES

- Prevalencia de acuerdo la parroquia.
- Prevalencia de acuerdo a los Pisos Altitudinales.
- Prevalencia de acuerdo al número de partos.
- Prevalencia de acuerdo a la Raza
- Prevalencia de acuerdo al Sistema de Manejo
- Prevalencia de acuerdo a la Bioseguridad.
- Prevalencia de acuerdo a los métodos de Reproducción.
- Prevalencia de acuerdo a los signos clínicos.

3.2.11 Análisis de resultados

a) Prevalencia de acuerdo la parroquia.- corresponden a las siguientes **Urbanas:** San Sebastián, El Sagrario, Sucre y El Valle.

Rurales: Chantaco, Chuquiribamba, El Cisne, Gualiel, Jimbilla, Malacatos, Quinara, San Lucas, Santiago, San Pedro de Vilcabamba, Taquil, Vilcabamba y Yangana.

b) Prevalencia de acuerdo a los Pisos Altitudinales.-Dentro de los pisos altitudinales se tomará en cuenta la altitud sobre el nivel del mar, se ha dividido en cuatro grupos: desde 1400 m.s.n.m a 1750 m.s.n.m,

1751 m.s.n.m a 2100 m.s.n.m, 2101 m.s.n.m a 2450 m.s.n.m y 2451 m.s.n.m a 2800 m.s.n.m., para esto se contará con la ayuda de un GPS.

- c) Prevalencia de acuerdo al número de partos.-** Para determinar en qué número de parto hay mayor presencia de la enfermedad.

- d) Prevalencia de acuerdo a la Raza.-** se tomaron en cuenta todas las razas que se explotan en el Cantón Loja tales como: Holstein, Brown swiss, Jersey, Criollo, y otras

- e) Prevalencia de acuerdo al Sistema de Manejo.-**Dentro del sistema de manejo se tomara en cuenta el sistema intensivo, semi extensivo y extensivo, para determinar e cuál de estos se presenta e mayor numero la DVB.

- f) Prevalencia de acuerdo a la Bioseguridad.-**En lo que se refiera a la condiciones de higiene y bioseguridad se tomara datos tales como cuarentena, pediluvio, rodoluvio o ninguno.

- j) Prevalencia de acuerdo a los métodos de Reproducción.-**Dentro de los métodos de reproducción que se utiliza: inseminación artificial y monta directa o las dos.

- g) Se analizara la relación entre los signos clínicos de la DVB, como diarrea, estomatitis vesicular que son los principales síntomas de la enfermedad, con los resultados diagnosticados por medio del método ELISA.**

3.2.12 Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante estadística descriptiva en la cual se consideró la frecuencia de cada una de las variables obtenidas en las parroquias del cantón Loja, para lo cual se determinó porcentajes apoyándose en cuadros y figuras para una mejor comprensión.

También se aplicó la siguiente formula fórmula para calcular la prevalencia del Cantón Loja.

$$p = \frac{C_t}{N_t}$$

C_t = número de casos existentes (prevalentes) en un momento determinado.

N_t = número total de individuos en un momento determinado.

4. RESULTADOS

4.1 RESULTADOS POR PARROQUIAS

Aquí consideramos las parroquias del cantón Loja las cuales las representamos en el siguiente cuadro con el número de muestras colectadas, número de muestras positivas, número de muestras negativas y porcentajes.

Cuadro 4. Resultados de las parroquias con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Parroquias	N° Muestras	N. Positivos	%	N° negativos	%
Urbanas					
San Sebastián	17	2	11,8	15	88,2
El Sagrario	1	0	0,0	1	100,0
Sucre	14	1	7,1	13	92,9
El Valle	52	17	32,7	35	67,3
Rurales					
Chantaco	1	0	0,0	1	100,0
Chuquiribamba	43	20	46,5	23	53,5
El Cisne	19	4	21,1	15	78,9
Gualel	30	3	10,0	27	90,0
Jimbilla	23	3	13,0	20	87,0
Malacatos	22	6	27,3	16	72,7
Quinara	2	1	50,0	1	50,0
San Lucas	44	6	13,6	38	86,4
Santiago	46	15	32,6	31	67,4
S. Padro de Vilcabamba	1	0	0,0	1	100,0
Taquil	17	4	23,5	13	76,5
Vilcabamba	29	26	89,7	3	10,3
Yangana	33	6	18,2	27	81,8
	394	114	29	280	71

Fuente: investigación directa

En este estudio se obtuvo un número 114 animales positivos y 280 animales negativos y para conocer el porcentaje de prevalencia del Cantón Loja aplicamos la siguiente fórmula. La misma que es del 29%.

$$p = \frac{Ct}{Nt}$$

$$p = \frac{114}{394}$$

$$p = 29\%$$

De acuerdo con los resultados del cuadro cuatro se aprecia que la parroquia de Vilcabamba posee el porcentaje más alto de todas las parroquias estudiadas con un 89,7% seguida por la parroquia Chuquiribamba con un 46,5%, la parroquia El Valle con un 32,7% y la parroquia Santiago con un 32,6% el resto de parroquias posee un porcentaje por debajo de estas cifras.

En la siguiente figura representamos el resultado de todas las parroquias con sus respectivos porcentajes.

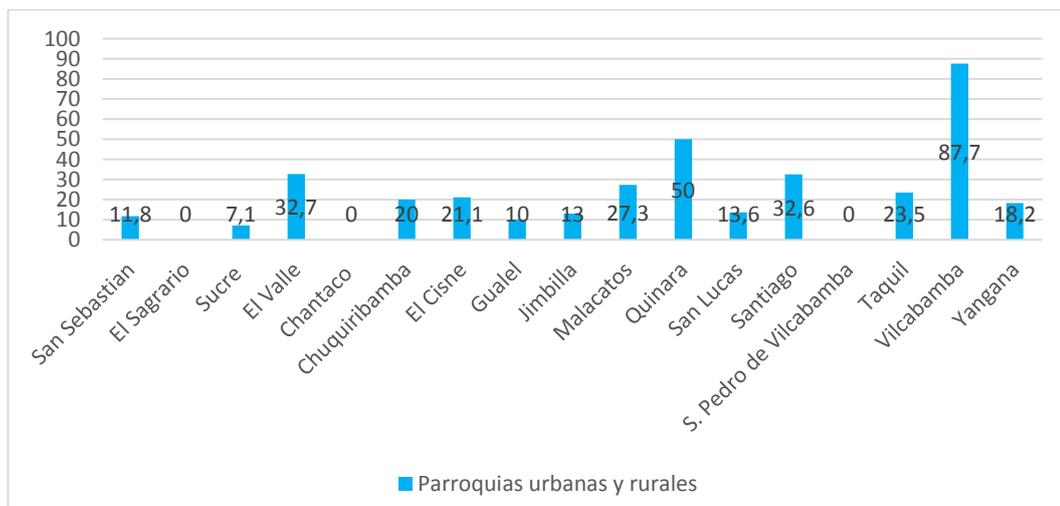


Fig. N° 2 Resultados porcentuales de acuerdo a las parroquias.

4.2 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS PISOS ALTITUDINALES

Aquí consideramos los pisos altitudinales a los cuales pertenecen las parroquias que se realizó el estudio, los mismos hemos agrupado de la

siguiente forma 1400 a 1750, 1751 a 2450 y 2451 a 2800 estos están representados en el siguiente cuadro con sus respectivos resultados.

Cuadro 5. Resultados de acuerdo a los pisos altitudinales con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes

Pisos Altitudinales	Parroquias	N° de Vacas	Positivas	%	Negativas	%
1400 a 1750	Malacatos Quinara San Pedro de Vilcabamba Vilcabamba	53	32	60,4	21	39,6
1751 a 2450	El Valle El Cisne Chantaco Jimbillla San Sebastian San Lucas Santiago Sucre Taquil Yangana	267	59	22,1	208	77,9
2451 a 2800	Chuquiribamba Gualel	74	23	31,1	51	68,919
	Total	394	114	29%	280	71%

Fuente: investigación directa.

En el cuadro cinco las vacas de las parroquias con pisos altitudinales desde 1400 a 1750 msnm presentaron el más alto porcentaje de positividad con un 60,4%, seguido por las de 2451 a 2800 msnm con un 31,1% y las vacas pertenecientes a parroquias con pisos altitudinales desde 1751 a 2450 msnm obtuvieron un porcentaje de 21,1% los mismos se presentan en la siguiente figura.

