



1859



Universidad  
Nacional  
de Loja

# Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

## Frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja

Trabajo de Integración Curricular previa a la obtención del título de Médico Veterinario

**AUTOR:**

Lenin Fabricio Gómez Jiménez

**DIRECTORA**

MVZ. Jhuliana Katherine Herrera Luna, Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2023

## Certificación

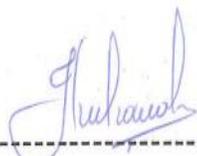
Loja, 05 de agosto de 2022

MVZ. Jhuliana Katherine Herrera Luna, Mg. Sc

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

### **C E R T I F I C O:**

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja**, previo a la obtención del título de **Médico Veterinario**, de la autoría de la estudiante **Lenin Fabricio Gómez Jiménez**, con cédula de identidad **1150957601**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



MVZ. Jhuliana Katherine Herrera Luna, Mg. Sc

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

## **Autoría**

Yo, **Lenin Fabricio Gómez Jiménez**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular o de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

**Firma:**



**Cédula de identidad:** 1150957601

**Fecha:** 17 de enero de 2023.

**Correo electrónico:** [lenin.gomez@unl.edu.ec](mailto:lenin.gomez@unl.edu.ec)

**Teléfono:** 0985638658

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

Yo, **Lenin Fabricio Gómez Jiménez**, declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular o de Titulación denominado: **Frecuencia de Infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja**, como requisito para optar por el título de **médico veterinario**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

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

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

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los dieciocho días del mes de enero del dos mil veintitres.

**Firma:** 

**Autor/a:** Lenin Fabricio Gómez Jiménez

**Cédula:** 1150957601

**Dirección:** Cantón Espíndola parroquia 27 de abril la Naranja

**Correo electrónico:** lenin.gomez @unl.edu.ec

**Teléfono:** 0985638658

**DATOS COMPLEMENTARIOS:**

**Directora del Trabajo de Integración Curricular:**

MVZ. Jhuliana Katherine Herrera Luna, Mg. Sc.

## **Dedicatoria**

A mi madre, María Jiménez le dedico este y todos mis logros, por ser mi guía, refugio y fortaleza, muestra de amor, valentía, honestidad y carácter, quien me apoyo y cuidó de mí con infinito cariño y paciencia.

A mi padre y mentor de vida Fabricio Gómez por enseñarme a trabajar duro por mis objetivos; a mis hermanos; Daniel, Stefany, Lenin, Carolina y María José, por iluminar mi camino hacia mis sueños, por apoyarme y ser las personas que me inspiran para seguir adelante.

A mis, amigos y compañeros de aula que acompañaron distintos momentos de mi vida, por su apoyo incondicional, por darme la mano cuando lo necesité y ayudarme a hacer esto posible. A mi mascota, Bender quien con sus ronroneos llenó mi vida de alegría y esperanza.

*Lenin Fabricio Gómez Jiménez*

## **Agradecimiento**

Quiero agradecer principalmente a Dios por cada día de vida, por permitirme llegar hasta aquí; de igual forma agradezco a mis padres Fabricio y María; a mis hermanos Jessica, Stefany, Carolina, María y Daniel a mis sobrinos Francis y Adam, por confiar en mí y ser mi motivación de cada día y sobre todo por darme el apoyo y el amor para cumplir con todo lo que me propongo, inculcando en mí el ejemplo de esfuerzo y perseverancia. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas. A cada uno de mis amigos y amigas que son como familia, porque siempre han estado ahí para apoyarme y ayudarme cuando lo he necesitado; a mis compañeros y futuros colegas por extenderme su mano a lo largo de estos años y por el cariño brindado cada día, de verdad mil gracias.

De igual manera mis agradecimientos a la Universidad Nacional de Loja, a toda la Carrera de Medicina Veterinaria, a cada uno de mis docentes quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias a cada uno de ustedes por su paciencia y dedicación.

Desde ya agradezco a mi tribunal de grado por el tiempo para con mi trabajo de titulación. Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento a la Dra. Jhuliana Katherine Luna, principal colaboradora durante todo este proceso, quien con su dirección, conocimientos, enseñanza, apoyo y amistad me permitió el desarrollo de este trabajo.

*Lenin Fabricio Gómez Jiménez*

## Índice de contenidos

<b>Portada.....</b>	<b>i</b>
<b>Certificación.....</b>	<b>ii</b>
<b>Autoría.....</b>	<b>iii</b>
<b>Carta de autorización.....</b>	<b>iv</b>
<b>Dedicatoria.....</b>	<b>v</b>
<b>Agradecimiento.....</b>	<b>vi</b>
<b>Índice de contenidos.....</b>	<b>vii</b>
Índice de tablas.....	x
Índice de figuras.....	xi
Índice de anexos.....	xii
<b>1.Título.....</b>	<b>1</b>
<b>2.Resumen.....</b>	<b>2</b>
2.1.Abstrac.....	3
<b>3.Introducción.....</b>	<b>4</b>
<b>4.Marco Teórico.....</b>	<b>6</b>
4.1.Diarrea Viral Bovina.....	6
4.2.Etiología.....	6
4.2.1.Clasificación.....	7
4.3.Transmisión.....	7
4.4.Patogenia y Signos Clínico.....	8
4.4.1.Infección aguda.....	9
4.4.2.Síndrome hemorrágico.....	10
4.4.3.Infección venérea.....	10
4.4.4.Infección transplacentaria y fetal.....	10

4.4.5.Infección persistente..	11
4.4.6.Enfermedad de las mucosas.....	12
4.4.7.Inmunopatología.....	12
4.5.Epidemiologia.....	13
4.6.Seroprevalencia en Ecuador.....	13
4.7.Métodos de diagnostico.....	14
4.7.1.Inmunohistoquímica.....	14
4.7.2.Aislamiento Viral.....	15
4.7.3.ELISA.....	15
4.7.4.ELISA directo.....	16
4.7.5.ELISA indirecto.....	16
4.7.6.ELISA competitivo.....	17
4.7.7.ELISA tipo sandwich.....	17
4.7.8.Prueba de Detección de Ácido Nucleico.....	17
4.8.Control y Prevención.....	18
4.9.Estudios Relacionados.....	18
<b>5.Materiales y métodos.....</b>	<b>20</b>
5.1.Área de estudio.....	20
5.2.Procedimiento.....	21
5.2.2.Diseño de la investigación.....	21
5.2.3.Tipo de muestreo y tamaño de muestra.....	21
5.2.4.Técnicas.....	21
5.2.5.Variables de estudio.....	24
5.3.Procesamiento de análisis de datos.....	24
5.4.Consideraciones éticas.....	25
<b>6.Resultados.....</b>	<b>26</b>
<b>7.Discusión.....</b>	<b>29</b>

**8.Conclusiones ..... 32**  
**9.Recomendaciones ..... 33**  
**10.Bibliografía ..... 34**  
**11.Anexos..... 38**

## **Índice de tablas**

<b>Tabla 1.</b> Interpretación de porcentajes.....	<b>23</b>
<b>Tabla 2.</b> Categorización de la variables .....	<b>24</b>
<b>Tabla 3.</b> Frecuencia de diarrea viral bovina y factores de asociados .....	<b>27</b>
<b>Tabla 4.</b> Variable Raza.....	<b>28</b>

## **Índice de figuras**

<b>Figura 1.</b> Representación gráfica del virión DVB.....	<b>7</b>
<b>Figura 2.</b> Patogénesis e inmunopatología.....	<b>9</b>
<b>Figura 3.</b> Mapa geográfico de la provincia de Loja.....	<b>20</b>

## **Índice de anexos**

<b>Anexo 1.</b> Identificación de las muestras.....	<b>38</b>
<b>Anexo 2.</b> Colocación de los reactivos de ELISA.....	<b>38</b>
<b>Anexo 3.</b> Validación e interpretación del kit de ELISA.....	<b>39</b>
<b>Anexo 4.</b> Base de datos proporcionados por AGROCALIDAD.....	<b>39</b>
<b>Anexo 5.</b> Análisis estadístico mediante R studio.....	<b>40</b>
<b>Anexo 6.</b> Certificado de traducción de tesis.....	<b>42</b>

## **1. Título**

**Frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja**

## 2. Resumen

La diarrea viral bovina (DVB) es una de las enfermedades infectocontagiosas de mayor presencia en el mundo, y debido a sus efectos en la reproducción causa graves pérdidas económicas en el sector ganadero. En consecuencia, en la presente investigación se estimó la frecuencia de animales infectados por el virus de la DVB en los cantones de Celica, Espíndola y Paltas de la provincia de Loja, para lo cual, se utilizaron 125 muestras de suero bovino, que fueron analizadas mediante ELISA de competición con el fin de detectar anticuerpos específicos contra la proteína P80 -125 del virus; además se buscó identificar los factores asociados al virus (raza, sexo, procedencia, signos clínicos, edad y fecha de muestreo). Como resultado, se encontró un solo caso positivo para el virus que representa una frecuencia del 0,8%, el mismo que corresponde a una hembra de raza gyr de 4 años, perteneciente al cantón Celica. Ninguna variable considerada parte del estudio resultó estar asociada a la infección por el virus de la DVB ( $p > 0,05$ ). Por lo tanto, se recomienda realizar un estudio minucioso que dé seguimiento a los animales donde se encontró el caso positivo en esta investigación, así como también, ampliar el número de animales estudiados en el cantón Celica con el fin de conocer el impacto que pueda estar ocasionando la enfermedad en dicho cantón.

