



# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

**ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA  
VIRAL BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN  
SARAGURO, PROVINCIA DE LOJA”**

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

**AUTOR:**

**Kleber Jairo González Carbajal**

**DIRECTOR:**

**Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc.**

**LOJA – ECUADOR**

**2016**

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

**CERTIFICACIÓN**

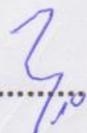
Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc.

**DIRECTOR DE TESIS**

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de investigación titulado, **“ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO, PROVINCIA DE LOJA”**, realizado por el egresado, Kleber Jairo González Carbajal, previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista, ha concluido dentro del cronograma aprobado y se autoriza su presentación final para la calificación correspondiente.

Loja, 29 de febrero del 2016

.....  


Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc.

**DIRECTOR DE TESIS**

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

**CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

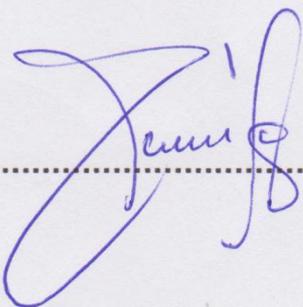
**“ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL  
BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO,  
PROVINCIA DE LOJA”**

Tesis presentada al Tribunal de Grado como requisito, previo a la obtención del título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**APROBADA**

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

.....  


**Dra. Patricia Ayora Fernández**  
**VOCAL**

.....  


**Dr. Galo Escudero Sánchez Mg. Sc.**  
**VOCAL**

.....  


## AUTORÍA

Yo, Kleber Jairo González Carbajal, declaro ser 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:** Kleber Jairo González Carbajal

**Firma:** \_\_\_\_\_



**Cédula:** 1105156721

**Fecha:** Loja, 15 de abril 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, Kleber Jairo González Carbajal, declaro ser autor de la tesis titulada: **“ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO, PROVINCIA DE LOJA”**, como requisito para optar al grado de: **Médico Veterinario y 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 podrán 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 15 días del mes de abril del dos mil dieciséis, firma el autor.

Firma:  \_\_\_\_\_

**Autor:** Kleber Jairo González Carbajal

**Número de cédula:** 1105156721

**Dirección:** Loja Loja

**Correo electrónico:** jairo190515@gmail.com

**Celular:** 0992043244

### **DATOS COMPLEMENTARIOS**

**Directores de Tesis:** Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc.

**Tribunal de Grado:** Dr. Tito Muñoz Guarnizo Mg. Sc.

Dra. Patricia Ayora Fernández

Dr. Galo Escudero Sánchez Mg. Sc.

## **AGRADECIMIENTO**

Mi más sincera gratitud y afecto a las autoridades de la Universidad Nacional de Loja, al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales renovables a la Carrera de Medicina veterinaria y zootecnia a los docentes, compañeros, amigos.

Mi agradecimiento especial al director de tesis Dr. Segundo Barragán Fierro, y al Asesor de tesis Dr. Luis Antonio Aguirre quienes con su capacidad de entrega y calidad humana han sabido guiar, encaminar este trabajo para culminar exitosamente la presente investigación

Mi más profundo agradecimiento a todas aquellas personas que desinteresadamente nos facilitaron sus animales para la recolección de muestras para llevar a cabo dicho estudio, contribuyendo de esta manera, a la realización y culminación de la presente tesis.

Mi especial agradecimiento a Dios que siempre fue mi soporte para la realización de este y muchos otros trabajos.

## **DEDICATORIA**

Esta meta de formación profesional dedicación, perseverancia y esfuerzo diario lo dedico a Dios, por darme la oportunidad de haber participado en este proceso y por haberme permitido culminar una de mis metas.

Todo el esfuerzo y la culminación del presente trabajo lo dedico con mucho cariño y amor de manera especial a mis queridos padres Líder Alejandro González Tinoco y Narcisa Indaura Carbajal Cabrera. Por todo su apoyo durante toda mi vida y de manera incondicional durante todos los años de estudio que recibí de su parte.

También a mí adorada esposa Patricia Maribel Villegas Cayetano y a mi hija Valentina González Villegas fuentes de motivación y fortaleza en mi vida y por estar siempre conmigo y gracias por su comprensión de igual forma a mis hermanas Tatiana González y Narcisa González porque sin todos ellos nada de esto fuera posible y a todas las personas que una u otra forma contribuyeron parte de este triunfo.