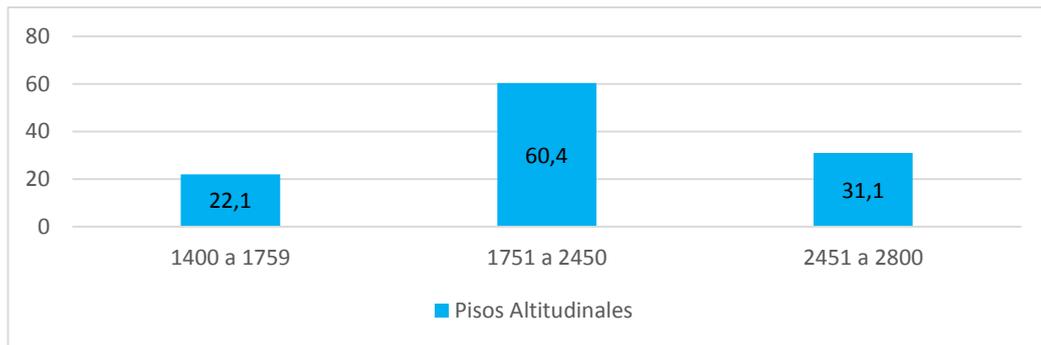


Fig. N°3 Resultados porcentuales de acuerdo a los pisos altitudinales.

4.3 PREVALENCIA POR EL NÚMERO DE PARTOS

Aquí se considera los números de partos de bovino el cual se ha agrupado de 1 a 3 partos de 4 a 6 partos y de 7 a 9 partos tal como se presenta en el siguiente cuadro con sus respectivos resultados y porcentajes.

Cuadro 6. Resultados de acuerdo al número de partos con muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Número de Partos	N° de vacas	positivas	%	negativas	%
1 a 3	261	73	28,0	188	72,0
4 a 6	120	34	28,3	86	71,7
7 a 9	13	7	53,8	6	46,2
Total	394	114	29	280	71

Fuente: investigación directa.

De acuerdo con el cuadro seis las vacas con partos de 7 a 9 presentaron un alto porcentaje de positividad siendo del 53,8%, las vacas con 4 a 6 partos presentaron un 28,3% casi igual las primeras y las vacas de 1 a 3 partos con un porcentaje de 28%, los cuales están representados en la siguiente figura.

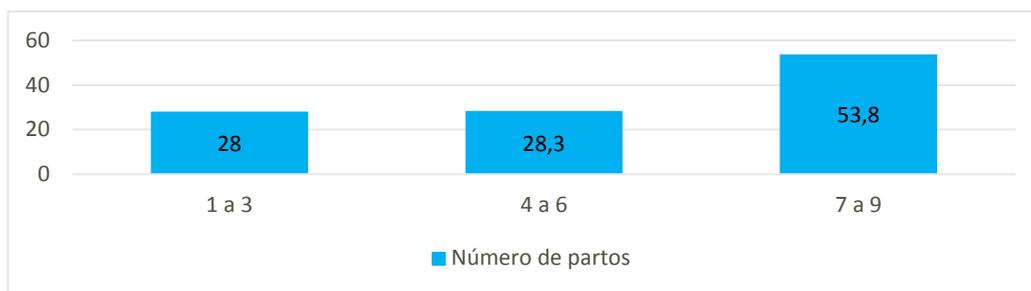


Fig. N° 4 Resultados porcentuales de acuerdo al número de partos.

4.4 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA RAZA

Se tomó como base las razas Holstein, Brown Swiss, Jersey, cabe recalcar que algunas estas razas en ciertas zonas han pasado por procesos de mestizaje los cuales consideró como Holstein mestizo, Brown Swiss mestizo y los animales propios de la zona se denominaron como Criollos.

Cuadro 7. Resultados de acuerdo a las razas con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Raza	N° de vacas	Positivos	%	Negativas	%
Holstein	104	47	45,2	57	54,8
H. mestizo	230	53	23,0	177	77,0
B. swis	28	6	21,4	22	78,6
B. swis mestizo	22	6	27,3	16	72,7
Criollo	9	2	22,2	7	77,8
Jersey	1	0	0,0	1	100,0
Total	394	114	29	280	71

Fuente: investigación directa.

De acuerdo con el cuadro siete la raza Holstein presento el porcentaje más alto de positividad con un 45,2%, seguido el tipo Brown Swis mestizo con un 27,3%, el tipo Holstein Mestizo presento un porcentaje del 23%, en cuanto a las vacas Criollas presento un 22% mientras que las vacas de raza Jersey fue del 0%. Lo cual hemos representado en la siguiente figura.

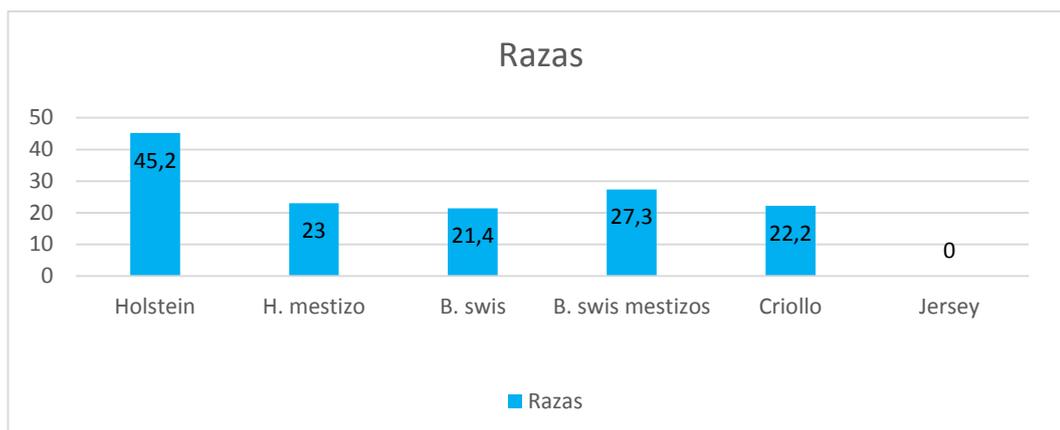


Fig. N° 5 Resultados porcentuales de acuerdo a las razas

4.5 PREVALENCIA DE ACUERDO AL SISTEMA DE MANEJO

El sistema de manejo que se da en cada granja se describe como intensivo, semi extensivo y extensivo, el cual se presenta en el siguiente cuadro con sus respectivas frecuencias y resultados.

Cuadro 8. Resultados de acuerdo al sistema de manejo con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Manejo	N° Vacas	Positivas	%	Negativas	%
Intensivo	0	0	0	0	0
semi extensivo	136	51	37,5	85	62,5
extensivo	258	63	24,4	195	75,6
Total	394	114	29	280	71

Fuente: investigación directa.

Los resultados en esta variable en el cuadro ocho el manejo semi extensivo tiene el más alto porcentaje de positividad con 37,5% seguido por el manejo extensivo con un 24,4%, en cuanto al sistema intensivo no existió en las zonas estudiadas, todo esto está representado en la siguiente figura.

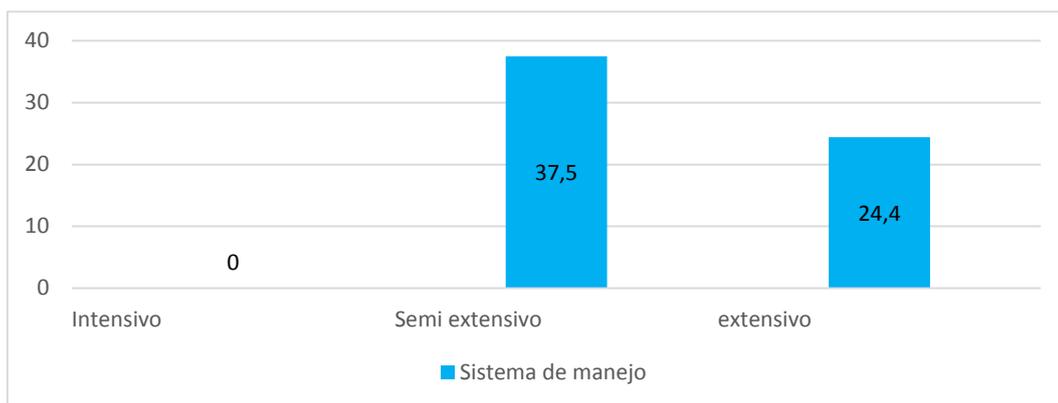


Fig.6 Resultados porcentuales de acuerdo a los sistemas de manejo

4.6 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD

Las normas de bioseguridad que posee cada granja tales son consideradas en esta variable como cuarentena, pediluvio, rodiluvio, pudiendo tener alguna de ellas o ninguna las cuales se presentan en el siguiente cuadro.

Cuadro 9. Resultados de acuerdo a las normas de bioseguridad con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Bioseguridad	N° de vacas	Positivas	%	Negativas	%
Cuarentena	0	0	0,0	0	0,0
Pediluvio	15	4	26,7	11	73,3
Rodiluvio	0	0	0,0	0	0,0
Ninguna	259	63	24,3	196	75,7
Cuarentena y Pediluvio	120	47	39,2	73	60,8
Total	394	114	29,0	280	71,0

Fuente: investigación directa.