***Palabras clave:*** Diarrea Viral Bovina. Factores asociados. ELISA.

## 2.1. Abstract

Bovine viral diarrhea (BVD) is one of the most contagious infectious diseases in the world, and due to its effects on reproduction, it causes serious economy losses in the livestock sector. Consequently, for the present research was estimated the frequency of animals infected by the DVB virus in the cantons of Celica, Espíndola and Paltas from province of Loja, for which, 125 samples were used of bovine serum, which were analyzed by competition ELISA in order to detect specific antibodies against the P80 -125 protein of the virus; in addition, it was attempted to identify the factors associated with the virus (race, sex, origin, clinical signs, age and sampling date). As a result, a single positive case for the virus was found that represents a frequency of 0.8%, which corresponds to 4 years old gyr female cow, belonging to the Celica canton. No variable considered part of the study it turned out to be associated with BVD virus infection ( $p > 0.05$ ). Therefore, it is recommended to carrying out a detailed study that monitors the animals where the positive case in this investigation was found, as well as expanding the number of animals studied, in order to know the impact that may be causing the disease in Celica canton.

**Key words:** Bovine Viral Diarrhea. Associated factors. ELISA

### 3. Introducción

Las enfermedades virales a lo largo de la historia han sido protagonistas de grandes epidemias de rápida propagación entre animales en todo el mundo, una de ellas es la diarrea viral bovina (DVB) (Murillo & Beltrán, 2019.). Esta enfermedad afecta al ganado bovino de todas las edades, causando un gran impacto económico al sector ganadero; además, está presente en gran parte de los países a nivel mundial, ya que pocos de ellos han podido erradicarla. La sintomatología y las manifestaciones clínicas son muy variables, estas dependen en gran medida de la cepa viral y el estado del animal (OIE, 2018). Las manifestaciones clínicas van desde problemas reproductivos, respiratorios, entéricos e inmunitarios, siendo los problemas reproductivos los que causan mayores pérdidas económicas a los ganaderos (Kubati et al., 2021).

Según Ortega et al., (2020) 88 países en el mundo han confirmado la presencia de la infección en años recientes, mientras que 107 países han realizado procesos de mitigación entre 1960 y 2017; por otra parte, la seroprevalencia en las regiones de Europa y Norteamérica vigiladas por la ONU oscila entre 46.23% a nivel individual y entre 66.08% y 67.01% a nivel de rebaño, con una disminución general para Europa y un aumento para Norte América. En el caso de América del Sur la seroprevalencia suele ser variada dependiendo del país, aunque puede llegar al 2% de animales persistentemente infectados (PI) y del 35 al 85% de animales seropositivos (Cifuentes & Hurtado, 2019). Por su parte, en Ecuador los datos recopilados por William et al., (2018.) indican que la prevalencia de la diarrea viral bovina a nivel nacional fue del 23% durante el periodo 2010 al 2015.

En la provincia de Loja los estudios relacionados con el virus de la DVB están sectorizados por cantones. Por ejemplo, Carbajal (2016) encontró que en el ganado lechero del cantón Saraguro existe una prevalencia del 27,92% de dicha enfermedad. Otra investigación realizada por Gonzales (2015) en el catón Gonzanamá señala una prevalencia del 22,9%. De esta manera, estos estudios indican la alta prevalencia de la enfermedad en las ganaderías de dichos cantones. Sin embargo, en la provincia de Loja, en los cantones Espíndola, Célica y Paltas no existen estudios que nos indiquen la frecuencia de la infección por el virus de la DVB en las ganaderías.

Con la ejecución del presente proyecto de investigación se realizó un estudio sobre la frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja, principalmente en los cantones Espíndola, Celica y Paltas. Todo ello, con el fin de tener una apreciación clara sobre la situación epidemiológica actual de la enfermedad en dichos cantones de la provincia de Loja, por ello se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Estimar la frecuencia de animales infectados por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja.
- Identificar los factores de riesgo asociados a la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja

## 4. Marco Teórico

### 4.1. Diarrea Viral Bovina

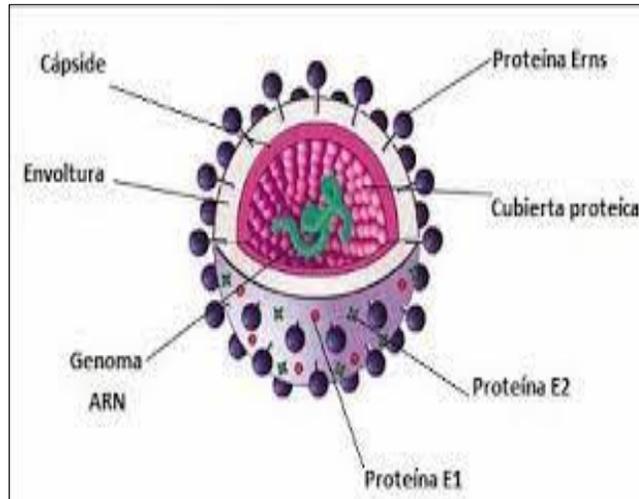
La diarrea viral bovina o como en sus siglas DVB, es una enfermedad viral descubierta por primera vez en 1946, se caracterizó como una diarrea altamente transmisible entre el ganado bovino. Fue en 1953 cuando obtuvo la denominación de enfermedad de las mucosas (Moennig & Becher, 2018). Esta enfermedad de tipo viral está distribuida en todo el planeta, considerándose endémica en ciertos países. Provoca pérdidas de gran magnitud en las etapas de producción, lo que ha llevado a posicionarse como una de las enfermedades más estudiadas en el sector ganadero bovino (Buitrago et al., 2018)

La sintomatología es muy variada, puede ir de una infección transitoria o aguda hasta una infección subclínica. Los animales que se recuperan de la infección aguda pueden portar el virus para toda la vida y convertirse en animales persistentemente infectados (PI). Los signos clínicos están relacionados con trastornos respiratorios, reproductivos, entéricos, hasta inmunitarios, aunque depende en gran medida de la cepa viral y el estado inmune del animal (Silveira, 2019).

### 4.2. Etiología

El virus de la DVB es un virus ARN, pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género de los *Pestivirus*. Su ARN es de cadena simple con polaridad positiva, muchas especies animales son susceptibles tales como porcinos, ovinos y bovinos, aunque también se ha descrito en animales ungulados.

El virión mide entre 40 y 60nm y está constituido por una bicapa lipídica con proteínas que envuelven a la cápside. Contiene 4 proteínas estructurales, una proteína C encargada de empaquetar el material genético, también participa en el anclamiento de la envoltura del virión y las otras E1 y E2 son glicoproteínas. La E2 es la encargada de generar anticuerpos que neutralizan al virus en comparación de la E1 que no genera la inducción de anticuerpos que neutralicen el virus (Cifuentes & Hurtado, 2019).



**Figura 1.** Representación gráfica del virión DVB

**Nota:** La imagen representa las diferentes estructuras que conforman el virus.

Tomado de Ridaa Unicen, por Martinez, et al. 2019.

#### 4.2.1. Clasificación

Los *Pestivirus* han sido asignados desde la letra A hasta la K, donde el *Pestivirus* tipo A y B están relacionadas con el virus de DVB (Oliveira et al., 2020). Según Diao et al., (2021) en la actualidad los *Pestivirus* A y B se los ha nombrado como VDVB-1 y VDVB-2 respectivamente. El tipo VDVB-1 está subdividido en 21 subgenomas y el tipo VDVB-2 está subdividido en 4 subgenomas. El virus de la DVB también puede clasificarse en dos biotipos, un biotipo citopatogénico (cp) y otro no citopatogénico (ncp), esto es debido a las manifestaciones y características que presenta en los cultivos celulares, por ejemplo; la cepa cp produce vacuolización y muerte de la célula, mientras que la cepa ncp no produce alteraciones y la célula parece normal, esto no quiere decir que la cepa ncp no se patógena (Colitti et al., 2019).

#### 4.3. Transmisión

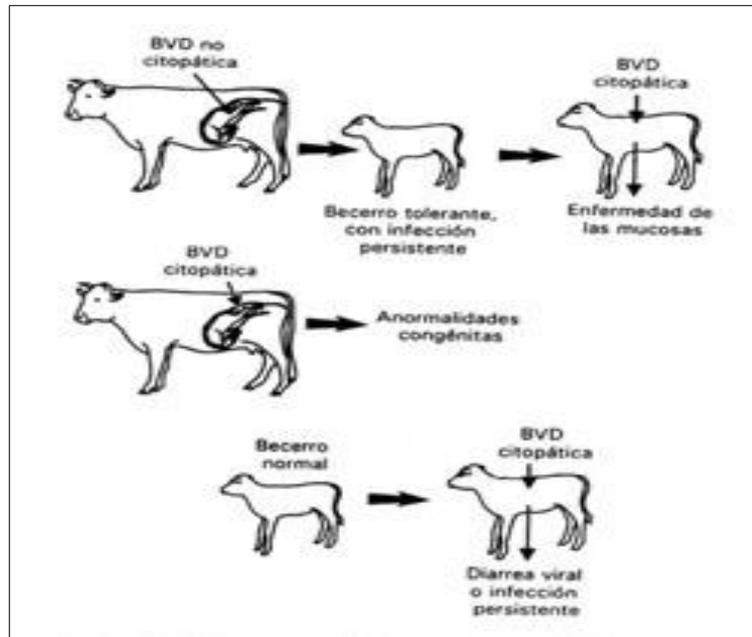
El virus DVB al igual que otros patógenos puede transmitirse por vía horizontal, donde el animal se contagia por contacto directo como indirecto mediante secreciones de animales que presentaron alguna infección transitoria o aguda, y también por secreciones de animales

Persistentemente Infectados (PI) que liberan el virus para toda la vida; mientras que por vía vertical o transplacentaria son las madres infectadas en la gestación las que transmiten el virus a través de la placenta al feto. Cuando la hembra gestante se infecta antes de los 125 días de gestación con cepas del biotipo ncp, el ternero nace portando el virus para toda la vida o son PI (Gonzalez, 2017). En consecuencia, el virus es liberado por las secreciones nasales, oculares, excreciones fecales y por el semen, este último es la responsable que exista una transmisión venérea cuando se utiliza toros infectados o semen sin analizar (Rosete et al., 2022).