**Kleber Jairo González Carbajal.**

# ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	Pág.
<b>CERTIFICACIÓN</b> .....	ii
<b>CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO</b> .....	iii
<b>AUTORÍA</b> .....	iv
<b>CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS</b> .....	v
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	vi
<b>DEDICATORIA</b> .....	vii
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	xi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>RESUMEN</b> .....	xiii
<b>SUMMARY</b> .....	xiv
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
2.1. LA DIARREA VIRAL BOVINA.....	3
2.2. ANTECEDENTES .....	5
2.2.1. Etiología .....	5
2.2.2. Taxonomía y Estructura .....	5
2.2.3. Variabilidad .....	8
2.2.4. Organización del Genoma Viral .....	9
2.2.5. Clasificación del vDVB .....	10
2.2.6. Genotipificación del vDVB.....	10
2.3. REPLICACIÓN VIRAL.....	12
2.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	14
2.4.1. Hospedador.....	15
2.4.2. Fuentes de la Infección .....	15
2.4.3. Métodos de Transmisión .....	15
2.4.3.1. Transmisión vertical .....	16
2.4.3.2. Transmisión horizontal .....	16
2.4.3.3. Transmisión entre rebaños.....	18
2.4.3.4. Transmisión dentro del rebaño.....	19

2.4.4.	Animales Persistentemente Infectados (PI)	19
2.5.	PATOGENESIS Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS	20
2.5.1.	Infección Subclínica	21
2.5.2.	Infección Aguda	21
2.5.3.	Enfermedad de las Mucosas	22
2.5.4.	Síndrome Hemorrágico	22
2.5.5.	Complejo Respiratorio	23
2.5.6.	Infección Venérea	23
2.5.7.	Infección en Hembras Gestantes	24
2.5.8.	Terneros persistentemente Recién Nacidos	26
2.5.9.	Infección Persistente	26
2.6.	ASPECTOS INMUNOLÓGICOS	27
2.7.	MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	27
2.7.1.	Técnicas de diagnóstico	28
2.7.1.1.	Aislamiento viral	28
2.7.1.2.	Inmunohistoquímica	28
2.7.1.3.	ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas)	28
2.7.1.4.	Pruebas de detección de ácidos nucleicos	32
2.8.	OTROS ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE PREVALENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA	32
3.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	34
3.1.	MATERIALES	34
3.1.1.	Materiales de Campo	34
3.1.2.	Materiales de Laboratorio	34
3.1.3.	Materiales de Oficina	35
3.1.4.	Muestras Biológicas	35
3.2.	MÉTODOS	35
3.2.1.	Ubicación del Área de Estudio	35
3.2.2.	Métodos de Muestreo	35
3.2.3.	Tamaño de la muestra	35
3.2.4.	Cálculo de la Fracción	36
3.2.4.1.	Distribución de la población en el cantón Saraguro	37
3.2.5.	Recolección de Muestras de Leche	37
3.2.6.	Almacenamiento de las muestras	38
3.2.7.	Preparación de ELISA indirecto	38

3.2.7.1. Preparación de reactivos.....	39
3.2.7.2. Protocolo de ensayo.....	39
3.2.7.3. Cálculo de los resultados .....	40
3.2.8. Registro de Datos.....	41
3.2.9. Variables .....	42
3.2.10. Análisis Estadístico .....	42
4. <b>RESULTADOS</b> .....	43
4.1. RESULTADOS POR PARROQUIAS .....	43
4.2. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA EDAD DE LOS ANIMALES .....	44
4.3. PREVALENCIA DE ACUERDO AL NÚMERO DE PARTOS .....	45
4.4. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA RAZA .....	46
4.5. PREVALENCIA DE ACUERDO AL SISTEMA DE MANEJO .....	47
4.6. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD .....	48
4.7. PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS MÉTODOS DE REPRODUCCIÓN.....	49
4.8. PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SÍGNOS CLINICOS .....	50
5. <b>DISCUSIÓN</b> .....	52
6. <b>CONCLUSIONES</b> .....	58
7. <b>RECOMENDACIONES</b> .....	59
8. <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	60
9. <b>ANEXOS</b> .....	67
10. <b>GLOSARIO</b> .....	76