De acuerdo con el cuadro nueve se observa que las granjas que contaban con cuarentena y pediluvio las vacas tuvieron el más alto porcentaje de positividad de 39,2%, seguida de granjas que poseían pediluvio 26,7%, mientras las granjas que no poseían ninguna norma de bioseguridad obtuvo el 24,3%, cabe mencionar que las granjas en que se estudió el virus ninguna poseía rodiluvio y la cuarentena estaba siempre acompañada con pediluvio.

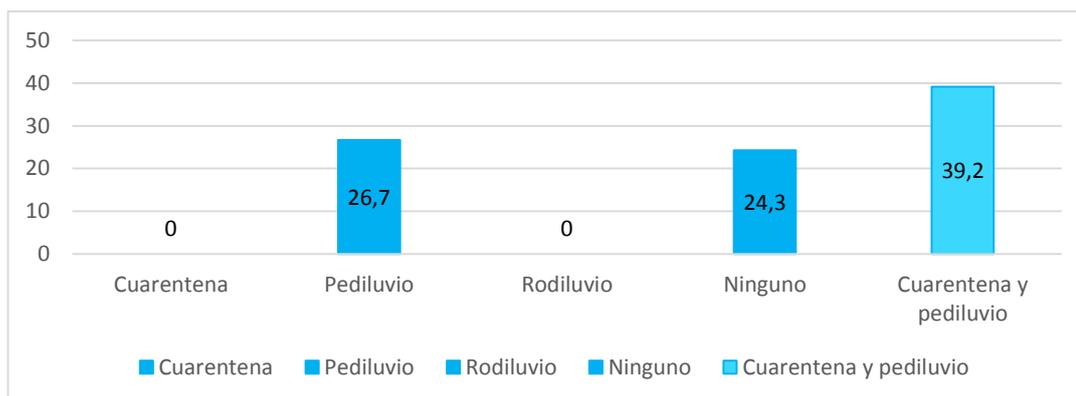


Fig. N° 7 Resultados porcentuales de acuerdo a las normas de bioseguridad.

4.7 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS MÉTODOS DE REPRODUCCIÓN

Los métodos de reproducción como es la I.A, monta natural o las dos, las cuales se representa en el siguiente cuadro con sus respectivos resultados.

Cuadro 10. Resultados de los métodos de reproducción con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Métodos de reproducción	N° de Vacas	Positivas	%	Negativas	%
I.A	72	37	51,4	35	48,6
M.N	291	70	24,1	221	75,9
I.A y M.N	31	7	22,6	24	77,4
Total	394	114	29	280	71

Fuente: investigación directa.

De acuerdo con el cuadro diez los animales que son sometidos a inseminación artificial (I.A) son los que obtuvieron el más alto porcentaje con el 51,4%, seguido por la monta natural (M.N) con un 24,1% y las granjas que utilizaban los dos métodos de reproducción anteriormente mencionados obtuvieron un porcentaje de positividad del 22,6%, que se esquematiza en la siguiente figura.

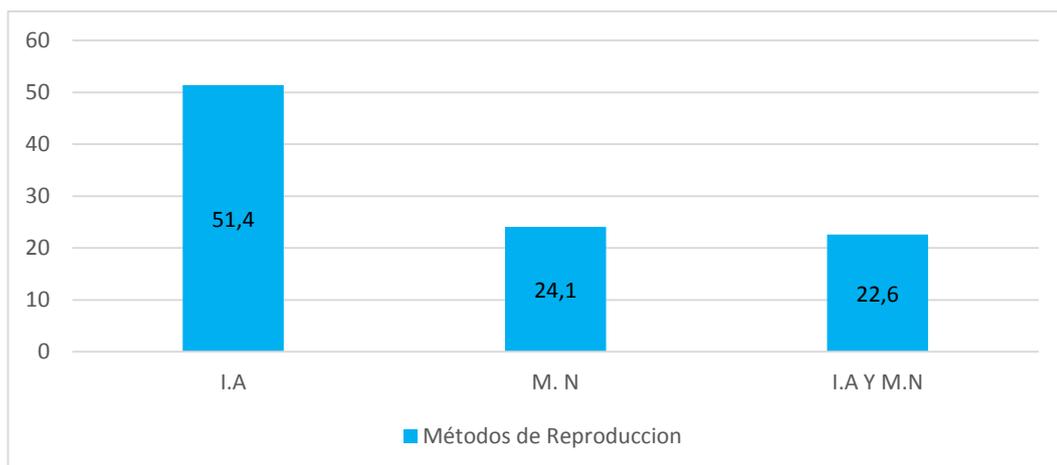


Fig. N°8 Resultados porcentuales de acuerdo a los métodos de reproducción.

4.8 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SÍNTOMAS.

Los síntomas más comunes que presenta la enfermedad tales como estomatitis, diarrea, abortos, secreción nasal, secreción ocular son tomados en cuenta en esta variable. En algunos de los casos las vacas estudiadas no presentaron todos los síntomas y otras ninguno, todo se presenta en el siguiente cuadro.

Cuadro 11. Resultados de acuerdo los síntomas con número de muestras positivas, negativas y sus porcentajes.

Síntomas	N° Vacas	Positivas	Porcentaje	Negativas	Porcentaje
Estomatitis	3	0	0	3	100
Diarrea	15	2	13,3	13	87
Abortos	0	0	0	0	0
Secreción Nasal	25	9	36	16	64
Secreción Ocular	156	35	22,4	121	78
Infertilidad	0	0	0	0	0
Ninguna	161	63	39,1	98	61
Diarrea y Secreción Nasal	3	0	0	3	100
Diarrea y Secreción Ocular	9	2	22,2	7	78
Secreción Nasal y Secreción Ocular	12	3	25	9	75
Secreción Ocular e Infertilidad	3	0	0	3	100
Secreción ocular y Abortos	3	0	0	3	100
Diarrea, Secrecion Nasal y Secrecion Ocular	4	0	0	4	100
Total	394	114	29	280	71

Fuente: investigación directa.

En el cuadro 11 los animales que no presentaron ninguna sintomatología obtuvieron el más alto porcentaje de 39,1%, seguida por las vacas que presentaron secreción nasal con un 36% y secreción ocular con un 22,4% mientras las vacas que tenían diarrea su porcentaje fue. En cuanto a vacas q presentaban diarrea su porcentaje fue de 13,3%. Cabe recalcar que hubieron vacas que presentaron más de un síntoma tales como secreción nasal y secreción ocular con un 25%, diarrea y secreción ocular con 13,3%. En algunos casos los síntomas que se presentaron en las vacas no fueron indicativos que el animal presente la enfermedad todo ello hemos representado en la siguiente figura.

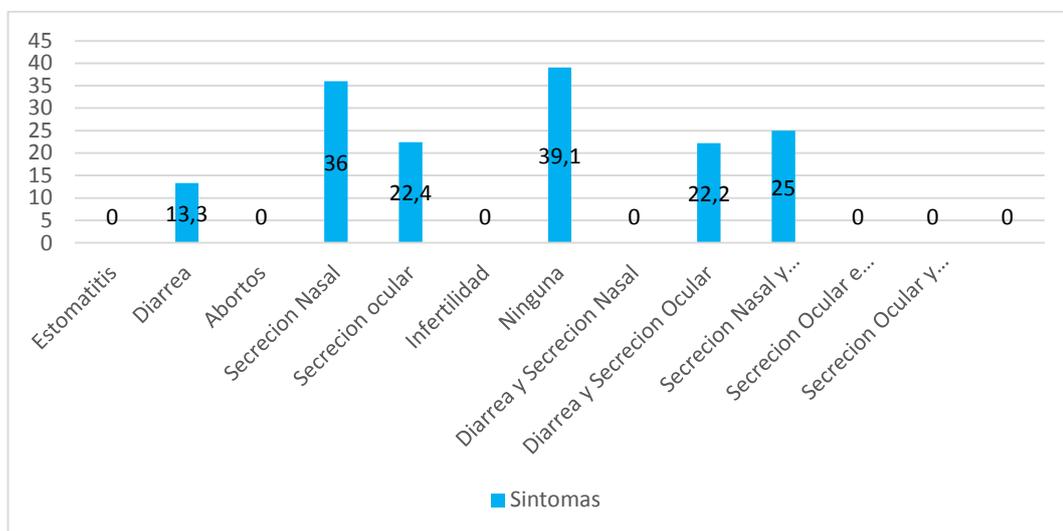


Fig. 9 Resultados porcentuales de acuerdo a los síntomas.