Zúñiga et al., (2006) manifiesta que la transferencia de embriones y los bancos de germoplasma fueron en sus inicios potenciales medios de transmisión para el DVB, hoy en día los riesgos son mínimos si se tiene un buen control sanitario. A su vez, la propagación del virus en una granja puede ocurrir cuando se introducen animales infectados o terneros PI, aunque también puede ocurrir por el contacto directo con animales infectados por la cerca entre granjas (Hairgrove et al., 2009).

#### **4.4. Patogenia y Signos Clínico**

Las manifestaciones clínicas producidas por el virus de DVB en el ganado bovino varían desde infecciones agudas transitorias o no presentar ningún síntoma, hasta la enfermedad de las mucosas que en ocasiones tiene una alta mortalidad. En las infecciones agudas se pueden presentar signos clínicos de diarrea y agalaxia, aunque la sintomatología es muy variada la patogenia sigue sin ser clara. El efecto inmunosupresor que causa las infecciones agudas por el DVB puede potenciar la enfermedad clínica de otros patógenos y esto puede ser una parte importante del complejo de enfermedades respiratorias en los terneros (Kubati et al., 2021).



**Figura 2.** Patogénesis e inmunopatología de la enfermedad de las mucosas.

**Nota:** Adaptado de Diarrea viral bovina, Patogénesis e inmunopatología. (p.697).

por Rondón, 2007. Revista MVZ Córdoba

Al inicio del contagio, el virus entra en su hospedador por vía respiratoria o por vía oral, luego, la primera replicación ocurre en la mucosa oronasal y también en las amígdalas, posteriormente penetra la membrana epitelial y pasa a los nódulos linfáticos, aquí el virus infecta a los linfocitos y monocitos susceptibles, aún no está claro como el virus penetra la membrana epitelial en otros órganos, pero se sabe que aquí es el inicio de la viremia o infección sistémica (Su et al., 2021).

#### **4.4.1. Infección aguda**

En la infección aguda los animales más susceptibles son los más jóvenes. Esta infección puede ser subclínica o causar fiebre, diarrea, signos respiratorios, y en ocasiones una muerte súbita (OIE, 2018). Las complicaciones de la enfermedad dependen en gran medida de la cepa viral y la presencia de otros agentes patógenos, ya que la infección aguda suprime el sistema inmunológico del animal; además, se relaciona con la presencia de animales persistentemente infectados (PI) en un rebaño.

En el curso agudo por el virus de la DVB existe una viremia de 7 a 10 días dando como resultado signos que incluyen diarrea, depresión, secreción oculonasal, anorexia, disminución de la producción de leche, ulceraciones orales y pirexia; a nivel de laboratorio incluyen leucopenia acompañada por una linfopenia, neutropenia y en ocasiones una trombocitopenia que es la responsable del síndrome hemorrágico (Khodakaram & Farjanikish, 2017).

#### ***4.4.2. Síndrome hemorrágico***

Este síndrome está asociado en su mayoría con las cepas del genotipo 2. Según Pérez (2017) la mortalidad puede estar cercana al 25%. Este proceso es la forma grave de la infección aguda, debido a la trombocitopenia en la infección, el animal pierde la capacidad de coagulación, provocando: hemorragias en varios órganos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, hemorrágicas petequiales y equimosis en las mucosas. Por otra parte, la trombocitopenia está relacionada con la invasión del virus a la médula ósea, infectando a todos los elementos celulares incluyendo a los megacariocitos ya que estos son los precursores de la formación de plaquetas (Mishra & Kalaiyarasu, 2019).

#### ***4.4.3. Infección venérea***

Según Morales, (2019) los toros PI por lo general son infértiles, desarrollan baja calidad espermática, mientras que, en otros toros, este problema no se desarrolla, pero en ambos presentan un alto índice de virus en el semen, es por ello que la utilización de toros infectados con el virus de la DVB para el servicio de monta, resulta muy eficaz la transmisión del virus, acompañada de una baja probabilidad de preñez y un aumento en el número de servicio por concepción. Además, el virus puede permanecer en los testículos y con ello en el semen, aproximadamente 2,75 años (Quintana et al., 2018).

#### ***4.4.4. Infección transplacentaria y fetal***

El DVB entra a la placenta con el 10% de eficiencia, además, es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica fetal causando problemas neurológicos. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad van a depender en que etapa de la gestación ocurrió la infección, y la cepa del virus infectante (Quintana et al., 2018). Walz et al., (2020) Afirma que existen problemas en la

concepción y en la implantación del huevo cigoto cuando la infección ocurre en los primeros días de gestación, que da como resultado repeticiones de celos y un menor tiempo de concepción, además, puede presentarse una reabsorción embrionaria antes de los 45 días de gestación.

Desde los 45 hasta 125 días de gestación se puede producir muerte embrionaria acompañada con momificación y posteriormente un aborto. Entre los 125 y 175 días de gestación existe inmunocompetencia fetal y estado de organogénesis, lo que conlleva a que la infección en esta etapa produzca mal formaciones en el feto tales como: hipoplasia cerebelar, microencefalia, hipomielogénesis, hidranencefalia, hidrocefalia, cataratas, microftalmia, degeneración de la retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis y deformaciones del esqueléticas, por otra parte si el ternero sobrevive a la infección inicial es más probable que se convierta en un ternero PI (Khodakaram-Tafti & Farjanikish, 2017).

En las últimas semanas de gestación el feto es inmunológicamente competente, las infecciones en esta etapa dan como resultado el nacimiento de terneros débiles o seropositivos normales con pocas probabilidades de aborto (Zúñiga et al., 2006).

#### ***4.4.5. Infección persistente***

Un animal se vuelve persistentemente infectado al contraer la infección entre los días 35 y 125 de gestación, con los biotipos ncp del virus. En esta etapa el sistema inmunológico fetal no está completamente desarrollado, por lo tanto, existe una tolerancia al virus dado que el sistema inmunológico no ataca al virus. Estos animales son seronegativos y se convierten en los principales reservorios asintomáticos de la enfermedad (Jaime & Ramírez, 1996).

Cifuentes & Hurtado, (2019) mencionan que los animales PI son virémicos durante toda su vida, es decir, que el virus se puede aislar en la sangre o en otros tejidos por largos periodos de tiempo. Además, los terneros PI no producen anticuerpos contra la cepa que les produce inmunotolerancia, por lo que se debería considerar a los animales PI aquellos con escaso desarrollo y ligera ganancia de peso, débiles y con cuadros recurrentes de enfermedad respiratoria y digestiva.

#### ***4.4.6. Enfermedad de las mucosas***

Esta forma de presentación tiene una baja morbilidad, pero una alta mortalidad, puede presentar un curso agudo o crónico y se ha notificado en animales PI. La presentación clínica de esta enfermedad aparece cuando los animales sufren una super infección, con cepas del virus de la DVB citopático, resultado de la mutación interna de la cepa no citopática residente y se caracteriza por presentar un cuadro diarreico fétido incontrolable, descarga nasal, deshidratación y también es posible observar erupciones en la mucosa oral y en tracto gastrointestinal (Grumbers, 2021).

La infección es dada por biotipo CP homólogo antigénicamente al biotipo NCP que produce la inmunotolerancia en los animales con PI (Sánchez et al., 2007). Según Rondón, (2006) esta enfermedad requiere de una infección congénita persistente con el virus biotipo NCP y una super infección con virus biotipo CP que puede ser exógena o generada de cambio genéticos, o por una recombinación del ARN de las cepas residentes del biotipo NCP.

#### ***4.4.7. Inmunopatología***

Después de la entrada del virus en su hospedador, los anticuerpos neutralizantes aparecen después de los 14 días de la infección, donde la mayor parte de estos anticuerpos se dirigen a la proteína de superficie E2 del virus, y otros se dirigen a la proteína E1, los anticuerpos específicos inducidos por la proteína Erns tienen un bajo porcentaje de la neutralización viral (Kubati et al., 2021).

Por otra parte, una de las características más importantes del virus de la DVB es la capacidad de inmunosupresión que le ocasiona a su hospedador. La infección a las células del sistema inmunológico, genera una grave leucopenia, trombocitopenia, monocitopenia y neutropenia, disminuye la función de las células dendríticas y con ello la presentación de antígeno, esto hace que el sistema inmunológico se vea limitado a responder de forma eficiente a otras infecciones secundarias, lo que da origen a trastornos respiratorios y digestivos (Malacari et al., 2018).

Estudios en laboratorio han demostrado que los monocitos y las células presentadoras del antígeno (CDs) son altamente susceptibles a ambos biotipos de virus. Sin embargo, los monocitos que terminaron con el virus ncp tuvieron una habilidad disminuida para estimular la respuesta de subpoblaciones de linfocitos T CD4 alogénicos y de memoria, pero los CDs no fueron afectados. Los CDs fueron resistentes a la lisis por el virus cp, y mantuvieron su capacidad de presentar, pero los monocitos fueron destruidos (Jaime & Ramírez, 2021).

#### **4.5. Epidemiología**

El virus de la DVB está muy adaptado para sobrevivir en la naturaleza, una de las estrategias que utiliza para sobrevivir es la permanente infección de animales susceptibles transmitida horizontalmente y verticalmente, una vez que el virus entra en el hospedador produce una viremia transitoria que dura entre 10 y 14 días (Luzzago & Decaro, 2021). La especie bovina es el principal reservorio y fuente de infección, es posible que las ovejas también transmitan el virus, ya sea a otras ovejas o bovinos, a pesar que existen otros animales como camellos, llamas o alpacas donde se aisló el virus, y no parecen jugar un papel en la transmisión del patógeno (OIE, 2018).