5. DISCUSIÓN

5.1 PREVALENCIA DE ACUERDO A LAS PARROQUIAS

Según los resultados de esta investigación en el cantón Loja existe una seroprevalencia total de vDVB del 29% en vacas lecheras que tiene más de una cría, siendo la parroquia de Vilcabamba la que más alto porcentaje obtuvo dentro del cantón con un 87,7% seguida por la de Quinara con un 50% y la Parroquia Santiago con un 32,6% estos resultados son diferentes a los publicados por Sánchez (2014) datos que fueron con muestras de sangre y animales mayores a dos años de edad donde fueron otras parroquias las que tuvieron más alto porcentaje y también superiores a los estudios realizados por investigadores de la UTPL (Saa Luis, et al 2008) sobre el vDVB en la provincia de Loja los cuales presentaron una prevalencia para DVB del 16,07 %

Tomando en cuenta los resultados anteriores y actuales la seroprevalencia de vDVB está aumentando, debido a que esta enfermedad en muchos casos es subclínica, es decir asintomática diseminándose fácilmente, siendo casi imperceptible por el ganadero o el mismo veterinario y la falta de estudios serológicos de rutina de esta enfermedad que a veces no son realizados por su alto costo.

5.2 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS PISOS ALTITUDINALES

Las vacas de pisos altitudinales de 1400 a 1750 resultaron ser más susceptibles al virus con un 60,4 %. Considerando estos resultados el vDVB se encuentra en gran medida en sitios donde la altura es moderadamente baja y por ende la temperatura es alta provocando en la vaca que el estado su salud se vea debilitado a causa del estrés calórico ya que según estudios hechos por el departamento de Producción Animal de la Universidad de León (2008) donde se explica que al haber estrés

calórico hay una alteración de la función inmunológica que en tal situación acontece, más concretamente en una reducción en la producción de leucocitos y linfocitos que propicia la activación de virus latentes y favorece la instalación de infecciones bacterianas secundarias.

5.3 PREVALENCIA DE ACUERDO AL NÚMERO DE PARTOS

En vacas entre 7 a 9 partos presentaron un alto porcentaje de positividad con un 53,8% en comparación con las vacas de menos partos, que tienen menor tendencia a estar contagiadas del virus, discrepando con estudios realizados por Riviera et al (2001) donde destaca que los animales jóvenes son más susceptibles a contagiarse del virus al igual que investigaciones realizadas por Sánchez (2014) donde también se encontró que los animales jóvenes son más susceptibles a contraer la enfermedad. En cuanto a las vacas de más de mayor número de partos es decir de mayor edad pueden tener infecciones de tipo subclínica las mismas que pudieron pasar por desapercibidas por el ganadero o el médico veterinario donde se desarrollan anticuerpos neutralizantes 14 a 28 días pos infección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida según Fredriksen B, Sandvik T, Loken T, Odegaard SA. (1999).

5.4 PREVALENCIA DE ACUERDO A LAS RAZAS

Las vacas de raza Holstein obtuvieron el más alto porcentaje de positividad frente a anticuerpos contra el vDVB con un 45,2% mientras que las vacas Brown Swiss mestizo presentaron un 27,3% en el caso de las vacas tipo Holstein Mestizo presento un porcentaje del 23%, en cuanto a las vacas Criollas presentaron un 22% mientras que las vacas de raza Jersey fue del 0%. Considerando estos resultados se diría que las vacas Holstein y Brown Swis con sus respectivos mestizos son las que en mayor número se encuentran en las ganaderías lecheras, la mayoría de ellas han pasado por procesos de mestizaje con el fin de mejorar su genética y por ende la producción de leche en la granja y para ello pudieron haber ingresado animales de otros sitios con el fin de realizar esta actividad y

sabiendo que el 70% o más de bovinos infectados con el vDVB desarrollan la enfermedad subclínica (Houe, 1995), pero eliminan virus por sus secreciones, por lo que un bovino infectado subclínicamente puede ser transportado de un lugar a otro y como es el caso de algunas ganaderías que no vacunan para la enfermedad de diarrea viral bovina estos animales pudieron ser contagiados. En cuanto a las vacas Jersey su porcentaje de positividad fue bajo ya que no se encuentran en mayor cantidad en hatos lecheros del cantón Loja.

Considerando las vacas criollas ya que ellas forman en gran parte de los hatos lecheros las cuales tuvieron un porcentaje destacable del 22%, es debido a que estas están sometidas a manejo inadecuados los mismos que fueron observados durante esta investigación lo cual amerita a que también se contagien de la enfermedad concordando con investigaciones realizadas por Rivera et al (2001) donde se dice que un 70% de los animales criollos son más susceptibles a la enfermedad.

5.5 PREVALENCIA DE ACUERDO AL TIPO DE MANEJO

Las vacas sometidas al manejo semiextensivo y extensivo obtuvieron el más alto porcentaje de positividad la primera con 37,5% y la segunda con un 24.74%. Considerando los resultados anteriores diríamos que los sistemas extensivo y semiextensivo son los que mayormente se utiliza en las ganaderías Lojanas, donde no existe el cuidado adecuado de los animales, con un reducido capital de explotación, normalmente con áreas mermadas de recursos forrajeros. Con ello concordamos con la primera parte de una investigación realizada por Aguilar et al (2006) en la cual se dice que los animales más susceptibles a adquirir la enfermedad son aquellos manejados en una crianza extensiva o semiextensiva constituidos por pocos animales.

5.6 PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD

Las granjas que contaban con normas de bioseguridad al igual que las que no contaban con las mismas obtuvieron un porcentaje de positividad similar considerando estos resultados concordamos con un estudio

realizado por Njaa et al, (2000) y Polak y Zmudzinski, (1999), donde se dice que en el caso de la zona de cuarentena podrían ingresar animales portadores del virus ya que no presentan síntomas como son los PI el mismo que podría pasar por desapercibido y puede contagiar al resto de animales con ello diríamos que los animales PI, juegan un rol importante como la fuente principal de diseminación del vDVB, y por ende de la infección.

5.7 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS MÉTODOS DE REPRODUCCIÓN

Las vacas lecheras que fueron sometidas a Inseminación Artificial fueron las que más porcentaje de positividad obtuvieron con un 51,4%, con respecto a animales manejados con Monta Natural la positividad fue menor con un 24,1% pero cabe recalcar que hubo granjas que utilizaban los dos métodos de reproducción y el porcentaje de positividad fue menor a todas con un 22,6%. Considerando estos resultados se determina que la inseminación artificial en estos casos ha sido un método de reproducción en los cuales los animales se han visto afectados. Todo ello depende de donde provengan las dosis seminales ya que puede haber industrias con un mal control sanitario y con esto la comercialización de germoplasma pueden ser potenciales medios de transmisión si provienen de toros positivos a la enfermedad, coincidiendo con publicaciones hechas por Grahn TC, Fahning ML, Zenjanis R (1984) donde destacan que el semen del toro infectado durante la etapa fetal o de toros con infección aguda, contiene virus BVD afectando a la fertilización, caracterizándose por repeticiones de celo e incrementando entonces el número de servicios por concepción.

5.8 PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SÍNTOMAS

La mayoría de los animales estudiados que fueron positivos no presentaron síntomas con un 39,1 %, pero cabe recalcar que hubo un 36, % que si presentaron síntomas como secreción nasal y un 25% de

síntomas asociados de secreción nasal y secreción ocular. Considerando estos resultados pudo ser debido a que tenían una forma subclínica de la enfermedad donde los síntomas son casi imperceptibles concordando con estudios hechos por Baker, 1987 donde indica que 70 a 90% del ganado adulto susceptible puede presentar la DVB subclínico. El periodo de incubación es de 5 a 7 días aproximadamente luego de lo cual se presenta una ligera fiebre y leucopenia, donde pueden estar abarcados los síntomas que encontramos en las vacas estudiadas, síntomas, que usualmente no son notados por el veterinario o ganadero siendo esto seguido por una producción de anticuerpos neutralizantes pero eliminan virus por sus secreciones, por lo que un bovino infectado subclínicamente puede ser transportado de un lugar a otro sin darse cuenta que este enfermo.

Además según Deregt D, Loewen KG (1995) los Pestivirus se dividen en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte celular, los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. Por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar infección persistente. Con todo ello diríamos que en nuestra investigación se encontró en la mayoría de los casos el biotipo NCP.

6. CONCLUSIONES

Considerando los estudios anteriores nos fundamentamos para expresar las siguientes conclusiones.

- En el cantón Loja se encontramos una seroprevalencia del 29% en vacas lecheras que tiene más de una cría, siendo la parroquia de Vilcabamba la que más alto porcentaje posee (89,7%), seguida de la parroquia de Quinara (50%), y la parroquia Santiago (32,6%) El resto de parroquias tienen un porcentaje menor.
- Las vacas que habitan en lugares donde los pisos altitudinales son moderadamente bajos entre 1400 a 1750 msnm fueron las más susceptibles a presentar la enfermedad (60,4%), siendo menor en pisos altitudinales altos 2451 a 2800 msnm (31,1%) y 1751 a 2450 (21,1%).
- Considerando el número de partos las vacas entre 7 a 9 partos tiene mayor tendencia a estar contagiadas del vDVB (53,8%), siendo menor en vacas de 4 a 6 (28,3%) y 1 a 3 partos (28%).
- La raza Holstein es la más susceptible a contraer el virus (45,2%), seguido el tipo Brown Swis mestizo (27,3%), en el resto de razas y sus mestizos incluida las vacas criollas es menor, en el caso de las vacas Jersey fue inexistente.
- Vacas sometidas al manejo semi extensivo tienen mayor tendencia a contraer el virus (37,5%) seguido por el manejo extensivo (24,4%), en cuanto al sistema intensivo no existió en la zonas estudiadas.
- Las granjas que a pesar de tener normas de bioseguridad se vieron afectadas por la presencia del vDVB, granjas con cuarentena y pediluvio las vacas tuvieron el más alto porcentaje de positividad de (39,2%), seguida de granjas que poseían pediluvio (26,7%), mientras las granjas que no poseían ninguna norma de

bioseguridad obtuvo el (24,3%) pudiendo ser debido a animales PI.

- En cuanto al método de reproducción la prevalencia del vDVB es mayor en granjas donde se realiza IA (51,4%) mientras que en granjas donde se realiza MN la prevalencia es menor (24,1%), también existieron granjas donde se practica los dos métodos IA Y MN donde los resultados fueron inferiores a los anteriores (22,6) con todo ello todos los métodos de reproducción pueden ser un medio de contagio en gran medida si no existen adecuadas normas sanitarias.
- Los animales que no presentaron ninguna sintomatología fueron los que mayormente presentaron anticuerpos frente al virus (39,1%) seguido de animales que presentaron secreción nasal (36%) y síntomas asociados como secreción ocular y secreción nasal (25%) existiendo asociación significativa entre los síntomas de los animales y la presencia de anticuerpos contra el VDVB pero en la mayoría de los casos pudo ser una infección subclínica.

7. RECOMENDACIONES

- Elaborar un calendario de vacunas en forma estratégica y sistemática, es decir, como una medida de bioseguridad y conjuntamente con la detección de animales PI mediante otros análisis de laboratorio y vigilancia permanente.
- Considerar la necesidad de estudios adicionales sobre la eficacia y seguridad de las vacunas, sobre todo, considerando la diversidad antigénica de las cepas del VDVB de campo.
- Al momento de adquirir dosis seminales para la IA en las vacas hacerlo en empresas donde garanticen que el toro reproductor haya pasado por rigurosos análisis de laboratorio con el fin de evitar el contagio de esta enfermedad por medio de esta vía.
- Incentivar a los ganaderos por medio de charlas didácticas acerca de la enfermedad con el fin de concientizarlos y así disminuir la presencia de la enfermedad.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR R, BENITO A, RIVERA H. 2006. Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle de Lima. *RevInvVet Perú* 17(2):148–153.
- BAKER, J.C. 1987. Bovine viral diarrhea virus: A review, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190: 1449-1458.
- BIELESKI L, TALBOT SJ. 2001. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus vCyclin open reading frame contains an internal ribosome entry site. *J Virol* 75: 1864-1869.
- BOLIN, S.R., J.F. RIDPATH. 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves, *Am. J. Vet. Res.* 53: 2157-2163.
- BROCK K, STRINGFELLOW D. 1993. Comparative effects of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhea on bovine blastocysts. *Theriogenology* 39: 196 (Abstr).
- BROWNLIE J. 1990. The pathogenesis of bovine virus diarrhea virus infections. *Rev Sci Tech (OIE)* 9: 43-59.
- BRUSCHKE CJM, HULST MM, MOORMANN RJM, VAN RIJN PA, VAN OIRSCHT JT. 1997. Glycoprotein E of pestivirus induces apoptosis in lymphocytes of several species. *J Virol* 71: 6692-6696.
- MEYERS G, THIEL H-J. 1996. Molecular characterization of pestiviruses. *Adv Virus Res* 47: 53-118.
- CANAL WC, STRASSER M, HERTING C, MASUDA A, PETERHANS E. 1998. Detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus and characterization of genomes of BVDV from Brazil. *Vet Microbiol* 63: 85-97.
- CAROPI WV, DONIS RO, DUBOVI EJ. 1990. Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Res.* 51: 1388–1394.
- CHILDS T. 1946. X disease in cattle. *Can J Comp Med* 10: 316-319.
- DEREGT D, LOEWEN KG. 1995. Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease. *can. vet. j.* 36: 371–377.

- DONIS RO. 1995. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. *Vet Clin North Am: Food Anim Practice* 11: 393-423.
- DUBOVI E. J. 2013. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals* 41: 8 – 13.
- FREDRIKSEN B, SANDVIK T, LOKEN T, ODEGAARD SA. 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 144: 111–114.
- FULTON, R.; J. RIDPATH; A. CONFER; J. SALIKI; L. BURGE; M. Payton. 2003. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *Biologicals* 31: 89-95.
- GRAHN TC, FAHNING ML, ZEMJANIS R. 1984. Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *JAVMA* 185: 429–432.
- HOUE H, MEYLING A. 1991. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in 19 Danish dairy herds and estimation of incidence of infection in early pregnancy. *Prev Vet Med* 11: 9-16.
- HOUE H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: 521–547.
- HOUE H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89–107.
- JANG SK, KRAUSSLICH HG, NICKLIN MJH, DUKE GM, PALMENBERG AC, WIMMER E. 1988. A segment of the 5' nontranslated region of encephalomyelocarditis virus ARNA directs internal entry of ribosomes during in vitro translation. *J Virol* 62: 2536-2643.
- KIRKLAND PD, MCGOWAN MR, MACKINTOSH SG, MOYLE A. 1997. Insemination of cattle with semen from a bull transiently infected with pestivirus. *Vet Rec* 140: 124-127.
- REVISTA EL AGRO. 2013. Diarrea vírica: Una enfermedad expandida en granjas ecuatorianas. Extraído desde: <http://www.revistaelagro.com/2013/08/13/diarrea-virica-una-enfermedad-expandida-en-granjas-ecuatorianas/> Acceso: 2013-03-24

- LAAMANEN UI, NEUVONEN EP, YLIVIUHKOLA EM, VEIJALAINEN PML. 1997. Comparison of RT–PCR assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in field samples. *Res. Vet. Sci.* 63: 199–203.
- SANCHES 2014. Determinacion de Diarrea Viral Bovina en Las Ganaderias del Cantón Loja Por medio del método de ELISA indirecto.
- NETTLETON PF, ENTRICAN G. 1995. Ruminant Pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151: 615–642.
- NJAA BL, CLARK EG, JANZEN E, ELLIS JA, HAINES DM. 2000. Diagnosis of persistent bovine viral diarrhea virus infection by immunohistochemical staining of formalin–fixed skin biopsy specimens. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12: 393–399.
- OH SK, SCOTT MP, SARNOW P. 1992. Homeotic gene antennapedia mRNA contains 5' –noncoding sequences that confer translational initiation by internal ribosome binding. *Gene Dev* 6: 1643-1653.
- OLAFSON P, MACCALLUM AD, FOX A. 1946. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet* 36: 205-213.
- PATON DJ, LOWINGS JP, RAMÍREZ GC. 1994. Stability of the gp53 gene of a bovine viral diarrhoea virus isolated at different times from a persistently infected steer. *Br. Vet. J.* 150: 603–607.
- PATON DJ. 1995. Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112: 215–236.
- PELLERIN C, VAN DEN HURK J, LECOMTE J, TIJSSEN P. 1994. Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreak and high mortalities. *Virology* 203: 260-268.
- POLAK, M.P. Y J.F. ZMUJDZINSKI. 1999. Prevalence of bovine viral diarrhea virus infection in bulls in artificial insemination centers in Poland. *Vet Microbiol* 64:253-257.
- POTGIETER LND. 1995. Immunology of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am: Food Animal Practice* 11: 501-519.
- PRITCHARD G. 2001. Milk antibody testing in cattle. *Farm Anim Pract* 2001: 542-549.