Los animales con PI juegan un papel muy importante en la epidemiología de la enfermedad, ya que basta con un animal con IP para desencadenar una serie de infecciones con los animales que tiene contacto, capas de infectar a la mayoría de los animales en poco tiempo (Klimowicz et al., 2022)

#### **4.6. Seroprevalencia en Ecuador**

En América del Sur la seroprevalencia de la DVB varía entre países, aunque la infección tiende a ser endémica en algunos países y alcanzar un nivel máximo del 2% de animales con IP, y del 35% al 85% de ganado seropositivo(Cifuentes & Hurtado , 2019)

En Ecuador, Ortiz (2017) menciona que la seroprevalencia en explotaciones ganaderas de aptitud lechera y doble propósito resulta elevada con un 74%, mientras que la seroprevalencia en intrarrebaños indica una baja diseminación con el 38%. En la provincia de Loja se muestra una incidencia del 8,24% (Vargas, et al., 2009).

La seroprevalencia de la DVB comúnmente aumenta con la edad debido a que los títulos de anticuerpos se mantienen generando una buena respuesta inmunitaria. La alta difusión de la DVB en los animales de distintas comunidades cercanas sugiere similares deficiencias en las prácticas de manejo, como pasturas, fuentes de agua, compra y venta de animales entre los criadores de las comunidades aledañas y falta de bioseguridad que promueven la transmisión de la infección viral.

#### **4.7. Métodos de diagnóstico**

En la actualidad existen varias técnicas de diagnóstico para la DVB, algunas están dedicadas a la detección del virus o el antígeno viral, mientras que otras están diseñadas para la detección de anticuerpos producto de una respuesta inmune generada por el antígeno. En el diagnóstico es muy necesario conocer los antecedentes de la enfermedad en el rebaño, y los signos que puede presentar en la infección aguda (Grumbers, 2021).

Según la OIE (2018) el diagnóstico de la DVB es un poco complejo debido al lapso de tiempo de la infección y la manifestación de los signos clínicos, mientras que la detección de animales con IP es más sencilla con los métodos de diagnóstico comunes, y la detección con material reproductivo, puede resultar más difícil en infecciones agudas.

##### ***4.7.1. Inmunohistoquímica***

Esta técnica se basa en la tinción de tejido fijado en parafina de cualquier tejido a estudiar, el complejo antígeno anticuerpo se identifica en el tejido mediante microscopía, donde se ha unido a moléculas específicas presentes en el tejido en estudio, lo que nos permite detectar el virus en el tejido estudiado (Martinez, 2018). Por otra parte, estas pruebas no son recomendadas en animales para el comercio internacional por lo que deben limitarse los estudios, los reactivos y procedimientos utilizados deben estar validados y eliminarse la reactividad inespecífica. Para esta técnica, en animales con IP se puede utilizar los ganglios linfáticos, glándula tiroides, el encéfalo, el abomaso y la placenta con una alta tasa de éxito. (OIE, 2018).

#### ***4.7.2. Aislamiento Viral***

Esta técnica de diagnóstico es de tipo directo y se caracteriza por presentar una alta sensibilidad y especificidad, se requiere de personal especialista que trabaje en el equipamiento y en explantes de órganos para la replicación viral. Este tipo de procedimientos tiene algunas desventajas que es altamente costosa y se necesita varios días para el diagnóstico final (Pecora & Perez, 2017).

Los dos biotipos del virus dan lugar a los mismos signos clínicos, entonces se puede aislar cualquiera de los dos biotipos. Las muestras más apropiadas para intentar el aislamiento incluyen: bazo, nódulos linfáticos mesentéricos, mucosa nasofaríngea, médula ósea, placas de Peyer y muestras de sangre heparinizada, especialmente en animales seronegativos; a su vez, las muestras deben refrigerarse, pero no congelarse, y enviarse de inmediato al laboratorio de diagnóstico. Esta técnica es muy costosa y se necesitan varios días y semanas, pero es altamente sensible (Khodakaram & Farjanikish, 2017).

#### ***4.7.3. ELISA***

Este tipo de diagnóstico hace referencia a Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), es una de las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, permite detectar los anticuerpos inducidos por el antígeno patógeno, para ello se emplean dos moléculas, una de ellas es el anticuerpo que se une al antígeno de forma específica y otra es una enzima que señala la unión antígeno-anticuerpo (Serrano, 2019). La técnica de detección de antígeno se utiliza frecuentemente para detectar animales con IP para la DVB a nivel individual; por otra parte, esta prueba no está diseñada para detectar animales infectados de manera aguda. Esta técnica utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para así capturar antígenos de la DVB en las muestras de sangre (OIE, 2018).

Los sistemas de ELISA que se basan en los anticuerpos policlonales dirigidos a varias glicoproteínas de cepas antigénicamente diferentes son capaces de detectar una amplia variedad del virus de la DVB. Este sistema comparado con el aislamiento viral ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad (97,9% y 99,7% respectivamente) y es comparable a los sistemas ELISA que utilizan un pool de anticuerpos monoclonales. Por otra parte, los sistemas ELISA

basados en un anticuerpo monoclonal epitope específico son cuestionables, debido a que su estrecho rango de especificidad puede fallar al detectar algunas cepas del virus de la DVB(Lértora, 2016).

#### **4.7.4. ELISA directo**

Este método fue descrito por primera vez por Perlmann Engvall, Van Weemen y Schuurs en 1971(Aydin, 2015). En la superficie de una placa se recubre directamente con la muestra y se incuba con un anticuerpo conjugado a una enzima. La incubación es seguida por un lavado que elimina los anticuerpos no unidos del medio. Luego se agrega el sustrato apropiado al medio, produciendo una señal directamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra. Esta correlación se puede usar para extrapolar la concentración de antígeno en una muestra desconocida a partir de una curva de calibración. El aparato de medición a utilizar, generalmente un espectrofotómetro o un fluorómetro, dependerá de la enzima conjugada al anticuerpo. El ELISA directo o también considerada de tipo simple es una técnica utilizada para detectar anticuerpos de alto peso molecular, se requieren menos pasos y es considerablemente más rápido que otros tipos de ELISA. Otra ventaja es que se elimina la posibilidad de reactividad cruzada del anticuerpo secundario, que puede ocurrir en un ELISA indirecto. Sin embargo, el marcaje directo de los anticuerpos primarios requiere mucho tiempo, es costoso y puede afectar negativamente a la inmunorreactividad del anticuerpo con el antígeno al que está dirigido (Leon, 2019).

#### **4.7.5. ELISA indirecto**

El ELISA indirecto es un proceso de unión de dos pasos que implica el uso de un anticuerpo primario y un anticuerpo secundario marcado. En este método, el anticuerpo primario se incuba con los pocillos de una placa recubierta con antígeno. A continuación, se agrega un anticuerpo secundario marcado que reconoce al anticuerpo primario. Luego se agrega un sustrato para producir una amplificación de la señal. Este método se utiliza comúnmente para diagnosticar infecciones por bacterias, virus o parásitos, además de cuantificar los anticuerpos contra este antígeno extraño. La detección por ELISA indirecto es versátil, ya que se pueden usar diferentes marcadores de visualización con el mismo anticuerpo primario. Dado que se puede unir más de un anticuerpo marcado por objetivo de anticuerpo, se considera que el ELISA indirecto es

altamente sensible y más flexible que el ELISA directo. Sin embargo, puede producir reactividad cruzada y una señal no específica con el anticuerpo secundario (Leon, 2019).

#### ***4.7.6. ELISA competitivo***

En esta técnica se pueden detectar antígenos o anticuerpos. El primer paso consiste en añadir el suero a estudiar a una cantidad constante de virus donde actúa como antígeno. Una vez incubado se añade la mezcla en los pocillos tapizados con anticuerpos, si en el suero existe una cantidad alta de anticuerpos no habrá muchos virus para unirse a los anticuerpos de la placa. El segundo paso consiste en añadir un conjugado de antígeno y el sustrato de la enzima. Cuando la muestra es positiva con un alto título de anticuerpos habrá poca señal de anticuerpos en los pocillos y de ahí el nombre de competitivo (David, 2017).

#### ***4.7.7. ELISA tipo sandwich***

Este tipo de ELISA es inmunoabsorbente ligado a enzimas, se emplean dos anticuerpos uno de captura y otro de detección, los cuales vienen a unirse al antígeno objetivo. El anticuerpo de captura se mueve en una superficie, mientras que el anticuerpo de detección es necesario aplicarlo antes de la cuantificación como último paso. Los dos anticuerpos utilizados en un ELISA sándwich deben emparejarse y analizarse antes de su uso. Esto significa que se unen a diferentes lugares del antígeno objetivo. Por otra parte, se debe tener en cuenta que los dos anticuerpos no deben interferir en la capacidad de unión con el antígeno (Martínez, 2021).

#### ***4.7.8. Prueba de Detección de Ácido Nucleico***

Esta técnica se basa en la amplificación del ácido nucleico. La comercialización de la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa y su alta sensibilidad permiten trabajar con “pooles” de muestras de rebaños para detectar animales infectados en forma aguda, animales persistentemente infectados y animales inmunizados con vacunas preparadas con virus vivo modificado. Cabe señalar que estas técnicas no están disponibles rutinariamente por su alto costo (Berríos, 2015).

#### **4.8. Control y Prevención**

Odeón (2016) menciona que el control de la diarrea viral bovina debe centrarse en la detección de animales PI, existen vacunas para la DVB pero estas no eliminan el estado de portador persistente en los rebaños. El método de detección de animales PI ha sido aplicado en la Unión Europea (UE) dando resultados favorables en estos países, tanto que en algunos países han erradicado la enfermedad. Por otra parte, es importante combinar la vacunación y la detección de animales PI, ya que la vacunación permitirá bajar las probabilidades de infecciones fetales y la transmisión a animales susceptibles.