- RAMSEY FK, CHIVERS WH. 1953. Mucosal disease of cattle. *North Am Vet* 34: 629-634.
- REVISTA COLOMBIANA DE CIENCIAS PECUARIAS 2008. Perspectivas para el control del Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV). Extraído desde http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902009000400011
- REVISTA EL AGRO. 2013. Diarrea vírica: Una enfermedad expandida en granjas ecuatorianas. Extraído desde: <http://www.revistaelagro.com/2013/08/13/diarrea-virica-una-enfermedad-expandida-en-granjas-ecuatorianas/> Acceso: 2013-03-24
- RIDPATH JF. 2005. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: impact of biotype and genotype on U.S control programs. *Prev Vet Med* 72: 17-30.
- RIDPATH JF, BOLIN SR. 1991. Antigenic and genomic comparison between non-cytopathic and cytopathic bovine viral diarrhoea virus isolated from cattle that had spontaneous mucosal disease. *J Gen Virol* 72: 725-729.
- SANDVIK T. 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.* 64: 123–134.
- STAHL K, RIVERA H, VAGSHOLM I, MORENO-LÓPEZ J. 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Perú. *Prev Vet Med* 56: 193-202.
- SOLUCIONES ELISA PROTOCOLO Y TÉCNICAS. Extraído desde: www.cultek.com
- TAUTZ N, MEYERS G, THIEL H-J. 1998. Pathogenesis of mucosal disease, a deadly disease of cattle caused by a pestivirus. *Clin Diagn Virol* 10: 121-127.
- TIZARD I. 2002. *Inmunología veterinaria*. 6ª ed. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana. 517 p.
- VANROOSE G, DE KRUIF A, VAN SOOM A. 2000. Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 131–143.

- WARD P, MISRA V. 1991. Detection of bovine viral diarrhea virus, using degenerate oligonucleotide primers and the polymerase chain reaction. *Am. J. Vet Res.* 52: 1231–1236.
- WOLFMEYER A, WOLF G, BEER M, STRUBE W, HEHNEN HR, SCHMEER N, KAADEN OR. 1997. Genomic (5'-URT) and serologic differences among German BVDV field isolates. *Arch Virol* 142: 2049-2057.

9. ANEXOS

Anexo 1. Registro de los bovinos con sus respectivos datos y resultados de acuerdo a la prueba de ELISA.

# muestra	N del Propietario	Parroquia	msnm	Nombre Animal	Areta	Raza	#Partos	intensivo	semi extensivo	extensivo	cuarentena	pediluvio	rodiluvio	Ninguna	M. natural	I.A	estomatitis	diarrea	abortos	secre. Nasal	secre. Ocular	Infertilidad	ninguno	ELISA	VALORES D.O ELISA
1	Mario Jara	Malacatos	1470	negra cachona		B S mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	NEGATIVO	
2	Mario Jara	Malacatos	1470	vaca gemelos		B S mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	si	no	no	no	NEGATIVO	
3	Mario Jara	Malacatos	1470	blanca ceniza grande		B S mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,38
4	Mario Jara	Malacatos	1470	colorada cachona		B S mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	no	NEGATIVO	
5	Mario Jara	Malacatos	1470	colorada negra		B S mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
6	Mario Jara	Malacatos	1470	pintada vieja		B S mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	POSITIVO	1,25
7	Mario Jara	Malacatos	1470	NN		B S mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
8	Mario Jara	Malacatos	1470	pintada		B S mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	no	NEGATIVO	
9	Mario Jara	Malacatos	1470		928	B S mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	POSITIVO	0,37
10	Mario Jara	Malacatos	1470	mulata de manuel		B S mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
11	Mario Jara	Malacatos	1470	mulata de pablo		B S mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	POSITIVO	0,32
12	Felicia Guaman	Malacatos	1470		5309	B S mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
13	Felicia Guaman	Malacatos	1470		8546	B S mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
14	Felicia Guaman	Malacatos	1470		8548	B S mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
15	Felicia Guaman	Malacatos	1470		8550	B S mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	NEGATIVO	
16	Julia Sarmiento	Malacatos	1470		8947	B S mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
17	Julia Sarmiento	Malacatos	1470		8945	B S mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
18	Julia Sarmiento	Malacatos	1470		8979	B S mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
19	Julia Sarmiento	Malacatos	1470		8949	B S mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	NEGATIVO	
20	Julia Sarmiento	Malacatos	1470		8976	B S mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	NEGATIVO	
21	Julia Sarmiento	Malacatos	1470		8880	B S mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	POSITIVO	0,33

56	Clodoveo Montersdeoca	Santiago	2430	pintada 2	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	0,66
57	Clodoveo Montersdeoca	Santiago	2430	manzanilla	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO								
58	Clodoveo Montersdeoca	Santiago	2430	blanca	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,52							
59	Marina Montesdeoca	Santiago	2430	mia	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,36							
60	Marina Montesdeoca	Santiago	2430	cachuda	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO								
61	Marina Montesdeoca	Santiago	2430	cruz blanca	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,34							
62	Celia Maria Castillo	Santiago	2430	pashunga	h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO								
63	Yolanda Ponce	Santiago	2430	flaca	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	NEGATIVO	
64	Yolanda Ponce	Santiago	2430	bonita	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	1,01							
65	Julia Castillo	Santiago	2430	blanca	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO								
66	Julia Castillo	Santiago	2430	chiquita	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,78							
67	Julia Castillo	Santiago	2430	negra pintada	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,86							
68	Tobias Castillo	Santiago	2430	negra	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	2,49							
69	Tobias Castillo	Santiago	2430	mocha	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	NEGATIVO	
70	Tobias Castillo	Santiago	2430	pintada	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	NEGATIVO	
71	Tobias Castillo	Santiago	2430	chiquita	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	NEGATIVO	
72	Daniel Torres	Santiago	2430		51 holstein	4	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
73	Daniel Torres	Santiago	2430		64 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,81						
74	Daniel Torres	Santiago	2430		52 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
75	Daniel Torres	Santiago	2430		58 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
76	Daniel Torres	Santiago	2430		50 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,77						
77	Daniel Torres	Santiago	2430		62 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
78	Daniel Torres	Santiago	2430		55 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
79	Daniel Torres	Santiago	2430		21 holstein	1	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
80	Daniel Torres	Santiago	2430		2408 holstein	1	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
81	Daniel Torres	Santiago	2430		46 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
82	Daniel Torres	Santiago	2430		47 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
83	Daniel Torres	Santiago	2430		65 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	POSITIVO	1,13						
84	Daniel Torres	Santiago	2430		44 holstein	2	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
85	Daniel Torres	Santiago	2430		112 holstein	3	no	si	no	no	si	no	no	si	si	no	NEGATIVO							
86	Maria Guaman	San Lucas	2430	mocha	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
87	Maria Guaman	San Lucas	2430	negra	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	si	no	POSITIVO	1,34

88	Maria Guaman	San Lucas	2430	ploma		criollo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	1,34
89	Maria Guaman	San Lucas	2430	pintada cachona		h. mestizo	8	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	1,34
90	Maria Guaman	San Lucas	2430	mochados		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
91	Maria Guaman	San Lucas	2430	chira		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
92	Maria Guaman	San Lucas	2430	pintada		h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	0,73
93	Claudio Zhunaula	San Lucas	2430	blanca		criollo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
94	Claudio Zhunaula	San Lucas	2430	blanca pequeña		criollo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
95	Juan Gualan	San Lucas	2430	pintada		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
96	Juan Gualan	San Lucas	2430	encereada		criollo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
97	Juan Gualan	San Lucas	2430	pintada crema		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
98	Juan Gualan	San Lucas	2430	negrita pequeña		criollo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
99	Juan Gualan	San Lucas	2430	negra grande		criollo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
100	Maria Amada Guaman	San Lucas	2430	pintada un cacho		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
101	Maria Amada Guaman	San Lucas	2430	pintada cachona		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
102	Maria Amada Guaman	San Lucas	2430	blanca		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
103	Maria Amada Guaman	San Lucas	2430	negra cachona		h. mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
104	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430		779	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
105	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430	cinta blanca		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
106	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430	pintada 6 pzones		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
107	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430		781	h. mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
108	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430		785	h. mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
109	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430		819	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
110	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430		817	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
111	Habel Sarango Guayas	San Lucas	2430	chana		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	NEGATIVO	
112	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	negra		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
113	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	pintada		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
114	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	chiva		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	0,41
115	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	wacha		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
116	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	pintada negra		h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	

117	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	brava		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
118	Maria Antonia Sarango	San Lucas	2430	patoja		h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	si	no	si	no	NEGATIVO	
119	Vicente Andrade	San Lucas	2430	pintada		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
120	Vicente Andrade	San Lucas	2430	blanca		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
121	Vicente Andrade	San Lucas	2430	negra		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
122	Vicente Andrade	San Lucas	2430	mulata		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	si	no	si	no	NEGATIVO	
123	Betty Medina	San Lucas	2430	cachona		h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
124	Carmen Lozano	San Lucas	2430	negra		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
125	Carmen Lozano	San Lucas	2430	fabiola		h. mestizo	7	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
126	Dolores Zhunaula	San Lucas	2430	flaca		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
127	Dolores Zhunaula	San Lucas	2430	panzona		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
128	Dolores Zhunaula	San Lucas	2430	grande		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
129	Dolores Zhunaula	San Lucas	2430	suca		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	POSITIVO	2,22
130	Jorge Pardo	Yangana	2100		8483	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	si	no	si	si	no	NEGATIVO	
131	Jorge Pardo	Yangana	2100		8903	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	si	no	si	si	no	NEGATIVO	
132	Jorge Pardo	Yangana	2100		8460	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	si	no	si	si	no	NEGATIVO	
133	Jorge Pardo	Yangana	2100		8466	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
134	Jorge Pardo	Yangana	2100		8412	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	0,38
135	Jorge Pardo	Yangana	2100		8418	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
136	Jorge Pardo	Yangana	2100		8487	brow swis	3	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
137	Jorge Pardo	Yangana	2100		8462	brow swis	6	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
138	Jorge Pardo	Yangana	2100		8995	brow swis	2	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
139	Jorge Pardo	Yangana	2100		8422	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
140	Jorge Pardo	Yangana	2100		8420	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
141	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		1120	brow swis	5	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
142	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		1023	brow swis	6	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	2,66
143	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		1015	brow swis	6	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
144	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		1158	brow swis	3	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	1,12
145	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		1079	brow swis	4	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
146	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		1157	brow swis	3	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
147	Orlando Valdivieso	Yangana	2100		8452	brow swis	2	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
148	Orlando	Yangana	2100		8409	brow	7	no	si	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	1,42

179	Francel Giron	Jimbilla	1950	pintada 2		h. mestizo	7	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO		
180	Francel Giron	Jimbilla	1950	pita		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	si	NEGATIVO							
181	Francel Giron	Jimbilla	1950	luz		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	si	NEGATIVO							
182	Francel Giron	Jimbilla	1950	ruca		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	si	NEGATIVO							
183	Francel Giron	Jimbilla	1950	negra mañosa		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	si	NEGATIVO							
184	Francel Giron	Jimbilla	1950	chuchona negra		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	NEGATIVO	
185	Francel Giron	Jimbilla	1950	blanca		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	si	NEGATIVO							
186	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1950		512	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,59
187	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5943	holstein	3	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,48
188	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5925	holstein	4	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	1,86
189	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5921	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,67
190	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5920	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
191	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5906	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,92
192	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650	blanca cachona		holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,54
193	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5969	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,96
194	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5971	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,85
195	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5945	holstein	3	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
196	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650	nnnn		holstein	3	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,31
197	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650	cara blanca		holstein	3	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,85
198	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5944	holstein	1	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	1,09
199	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5904	holstein	4	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,9
200	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5919	holstein	6	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	1,67
201	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5916	holstein	4	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
202	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650	negra sin arete		holstein	3	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,36
203	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5941	holstein	2	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,91
204	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		4213	holstein	1	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	1,41
205	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5962	holstein	1	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,7
206	Patricio Valdiviezo	vilcabamba	1650		5942	holstein	6	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	no	si	POSITIVO	0,48

276	Manuel Murquinc ho	El Cisne	2340	pintada		criollo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
277	Mateo Viñamagu a	El Cisne	2340			h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
278	Jose prado	El Cisne	2340		5393	holstein	6	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	si	no	POSITIVO	0,9
279	Jose prado	El Cisne	2340		5362	holstein	6	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
280	Jose prado	El Cisne	2340			holstein	6	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
281	Jose prado	El Cisne	2340		6994	holstein	6	no	si	no	si	si	no	no	no	si	no	no	no	no	no	si	NEGATIVO	
282	Jose prado	El Cisne	2340	blanca pintada		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	si	si	no	NEGATIVO	
283	Jose prado	El Cisne	2340		6989	h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	si	no	no	NEGATIVO	
284	Bolivar Pinta	El Cisne	2340	negra		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
285	Bolivar Pinta	El Cisne	2340	pintada		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
286	Bolivar Pinta	El Cisne	2340		5038	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	0,76
287	Bolivar Pinta	El Cisne	2340	loca		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
288	Bolivar Pinta	El Cisne	2340	manchas		h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	NEGATIVO	
289	Bolivar Pinta	El Cisne	2340	maria		h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	si	no	POSITIVO	2,05
290	Angel Rodolfo Angamarca	Gualel	2520	criolla mulata	1881	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
291	Angel Rodolfo Angamarca	Gualel	2520		9628	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
292	Angel Rodolfo Angamarca	Gualel	2520		1880	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
293	Angel Rodolfo Angamarca	Gualel	2520		1879	h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
294	Angel Rodolfo Angamarca	Gualel	2520		1883	h. mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
295	Luis Porfirio Angamarca	Gualel	2520		9544	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
296	Luis Porfirio Angamarca	Gualel	2520		9537	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
297	Luis Porfirio Angamarca	Gualel	2520		9535	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
298	Luis Porfirio Angamarca	Gualel	2520	calzada		h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
299	Juan Pablo Takuri Tene	Gualel	2520		6672	h. mestizo	5	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	POSITIVO	1,36
300	Jose Clemente Saca	Gualel	2520	chinita		h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	
301	Jose Clemente Saca	Gualel	2520	churuca		h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	NEGATIVO	

302	Luis Aurelio Angamarca	Gualele	2520	Churona	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
303	Luis Aurelio Angamarca	Gualele	2520	colorada	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
304	Luis Aurelio Angamarca	Gualele	2520	negra	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
305	Angel Angamarca	Gualele	2520	b swis	brow swis	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
306	Angel Angamarca	Gualele	2520	blanca paloma mastitis	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
307	Angel Angamarca	Gualele	2520	tigrilla	h. mestizo	7	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
308	Angel Angamarca	Gualele	2520	doris	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
309	Angel Angamarca	Gualele	2520	gumbala	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
310	Angel Angamarca	Gualele	2520	negra fina	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	1.13
311	Angel Angamarca	Gualele	2520	casuelita	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
312	Angel Angamarca	Gualele	2520	moraleja	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
313	Angel Angamarca	Gualele	2520	amada	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
314	Angel Angamarca	Gualele	2520	maria del cisne	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
315	Arias Genaro Angamarca	Gualele	2520	mocha cachos quebrados	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	0.44
316	Arias Genaro Angamarca	Gualele	2520	mocha chiquita	h. mestizo	2	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
317	Arias Genaro Angamarca	Gualele	2520	negra cacho fino	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
318	Arias Genaro Angamarca	Gualele	2520	negra vieja	h. mestizo	4	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
319	Arias Genaro Angamarca	Gualele	2520	pintada grande	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
320	Nidia P Angamarca	Chuquiri bamba	2720	Churona Pintada	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
321	Nidia P Angamarca	Chuquiri bamba	2720	Blanca	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
322	Rosa E Morocho	Chuquiri bamba	2720	pintada	h. mestizo	1	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
323	Rosa E Morocho	Chuquiri bamba	2720	patita	h. mestizo	3	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
324	Juan Pablo	Chuquiri bamba	2720		h. mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	NEGATIVO	
325	Carlos Jaura	Chuquiri	2720	negra	h. mestizo	6	no	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no	POSITIVO	1.35

ANEXO 2.

Resultados de DO y M/P leídos mediante espectrofotometro con ayuda del programa GEN 5.

Placa 1.

Vilcabamba, Taquil, Santiago.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0,088	0,232	0,063	0,089	0,082	0,66	0,097	0,074	0,23	0,065	0,555	0,793	450
B	0,082	0,065	0,066	0,116	0,109	0,088	0,208	0,068	0,067	0,063	0,161	0,074	450
C	0,525	0,066	0,24	0,075	0,083	0,058	0,241	0,112	0,068	0,171	0,165	0,091	450
D	0,565	0,068	0,334	0,086	0,06	0,059	0,098	0,088	0,089	0,186	0,12	0,318	450
E	0,059	0,068	0,057	0,086	0,059	0,064	0,083	0,327	0,068	0,079	0,125	0,18	450
F	0,061	0,061	0,073	0,712	0,063	0,287	0,066	0,068	0,067	0,193	0,077	0,702	450
G	0,045	0,044	0,132	0,104	0,078	0,082	0,734	0,073	0,31	0,224	0,146	0,079	450
H	0,057	0,041	0,039	0,104	0,068	0,066	0,061	0,064	0,297	0,614	0,054	0,135	450

Placa 2.