La vacunación para la DVB está orientada a prevenir la manifestación clínica de la enfermedad y disminuir la infección hacia los otros animales susceptibles. En las hembras gestantes impedir la viremia y con ello la aparición de nuevas crías PI es más difícil, aunque estudios recientes han manifestado que la utilización de vacunas monovalentes protege en un 80 a 100% en estudios experimentales (Newcomer et al., 2017). Por lo tanto, en un programa de vacunación se debe incluir una inmunidad cruzada con múltiples cepas, teniendo en cuenta que estos programas de control no eliminan animales PI, sino que disminuyen la velocidad de propagación del virus (Encinias & Wenzel, 2009).

Para la prevención es importante la implementación de un buen programa de bioseguridad que nos permita reducir el posible ingreso del virus en el rebaño. Los animales nuevos deben ser sometidos a una estadía de dos meses separados del resto de animales en un corral de cuarenta y ser evaluados diariamente, en esta cuarentena es importante realizar pruebas que nos permitan determinar si los animales han sido expuestos al virus u otros patógenos. Además, después de la cuarentena deben ser sometidos al mismo programa de vacunación del resto de animales, para las hembras nuevas y gestantes es importante que sean sometidas a pruebas poco antes del nacimiento con el fin de evitar terneros PI (Jones, 2017).

#### **4.9. Estudios Relacionados**

Gonzales (2015) menciona que la prevalencia del virus de la DVB en el cantón Gonzanamá es del 22.9% utilizando muestras de suero bovino, las cuales fueron analizados mediante el

método de diagnóstico de ELISA de competición, concluyendo que la mayoría de los casos positivos no presentaron síntomas.

Según Aguirre (2021) en el cantón El Pangui Provincia de Zamora Chinchipe, existe una prevalencia del 42, 31%, manifestando que los factores asociados a la infección son: el tipo de manejo, animales de remplazo, tipo ordeño y edad, esto se debe al remplazo de sus animales en ferias u otros cantones y las deficientes instalaciones en ordeño.

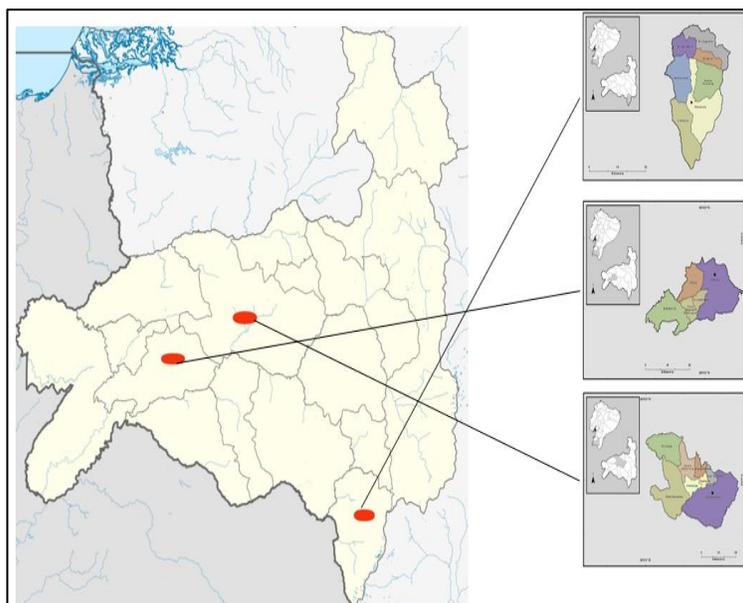
En Yaracuy Venezuela, se realizó un estudio seroepidemiológico de DVB con el fin de identificar los factores de riesgo a la seroprevalencia del virus y como resultado reporta el 55,43 de seroprevalencia, y en cuanto los factores asociados mencionan el grupo etario y tamaño de rebaño. Se identifico la alta presencia de anticuerpos en hembras no vacunadas, además, el número positivos se incrementó con edad y el tamaño de rebaño (Corro et al., 2017).

Por su parte Buitrago et al., (2018) indica una prevalencia del 27.1% en hatos lecheros en la sabana colombiana, además, menciona que la edad, (animales menores a 4 meses) antecedentes de aborto y presencia de diarrea son factores asociados a la infección. Esto se debe a la exposición del virus en el campo, a los anticuerpos maternos transferimos en el calostro y a la vacunación.

## 5. Materiales y métodos

### 5.1. Área de estudio.

Este proyecto de investigación se realizó en la provincia de Loja, misma que está ubicada en la región sur del Ecuador, entre las latitudes Sur: 03°19'49" y 04°45'00". Tiene una superficie aproximada de 10.790 km<sup>2</sup> equivalente al 4% de la superficie del país, limita al norte con la provincia del Azuay, al sur con la República del Perú, al este con Zamora-Chinchipe y al oeste con El Oro. (Pino, 2014). Los cantones donde se seleccionaron las muestras fueron: Célica, Paltas y Espíndola. El cantón Célica tiene una superficie de 517, 9 km<sup>2</sup> con una temperatura promedio de 12°C y con un rango altitudinal de 440 a 1600 msnm (GAD, 2015). En cuanto al cantón Espíndola consta de una extensión del 521 km<sup>2</sup> con una temperatura promedio de 20°C y un piso altitudinal del 1720 msnm. (Urbe, 2017). Por su parte el cantón Paltas tiene una extensión del 1157,13 km<sup>2</sup> y con temperatura que varía de 12 a 24 °C, en el caso del rango altitudinal va desde los 800 m.s.n.m hasta los 2540 m.s.n.m.



**Figura.3** Mapa geográfico de la provincia de Loja.

**Nota.** En la imagen se muestra a los cantones donde se seleccionaron las muestras

## **5.2.Procedimiento**

### **5.2.1. Enfoque metodológico**

Dado los objetivos planteados se optó por el enfoque cuantitativo.

### **5.2.2. Diseño de la investigación.**

El presente proyecto investigativo fue de tipo observacional transversal, tuvo como objetivo el estudio de la frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja,

### **5.2.3. Tipo de muestreo y tamaño de muestra**

Las muestras estudiadas forman parte de la seroteca de AGROCALIDAD a partir de muestras tomadas para la certificación de predios libres de brucelosis y tuberculosis, debido a esto, el tipo de muestreo fue no probabilístico a conveniencia. Para ello, se utilizaron muestras de suero bovino, donde se analizaron 125 muestras, seleccionadas de los cantones Celica, Espíndola y Paltas. Todas las muestras fueron tomadas en el 2021. Cabe señalar que ninguno de los cantones seleccionados se ha realizado estudios relacionados con el virus de la DVB

### **5.2.4. Técnicas**

El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de diagnóstico veterinario de la Universidad Nacional de Loja

El método de análisis utilizado fue mediante ELISA competitivo siguiendo los pasos recomendados por la casa comercial ID.vet. El kit de diagnóstico está diseñado para la detección de anticuerpos específicos contra la proteína P80 -125 del virus.

#### **5.2.4.1. Materiales requeridos no incluidos**

- Micropipetas o pipetas multicanales dispensadoras de volúmenes de 10 µl, 100 µl, and 300 µl.
- Puntas de pipetas
- Microplaca de pre-dilución de 96 pocillos.
- Agua destilada o desionizada
- Lavador de placas (manual o automático)

- Lector de placas para ELISA

#### **5.2.4.2. Preparación de la muestra**

Para reducir la diferencia de tiempo de incubación entre las muestras, es posible preparar una microplaca de 96 pocillos conteniendo las muestras a valorar y los controles, para después transferirlos en la placa ELISA con una pipeta.

#### **5.2.4.3. Preparación de la solución de lavado**

Es necesario equilibrar la solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente ( $21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) y agitar correctamente para obtener la disolución de los cristales. Luego preparar la Solución de lavado (1X) diluyendo 1:20 de esta solución concentrada (20X) en agua destilada/desionizada.

#### **5.2.4.4. Procedimiento**

- Es necesario que todos los reactivos estén a temperatura ambiente  $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$  antes de utilizarlos. Homogeneizarlos bien por inversión o utilizando un vortex.
- Añadir 100  $\mu\text{l}$  del Conjugado listo para usar a cada pocillo.
- Cubrir la placa e incubar 30 min  $\pm$  3 min a  $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$ .
- Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300  $\mu\text{l}$  de solución de lavado. Evitar el desecado de cada pocillo entre cada lavado.
- Añadir 100  $\mu\text{l}$  de la Solución de revelación a cada pocillo.
- Cubrir la placa e incubar 15 min  $\pm$  2 min a  $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$  en la obscuridad.
- Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de Solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el paso 7, para parar la reacción.
- Leer la microplaca a 450 nm.

#### **5.2.4.5. Validación**

**El test es válido si:**

La densidad óptica media del Control Negativo (DOCN) es superior a 0.7.

$$DO_{CN} > 0.7$$

El valor medio de la densidad óptica del control positivo (DOCP) es inferior al 30 % del  $DO_{CN}$ .

$$\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} < 0.3$$

#### **5.2.4.6. Interpretación**

Para cada muestra, calcular el porcentaje de competición (S/N%):

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

**Tabla 1.**

*Interpretación de porcentaje*

Resultado	Interpretación
S/N % ≤ 40%	POSITIVO
40% < S/N % ≤ 50%	DUDOSO
S/N % > 50%	NEGATIVO

**Nota:** Adaptado de ID Vet

### 5.2.5. Variables de estudio.

**Tabla. 2**

*Caracterización de las variables*

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Categorías</b>	<b>Instrumento</b>
<b>Sexo</b>	Condición orgánica que define machos y hembras	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hembras</li> <li>• Machos</li> </ul>	Registros
<b>Edad</b>	Tiempo de vida del animal desde su nacimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo etario 1 (0-2 a)</li> <li>• Grupo etario 2 (2-5 a)</li> <li>• Grupo etario 3 (5-8 a)</li> </ul>	Registros
<b>Procedencia</b>	Lugar de donde procede un animal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• tipo de lugar</li> </ul>	Registros
<b>Presencia de manifestaciones clínicas asociadas con la enfermedad</b>	Animal o animales que presentaron signos de la enfermedad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SI</li> <li>• No</li> </ul>	Registros
<b>Fecha de muestro</b>	Mes donde se colectó las muestras	Mes	Registros

**Nota:** En la presente tabla se muestran las características de cada variable con su respectiva definición.

La variable dependiente corresponde a los animales seropositivos o seronegativos para el virus de la diarrea viral bovina

### 5.3. Procesamiento de análisis de datos

Para el cálculo de promedios y porcentajes se aplicó la estadística descriptiva con el fin de expresar la distribución de la enfermedad de acuerdo a cada variable en cada uno de los cantones de los cuales fueron seleccionadas las muestras. Para el estudio de los factores asociados se

consideró una prueba de bondad de ajuste (Chi cuadrado o test de Fisher) En este caso, se tomó en cuenta valores de p estadísticamente significativos menores o iguales a 0,05.