San Lucas, Chuquiribamba.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,482	0,03846154	0,12820513	0,02564103	0,12307692	0,08461538	0,02820513	0,03333333	0,65897436	1,01282051	0,00512821	0,0025641
0,443	1,33846154	0,03076923	-0,01282051	0,04102564	0,07948718	0,03846154	0,04358974	0,00512821	0,01538462	0,80769231	0,22564103
0,074	0,79487179	0,03333333	0,00512821	0,01282051	0,07948718	0,18205128	1,1974359	0,51538462	0,77692308	0,00512821	0,01538462
0,071	0,88461538	0,03333333	0,20769231	-0,01025641	0,02820513	0,01794872	0,00769231	0,35641026	0,86410256	0	1,12564103
0,054	0,04102564	-0,00769231	0,03846154	0,41282051	0,04615385	0,01794872	0,02564103	0,01025641	2,48717949	0,77179487	0,03076923
0,056	0,03076923	0,03846154	0,02564103	0,02051282	0,04358974	0,03333333	0,04358974	0,34102564	0,02051282	0,03589744	0,14102564
0,054	0,73333333	0,00769231	0,03333333	0,04358974	0,02051282	0,81025641	0,48205128	0,06666667	0,02564103	0,00512821	0,02307692
0,048	0,03076923	-0,06923077	0,06410256	-0,04871795	-0,02051282	0,01794872	2,13333333	0,03589744	0,00769231	0,01794872	0,23076923

Placa 3.**Yangana, Quinara, Chantaco.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
9A	0,069	0,078	0,088	0,062	0,122	0,082	0,461	0,054	0,496	0,17	0,061	0,141	450
B	0,073	0,062	0,087	0,065	0,104	0,083	0,058	0,057	0,478	0,492	0,078	0,066	450
C	0,463	0,059	0,066	0,334	0,065	0,058	0,069	0,067	0,048	0,681	0,754	0,055	450
D	0,501	0,08	0,056	0,498	0,061	0,057	0,066	0,055	0,781	0,071	0,072	0,303	450
E	0,055	0,141	0,565	0,118	0,055	0,082	0,088	0,65	0,188	0,054	0,225	0,076	450
F	0,046	0,07	0,087	0,099	0,093	0,321	0,134	0,346	0,215	0,063	0,054	0,069	450
G	0,046	0,095	0,278	0,256	0,063	0,055	0,05	0,135	0,65	0,486	0,065	0,14	450
H	0,052	0,068	0,066	0,075	0,109	0,067	1,067	0,049	0,147	0,501	0,056	0,053	450

Placa 4.**Malacatos, Gualiel, El Valle.**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
0,088	0,31956522	0,04782609	0,00869565	0,00652174	1,25	0,02608696	0,02391304	0,31521739	0,04347826	1,02173913	1,53913043	450
0,082	0,04347826	0,04130435	0,0673913	0,05217391	0,00652174	0,2673913	0,03695652	0,03913043	0,04782609	0,16521739	0,02391304	450
0,525	0,04130435	0,33695652	0,02173913	0,00434783	0,05869565	0,33913043	0,05869565	0,03695652	0,18695652	0,17391304	0,01304348	450
0,565	0,03695652	0,54130435	0,00217391	0,05434783	0,05652174	0,02826087	0,00652174	0,00869565	0,21956522	0,07608696	0,50652174	450
0,059	0,03695652	0,06086957	0,00217391	0,05652174	0,04565217	0,00434783	0,52608696	0,03695652	0,01304348	0,08695652	0,20652174	450
0,061	0,05217391	0,02608696	1,36304348	0,04782609	0,43913043	0,04130435	0,03695652	0,03913043	0,23478261	0,0173913	1,34130435	450
0,045	0,08913043	0,10217391	0,04130435	0,01521739	0,00652174	1,41086957	0,02608696	0,48913043	0,30217391	0,1326087	0,01304348	450
0,057	-0,09565217	-0,1	0,04130435	0,03695652	0,04130435	0,05217391	0,04565217	0,46086957	1,15	-0,0673913	0,10869565	450

Placa 5.**Sagrario, San Sebastián, Sucre y El Cisne.**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
0,098	1,369	0,081	0,061	0,134	0,112	0,8	0,339	0,3	0,042	0,063	0,065	450
0,067	0,129	0,195	0,059	0,154	0,097	0,051	0,078	0,083	0,086	0,062	0,106	450
0,162	0,055	0,251	0,079	0,07	0,05	0,084	0,046	0,079	0,059	0,069	0,718	450
0,576	0,068	0,118	0,066	0,057	0,079	0,057	0,106	0,671	0,053	0,105	0,059	450
0,047	0,082	0,543	0,076	0,063	0,187	0,05	0,063	0,068	0,067	0,066	0,609	450
0,052	0,246	0,399	0,063	0,837	0,079	0,067	0,101	0,069	0,068	0,093	0,276	450
0,044	0,063	0,223	0,102	0,08	0,122	0,051	0,094	0,057	0,175	0,08	0,08	450
0,052	0,048	0,052	0,046	0,059	0,056	0,064	0,073	0,048	0,115	0,077	0,166	450

Anexo 4.**Fotografías salidas de campo.**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TESIS: “PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”

Foto 1. Toma de la muestra de la leche de acuerdo al número de animales anteriormente establecido.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS: “PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”

Foto 2. Muestras colectadas en sus respectivos recipientes.

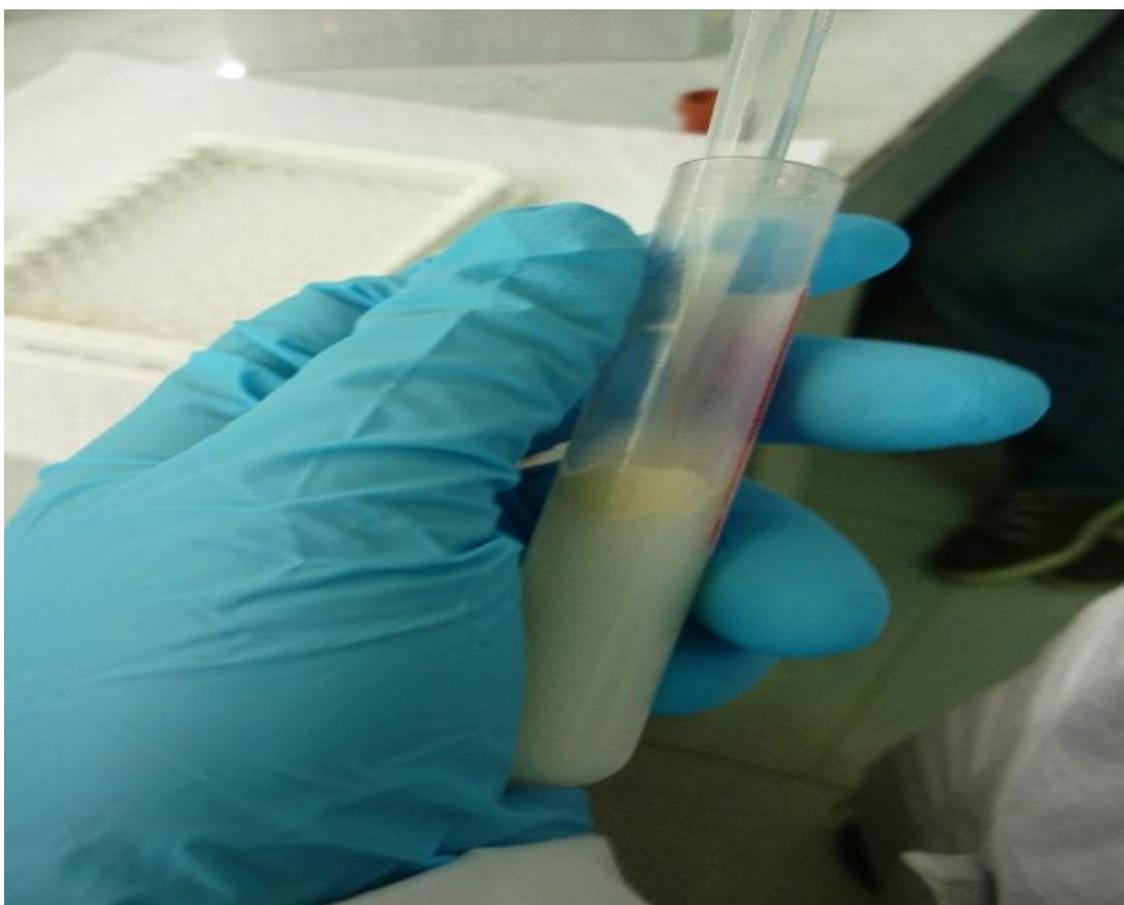


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS: “PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”

Trabajo de laboratorio.

Foto 3. Extracción de la muestra por debajo de la grasa de la leche para su respectivo análisis, previo a centrifugación.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS: “PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN VACAS LECHERAS DE LAS GANADERÍAS DEL CANTÓN LOJA”

Foto 4. Realización del método de ELISA de acuerdo al protocolo de su respectivo manual de la casa comercial IDEXX.