#### **5.4.Consideraciones éticas**

En el presente trabajo investigativo no se utilizó animales directamente, ya que las muestras fueron proporcionadas por Agrocalidad.

## **6. Resultados**

En el presente proyecto de investigación se consideró 125 muestras, de las cuales 56 pertenecen al cantón Celica, 9 al cantón Espíndola y 60 al cantón Paltas, todas pertenecientes a la seroteca de AGROCALIDAD.

Con la ejecución de la prueba de ELISA clasificada según las variables establecidas se obtuvieron los siguientes resultados:

### **6.1. Frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina**

Para la determinación de la frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina se analizaron las 125 muestras de suero bovino, de las cuales solamente se obtuvo un resultado positivo lo que representa una frecuencia del 0,8%, como se observa en la tabla 2.

### **6.2. Factores de riesgo asociados a la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja**

Para el estudio de los factores asociados se consideró la información proporcionada por AGROCALIDAD (edad, procedencia, sexo, sintomatología y fecha de muestreo). El único caso que en el que se detectó anticuerpos contra el virus del DVB pertenece al cantón Célica, sin embargo, de acuerdo al análisis no se encontró diferencias estadísticamente significativas ( $p$  valor  $> 0,05$ ) entre los cantones, por lo tanto, la procedencia no fue considerada como un factor asociado (Tabla 2).

Por otra parte, lo que refiere al sexo, se analizaron muestras de 111 hembras y 14 machos, de los cuales, el único caso positivo pertenece a una hembra, entre 2 a 5 años de edad, la muestra positiva fue tomada en enero del 2021, en cuanto el análisis estadístico; las variables edad, sexo y fecha de colecta no fueron estadísticamente significativas, lo indica que ninguna de estas variables mencionadas corresponde a un factor asociado (Tabla 2).

**Tabla. 3**  
*Frecuencia de diarrea viral bovina y factores asociados*

Variable	Negativo		Positivo		Total	Valor de P (Test de Fisher)
	N	%	N	%		
<b>Procedencia</b>						0,5
Célica	55	44	1	0,8	56	
Espíndola	9	7,2	0	0	9	
Paltas	60	48	0	0	60	
<b>Sexo</b>						1
Hembras	110	88	1	0,8	111	
Machos	14	11	0	0	14	
<b>Edad</b>						0,5
Grupo etario 1 (0-2 a)	27	21,6	0	0	27	
Grupo etario 2 (2-5 a)	38	30,4	1	0,8	39	
Grupo etario 3 (5-8 a)	59	47,2	0	0	59	
<b>Fecha de colecta</b>						0,4
Enero	38	30,4	1	0,8	39	
Junio	77	61,6	0	0	77	
Marzo	9	7,2	0	0	9	
<b>Sintomatología</b>						----
Si	0	0	0	0	0	
No	124	99,2	1	0,8	125	
<b>Total,</b>	<b>124</b>	<b>99,2</b>	<b>1</b>	<b>0,8</b>	<b>125</b>	

**Nota:** En la tabla se muestran el número de casos positivos y negativos, además en la columna derecha se muestra el valor de P de cada variable establecida, cuyo dato fue obtenido aplicando el test Fisher por la aplicación R studio.

En caso de los síntomas no existe un valor estadístico ya que el 100% de los animales no presentaron síntomas relacionados a la infección (Tabla 2). En cuanto la raza, se consideró para el análisis solo aquellos animales que contaban con tal información, de acuerdo a lo proporcionado por AGROCALIDAD. Por otra parte, el caso positivo corresponde a la raza Gyr, en cuanto al

análisis estadístico no arrojo un dato significativo menor o igual a 0,05 por ello la raza no se considera un factor asociado. (Tabla 3).

**Tabla.4.** Análisis de asociación estadística de la infección por VDVB de acuerdo a la raza

<b>Raza</b>	<b>Negativo</b>		<b>Positivo</b>		<b>Total</b>	<b>Valor de P (Test de Fisher)</b>
	<b>Nº</b>	<b>%</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>		
Brahman	9	8,6	0	0	9	0,5
Brown Swiss	42	40,3	0	0	42	
Gyr	15	14,4	1	0,9	16	
Holstein Friesian	15	14,4	0	0	15	
Jersey	8	7,61	0	0	18	
Mestiza	14	13,4	0	0	14	
<b>Total</b>	<b>103</b>	<b>98,9</b>	<b>1</b>	<b>0,9</b>	<b>105</b>	

**Nota:** Análisis realizado aplicando el test de Fisher, con el fin de obtener el valor de P de acuerdo a la variable raza

Debido a la ausencia de factores asociados a la infección no se realizó un estudio estadístico de los factores de riesgo.

## **7. Discusión**

La diarrea viral bovina es una enfermedad que se encuentra distribuida en todo el mundo, incluyendo al Ecuador, y se ha considerado una de las enfermedades más estudiadas en el sector ganadero, esto es debido a que genera un gran impacto negativo a la economía de los productores (Buitrago et al., 2018).

En la región sur del Ecuador específicamente en la provincia de Loja, la mayoría de los ganaderos manejan sus hatos de forma tradicional o extensiva y esto sumado al desconocimiento de enfermedades como la diarrea viral bovina, ha provocado un mal manejo de la sanidad del sector ganadero (Chamba, 2008). Por tanto, esto implica pérdidas económicas en la provincia, ya que la enfermedad infecta a las etapas de producción, causando muertes fetales, abortos, disminución de ganancia de peso, disminución de leche y en ocasiones muerte del animal (Silva, et al 2020).

### **7.1. Frecuencia de diarrea viral bovina**

De los datos evaluados en la presente investigación solo el cantón Celica se detectó un caso positivo, lo que corresponde a una frecuencia el 0,8% de DVB, resultado que es inferior a los obtenidos en estudios serológicos que han buscado determinar la prevalencia en otras regiones del sur del Ecuador, tal es el caso de lo reportado por Gonzales (2015) quien obtuvo una seroprevalencia del 22,9% en el cantón Gonzanamá y Labanda (2015) quien determinó una prevalencia del 29% en el cantón Loja, ambos estudios realizados en la Provincia de Loja. Por otro lado, Aguirre (2021) reportó una seroprevalencia del 42,38% en el cantón El Pangui de la provincia de Zamora.

Por su parte, Carrillo (2019) en pruebas de diagnóstico de reacción en cadena de polimerasa (PCR ) en el cantón Santa Rosa de la provincia de El Oro no encontró ningún caso positivo, reportando el 0% de prevalencia.

En otros países de la región vale la pena destacar resultados tales como los obtenidos por García y Cauty (2021) que han demostrado una prevalencia del 82,56% para el sector de Ayacucho en Perú. Mientras tanto, Naranjo (2022) menciona que existe una prevalencia del

25,83% en el trópico colombiano, así mismo, Corro et al., (2017) afirma una prevalencia del 55,43% en Yaracuy Venezuela. Según los autores mencionados, esto se debe a las deficientes prácticas de manejo de los animales, tamaño del rebaño densidad de población y por alta presencia de los animales persistentemente infectados.

Es probable que la baja frecuencia de la infección detectada en esta investigación se relacione con el tipo de muestreo que se utilizó, además los animales estudiados no presentaron ningún síntoma relacionado con la infección, este último dato no concuerda con las investigaciones de Aguirre (2021) y Gonzales (2015) quienes encontraron que los animales que no presentaron signos fueron en mayor medida seropositivos que los que si presentaron,; Kubati et al., (2021) mencionan que los animales después de superar la infección aguda por el DVB se vuelven subclínicos y portan el virus por el resto de su vida sin presentar algún síntoma, por lo tanto, hace que sea más difícil su diagnóstico y que los animales infectados pasen desapercibidos entre el rebaño, esto explica la alta prevalencia en aquellos animales que no presentaron signos en las investigaciones antes citadas .

## **7.2. Factores de riesgo asociados a la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja.**

En el presente estudio las variables establecidas como: procedencia, edad, sexo, sintomatología, fecha de muestreo y raza no se consideran como factores de asociados a la enfermedad ( $p>0,05$ ), mientras tanto, Aguirre (2021) afirma que en la provincia amazónica de Zamora Chinchipe la procedencia fue considerado un factor de asociado en su investigación, debido a que los ganaderos en tal sector remplazan los animales en ferias ganaderas o los remplazan con animales procedentes de otros cantones lo que hace más eficaz la trasmisión del virus.

Sin embargo, de acuerdo a comunicaciones personales por parte de los profesionales veterinarios de la institución (AGROCALIDAD) en esta población estudiada, los ganaderos remplazan sus animales con sus mismos hatos ganaderos lo que haría que la procedencia no sea un factor de asociado.

Así mismo, en la investigación citada previamente se reporta que los animales de mayor edad tienen más posibilidades de contraer el virus, lo que coincide con los mencionado por Escudero y Morales (2013), que indican en su investigación que los animales mayores a 8 años son más susceptibles al virus, esto es debido a que los animales de mayor edad tienen un mayor tiempo de exposición al virus y con ello aumenta la susceptibilidad y disminuye la respuesta inmunitaria; sin embargo, los estudios realizados por Buitrago et al., (2018) indican lo contrario, los animales más jóvenes, aproximadamente 4 meses de edad son los más propensos a contraer la infección. Según la OIE (2018) los animales de corta edad en etapa de destete, tienen más probabilidades a contraer una infección aguda, esto se atribuye al estrés que causa el destete y al cambio de alimentación, por lo tanto, baja la respuesta inmunológica, volviéndose más propensos al virus.

En cuanto a la raza, Cifuentes & Hurtado, (2019) encontró en su investigación que esta es un factor asociado, donde los animales de raza pura son más susceptibles al virus, esto puede deberse a que la mayoría de estos animales son manejados de una forma intensiva, por lo tanto, están en contacto directo con todos los animales de la granja y esto facilita la propagación del virus. A su vez Soto, (2018) afirma que los animales de raza Charoláis y Brown Swis son más propensas a infectarse en hatos con poblaciones grandes. Sin embargo, en la provincia de Loja la mayoría de los ganaderos manejan sus rebaños en una forma extensiva lo que el hacinamiento entre animales es menor y esto favorece a que el virus de propague lentamente.

En la presente investigación el sexo no se considera un factor asociado, lo que coincide con Nava et al., (2013) y Herrera et al., (2011) al reportar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el sexo y la ocurrencia de infección por DVB.

Otros estudios relacionados con la DVB indican que el piso altitudinal influye en la transmisión, así pues Ramos (2017) indica que los pisos superiores a los 2,338 m.snm son potenciales factores de riesgo asociados a la DVB, por su parte, Labanda, (2015) menciona que el mayor número de casos positivos fueron aquellos animales que habitan en pisos altitudinales 1400 y 1750 m.snm. Esto está relacionado con el cambio de temperatura ambiental dependiente del piso altitudinal, tanto el frío y el estrés calórico puede causar efectos negativos en la respuesta inmune del animal volviéndolos más vulnerables a virus.

## **8. Conclusiones**

- La frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en los cantones Céllica, Espíndola y Paltas de la provincia de Loja es del 0,8 %, donde el único caso reportado fue en el cantón Céllica. Por lo tanto, se concluye que en a la población estudiada existe una baja frecuencia de la enfermedad.
- En cuanto, a los factores de riesgos asociados, no se identificó ningún factor asociado a la infección y debido a la usencia de un número considerable de casos positivos no se realizó un estudio estadístico de los factores de riesgo

## **9. Recomendaciones**

- Se recomienda seguir realizando estudios sobre la frecuencia de la diarrea viral bovina en la provincia, tomando como referencia a cantones donde no se han realizado este tipo de investigaciones. Para los factores asociados es necesario que se considere, sintomatología, sistema de manejo, sexo, edad, raza y procedencia con el fin de tener una visión más clara de los factores asociados a la infección
- Se recomienda realizar un estudio minucioso que dé seguimiento a los animales donde se encontró el caso positivo en esta investigación, así como también, ampliar el número de animales estudiados en el cantón Celica con el fin de conocer el impacto que pueda estar ocasionando la enfermedad en dicho cantón.
- Realizar estudios donde se utilicen métodos de diagnóstico directos con mayor sensibilidad y especificidad como el análisis molecular PCR y utilizar un número mayor de muestras, que lo posible sean seleccionadas de manera aleatoria.
- Se recomienda realizar programas de bioseguridad, donde se tome en cuenta, la cuarentena de animales provenientes de otras fincas o cantones y animales con sintomatología sospechosa.

## 10. Bibliografía

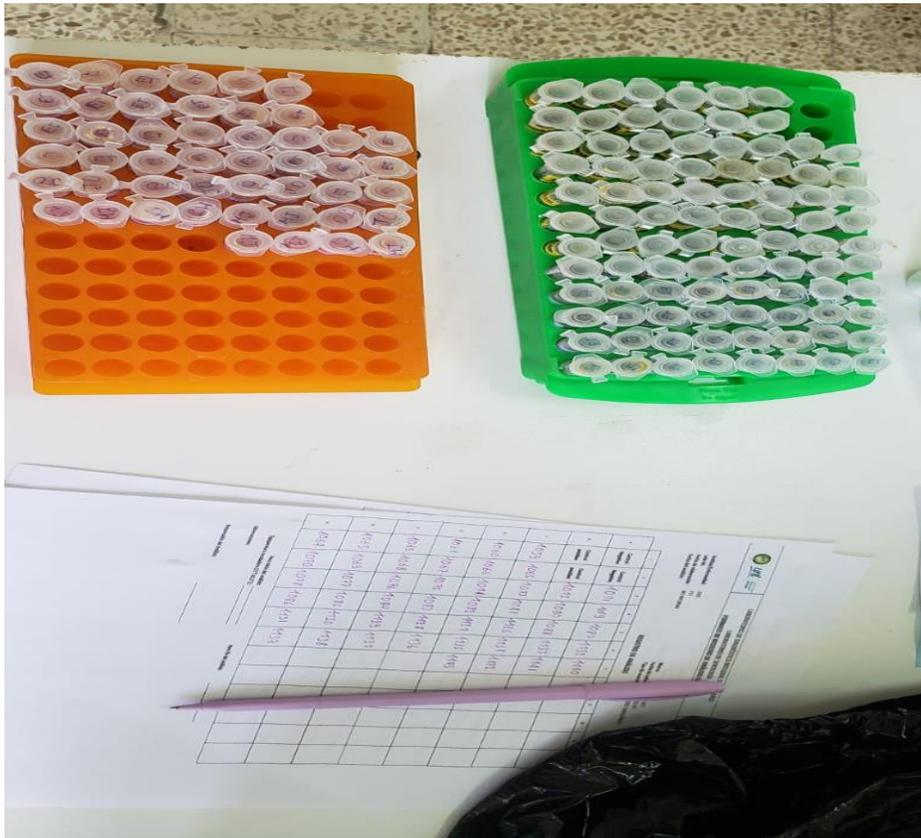
- Al-Kubati, A. G., Hussien, J., Kandeel, M., Al-Mubarak, A. I. A., & Hemida, M. G. (2021). Recent advances on the bovine viral diarrhoea virus molecular pathogenesis, immune response, and vaccines development. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 665128.
- Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4–15.
- Berríos, P. (2015). Diarrea viral bovina. *Enfermedad de las mil caras*. Científica, 12(3).
- Buitrago Horta, E. R., Jiménez Escobar, C., & Zambrano Varón, J. L. (2018). Identificación de factores asociados con la exposición al virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en terneras de hatos lecheros de la sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*, 36, 63–73.
- Cifuentes Sánchez, L. Y., & Hurtado Ibáñez, L. A. (2019). Factores asociados a la presentación de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en hatos bovinos del municipio de Tauramena, Casanare 2015. No Objeto Asociado.
- Colitti, B., Nogarol, C., Giacobini, M., Capucchio, M. T., Biasato, I., Rosati, S., & Bertolotti, L. (2019). Compartmentalized evolution of Bovine Viral Diarrhoea Virus type 2 in an immunotolerant persistently infected cow. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
- Corro, A., Escalona, J., Mosquera, O., & Vargas, F. (2017). Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina en vacas y novillas no vacunadas en el Municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 22(1), 27–32.
- Oliveira, L. G., Mechler-Dreibi, M. L., Almeida, H. M. S., & Gatto, I. R. H. (2020). Bovine viral diarrhoea virus: Recent findings about its occurrence in pigs. *Viruses*, 12(6), 600.
- Diao, N.-C., Chen, Z.-Y., Shi, J.-F., Wang, Q., Sheng, C.-Y., Ma, B.-Y., Yang, Y., Sun, Y.-H., Shi, K., & Du, R. (2021). Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in ovine and caprine flocks: A global systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*, 8.
- Encinias, M., & Wenzel, J. C. (2009). Preventing persistent infections of bovine viral diarrhoea virus in beef cow herds.

- Hairgrove, T., Beckham, T., & Banta, J. (n.d.). Understanding Bovine Viral Diarrhea in Beef Herds.
- Herrera, A., Manchego, A., Ramírez, M., More, J., & Rivera, H. (2011). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral en bovinos de crianza extensiva de la provincia de San Pablo, Cajamarca. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 22(2), 171–175.
- Jaime, J., & Ramírez, G. (1996). Inmunosupresión e inmunotolerancia asociados a infección por el virus de la diarrea viral bovina (VDVB). *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 44(1), 54–58.
- Khodakaram-Tafti, A., & Farjanikish, G. H. (2017). Persistent bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in cattle herds. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(3), 154.
- Klimowicz-Bodys, M. D., Polak, M. P., Płoneczka-Janeczko, K., Bagnicka, E., Zbroja, D., & Rypuła, K. (2022). Lack of Fetal Protection against Bovine Viral Diarrhea Virus in a Vaccinated Heifer. *Viruses*, 14(2), 311.
- Lértora, W. J. (2016). Diarrea viral bovina: actualización. *Revista Veterinaria*, 14(1), 42–51.
- Luzzago, C., & Decaro, N. (2021). Epidemiology of bovine pestiviruses circulating in Italy. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 669942.
- Malacari, D. A., Pécora, A., Pérez Aguirreburualde, M. S., Cardoso, N. P., Odeón, A. C., & Capozzo, A. V. (2018). In vitro and in vivo characterization of a typical and a high pathogenic bovine viral diarrhea virus type II strains. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 75.
- Martínez, William I, G., Toro M, Blanca D. (2018.).:Enfermedades infecciosas presentes en bovinos.
- Mishra, N., & Kalaiyarasu, S. (2019). Bovine viral diarrhea virus. In *Recent Advances in Animal Virology* (pp. 253–288). Springer.
- Moennig, V., & Becher, P. (2018). Control of bovine viral diarrhea. *Pathogens*, 7(1), 29.
- Morales Chumpitaz, C. (2019). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en el ganado lechero en la región Cajamarca (2008–2017).
- Murillo, V. E. V., & Beltrán, A. H. (n.d.). Innovación en la ganadería veracruzana.
- Nava Lotuffo, Z. M., Bracamonte Pérez, M. B., Hidalgo Díaz, M. A., & Escobar, R. T. (2013). Seroprevalencia de la diarrea viral bovina en rebaños lecheros de dos

- municipios del estado Barinas, Venezuela. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33(2), 162–168.
- Newcomer, B. W., Chamorro, M. F., & Walz, P. H. (2017). Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiology*, 206, 78–83.
- Ortega, D. O., Sarmiento, R. A. M., Torreglosa, J. C. T., & Rocha, J. F. (2020). Prevalence and risk factors of bovine viral diarrhoea in Colombian cattle. *Veterinary World*, 13(8), 1487.
- Pecora, A., & Perez Aguirreburialde, M. S. (2017). Actualización en diarrea viral bovina, herramientas diagnósticas y estrategias de prevención. Ediciones INTA.
- Quintana, M. E., Barone, L., Forlenza, M. B., Trotta, M. V., Turco, C., Mansilla, F. C., Cardoso, N. P., & Capozzo, A. V. (2018). A direct high-throughput in Cell-ELISA for measuring infectivity of cytopathic and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus strains applied to the assessment of antiviral activity. *Journal of Virological Methods*, 260, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.07.010>
- Rondón, I. (2006). Diarrea viral bovina: patogénesis e inmunopatología. *Revista MVZ Córdoba*, 11(1), 694–704.
- Rosete Fernández, J. V., Socci Escatell, G. A., Fragoso Islas, A., Zárate Martínez, J. P., Olazarán Jenkins, S., Granados Zurita, L., Ríos Utrera, Á., Rosete Fernández, J. V., Socci Escatell, G. A., Fragoso Islas, A., Zárate artínez, J. P., Olazarán Jenkins, S., Granados Zurita, L., & Ríos Utrera, Á. (2022). Frecuencia de anticuerpos séricos contra los virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en toros, y su relación con la presencia de los virus en semen. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 12(4), 1151–1167. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i4.5739>
- Sánchez-Cordón, P. J., Pedrera, M., Núñez Castel, A., Alexandre, A., Romero Trevejo, J. L., Risalde, M. A., Ruiz-Villamor, E., & Gómez-Villamandos, J. C. (2007). Diarrea vírica bovina: etiología, formas clínicas, distribución del virus y patogenia.
- Silva Silveira, C. da. (2019). Enfermedades infecciosas que causan abortos en bovinos con enfoque en rodeos lecheros de Uruguay.
- Soto Quispe, A. (2018). Seroprevalencia de la diarrea viral bovina en el centro de investigación y producción de Chuquibambilla, Puno.

- Su, A., Fu, Y., Meens, J., Yang, W., Meng, F., Herrler, G., & Becher, P. (2021). Infection of polarized bovine respiratory epithelial cells by bovine viral diarrhea virus (BVDV). *Virulence*, *12*(1), 177–187.
- Walz, P. H., Chamorro, M. F., M Falkenberg, S., Passler, T., van der Meer, F., & R Woolums, A. (2020). Bovine viral diarrhea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *34*(5), 1690–1706.
- Zúñiga, A., Rivera, H., Araínga, M., & Manchego, A. (2006). Evaluación de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina de un hato en proceso de erradicación de la enfermedad. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *17*(1), 44–50.

## 11. Anexos



**Anexos 1.** Identificación de las muestras



**Anexo 2.** Colocación de los reactivos de ELISA

VALIDACION DEL TEST DE ELISA PARA EL DVB												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Control N	Control N	165	636	1033	1041	1049	1065	1073	1081	1081	1026
B	Control P	Control P	166	637	1034	1042	1050	1066	1074	1082	1082	1127
C	152	158	167	638	1035	1043	1051	1067	1075	1083	1083	1228
D	153	159	631	639	1036	1044	1052	1068	1076	1084	1084	1329
E	154	161	632	1029	1037	1045	1053	1069	1077	1085	1085	1430
F	155	162	633	1030	1038	1046	1054	1070	1078	1086	1086	1531
G	156	163	634	1031	1039	1047	1055	1071	1079	1087	1087	1632
H	157	164	635	1032	1040	1048	1056	1072	1080	1088	1088	1733

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,297	1,306	1,274	1,189	1,039	1,156	1,200	1,099	1,111	1,111	1,090	1,050
B	0,076	0,075	1,118	0,990	1,099	1,104	1,104	1,154	1,079	0,950	1,173	1,145
C	1,194	1,108	1,039	1,079	1,158	1,063	1,169	0,969	1,156	1,098	1,068	0,544
D	1,112	1,241	1,007	1,059	1,153	1,112	0,986	1,014	0,908	1,093	1,123	1,049
E	1,257	1,046	0,996	1,156	1,094	1,121	1,036	1,102	1,116	1	1,091	1,142
F	1,132	1,157	1,055	1,058	1,104	1,186	1,159	1,100	1,140	0,814	1,185	0,867
G	1,217	0,066	1,141	1,249	1,296	1,078	1,244	1,145	1,204	1,170	0,865	0,981
H	1,222	1,227	1,156	1,132	1,197	1,198	1,149	1,235	1,188	1,189	1,037	1,071

### Anexo 3. Validación e interpretación de kit de ELISA

TIPO DE CLIENTE	No. DE INFORME	No. MUESTRAS	CÓDIGO MUESTRA LABORATORIO	ESPECIE	NÚMERO MUESTRA INICIAL	NÚMERO MUESTRA FINAL	ORDEN DE TRABAJO	EVENTO SISZE	QUIPUX	FACTURA	NOMBRE DEL CLIENTE	DIRECCIÓN	TELÉFONO	E-MAIL	TIPO DE MUESTRA	MOTIVO DE ANÁLISIS	EXONERACIÓN (SI/NO)
CE	LOJA-DA-Eb21	10	2101-059 al-1	bovinos	114	123	11-2021-005	Na	068-M	012-001-802	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LOJA-DA-Eb21	10	2101-059 al-1	bovinos	124	133	11-2021-006	Na	65-M	012-001-803	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LOJA-DA-Eb21	6	2101-059 al-1	bovinos	152	157	11-2021-009	Na	067-M	012-001-804	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LOJA-DA-Eb21	10	2101-059 al-1	bovinos	158	167	11-2021-010	Na	066-M	012-001-809	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LOJA-DA-Eb21	9	1-b2103-631	bovinos	631	639	11-2021-034	Na	345-M	012-001-865	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LR-LOJA-DA-Eb21-101	60	1-b2106-1029	bovinos	1029	1080	11-2021-074	Na	794-M	2-001-00009	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LR-LOJA-DA-Eb21-110	8	1-b2106-1126	bovinos	1126	1133	11-2021-083	Na	849-M	2-001-000009	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	
CE	LR-LOJA-DA-Eb21-111	10	1-b2106-1134	bovinos	1134	1143	11-2021-084	Na	850-M	2-001-000009	ROCALIDAD Lámuma y Cádiz	261-44-63	loja@rocalidad-af.ec	Suero sanguíneo	Cliente Externo	NO	

### Anexo 4. Base de datos proporcionada por Agrocalidad.

The screenshot displays the RStudio interface with the following components:

- Environment Pane:** Lists loaded objects:
  - anova: List of 13
  - bloque: List of 13
  - diarrea.viral.bov: 104 obs. of 13 variables
  - edad: 104 obs. of 10 variables
  - ejANOVA2008: 105 obs. of 17 variables
  - elisa: 128 obs. of 4 variables
  - librol: 125 obs. of 8 variables
- Files Pane:** Shows the 'User Library' with various installed packages and their versions.
- Console:** Contains the following R code and output:
 

```

      [workspace loaded from ~/.Rdata]
      > diarrea.viral.bovina <- read.delim("c:/Users/LENOVO/Desktop/diarrea viral bovina.txt")
      > view(diarrea.viral.bovina)
      > attach(diarrea.viral.bovina)
      > fisher.test(CANTON, DIAGNOSTICO)

      Fisher's Exact Test for Count Data

      data: CANTON and DIAGNOSTICO
      p-value = 0.4904
      alternative hypothesis: two.sided
      
```
- Data Table:** A table with columns: N.MUESTRA, AÑO, PROVINCIA, CANTON, EDAD, SEXO, RAZA, SINTOMATOLOGIA. It shows 11 rows of data.

Anexo 5. Análisis estadístico mediante la aplicación R studio



**unl**

Universidad  
Nacional  
de Loja

Loja, 13 de enero de 2022

Lic. Marlon Armijos Ramírez Mgs.  
**DOCENTE DE PEDAGOGIA DE LOS IDIOMAS  
NACIONALES Y EXTRANJEROS – UNL**

**CERTIFICA:**

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen del Trabajo de Integración Curricular titulado “**Frecuencia de la infección por el virus de la diarrea viral bovina en la provincia de Loja**”, autoría de Lenin Fabricio Gómez Jiménez con CI: 1150957601, de la carrera de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifica en honor a la verdad y autorizo al interesado hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Atentamente,

Empleado digitalmente por  
MARLON RICHARD ARMUJOS RAMIREZ  
ARMUJOS RAMIREZ  
Fecha: 2022.01.13  
11:25:42 -05'00'

**MARLON ARMUJOS RAMÍREZ**  
DOCENTE DE LA CARRERA PINE-UNL  
1031-12-1131340  
1031-2017-1905329

*Educamos para Transformar*

**Anexo 6.** Certificado de traducción de resumen