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
Cuadro 1. Parroquias con su respectiva población y número de muestras recolectadas.....	37
Cuadro 2. Reactivos del kit IDEXX BVDV.....	38
Cuadro 3. Prevalencia de la DVB en las parroquias del cantón Saraguro (%).....	43
Cuadro 4. Prevalencia de la DVB de acuerdo a la edad de los animales. ....	44
Cuadro 5. Prevalencia de la DVB de acuerdo al número de partos.....	45
Cuadro 6. Prevalencia de la DVB de acuerdo a las razas. ....	46
Cuadro 7. Prevalencia de la DVB de acuerdo al sistema de manejo.....	47
Cuadro 8. Prevalencia de la DVB de acuerdo a las normas de bioseguridad. ....	48
Cuadro 9. Prevalencia de la DVB de acuerdo a los métodos de reproducción .....	49
Cuadro 10. Prevalencia de acuerdo los signos clínicos.....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
Figura 1. Representación Esquemática del Virión del vDVB. ....	8
Figura 2. Resultados porcentuales de la Prevalencia del (vDVB) en las parroquias del cantón Saraguro. ....	44
Figura 3. Resultados porcentuales de acuerdo a las edades. ....	45
Figura 4. Resultados porcentuales de acuerdo al número de partos.....	46
Figura 5. Resultados porcentuales de acuerdo a la raza.....	47
Figura 6. Resultados porcentuales de acuerdo a los sistemas de manejo. ....	48
Figura 7. Resultados porcentuales de acuerdo a las normas de bioseguridad. ....	49
Figura 8. Resultados porcentuales de acuerdo a los métodos de reproducción. ....	50
Figura 9. Resultados porcentuales de acuerdo a los síntomas. ....	51

## RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en el cantón Saraguro, provincia de Loja, Ecuador con el objetivo de determinar la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) en vacas lecheras. El número de muestras fue de 154, para la detección de anticuerpos contra el vDVB en leche, mediante la prueba de ELISA indirecta. Se consideró la frecuencia de cada una de las variables obtenidas, en las que se determinó una prevalencia de 27,92 % del cantón Saraguro; la parroquia con el mayor porcentaje de vDVB tiene un 66,67 %; las vacas  $\geq 8$  años de edad presentaron un porcentaje de 35,71 %; entre 3 a 4 partos presentaron un alto porcentaje de positividad con 31,75 %; las vacas Jersey presentaron un porcentaje elevado de positividad con un 66,67 %; en sistemas de manejo el semiextensivo obtuvo el mayor porcentaje de positividad con un 33,63 %; las granjas que contaban con normas de bioseguridad obtuvieron un porcentaje de 40 %; las vacas sometidas a Inseminación artificial fueron las que más porcentaje de positividad obtuvieron con un 40 %; en lo que refiere a signos clínicos aquellos animales que presentaron diarrea y abortos fueron positivos a presentar anticuerpos de DVB con un porcentaje del 100 %.

**Palabras Clave:** DVB, Prevalencia, ELISA, Saraguro.

## SUMMARY

This following research work was done in Saraguro canton, province of Loja, Ecuador with the aim of determining the prevalence of the virus of the bovine viral diarrhoea (BVDV) in dairy cows. The number of samples was of 154, for the detection of antibodies against BVDV in milk by the indirect ELISA test. It was considered the frequency of each of the variables obtained, in which a prevalence of 27.92% was determined of Saraguro canton; the parish with the highest percentage of BVDV has a 66.67 %: cows  $\geq 8$  years old had a percentage of 35.71%; 3 to 4 births showed a high percentage of positivity with 31.75%; the Jersey cows showed a high percentage of positivity with 66.67%; in the semi-extensive management systems it had the highest percentage of positivity with 33.63%; farms with biosafety standards had obtained a percentage of 40%; cows inseminated were the largest percentage of positivity obtained with 40%; when it comes to clinical signs animals that had diarrhoea and abortions were positive for showing antibodies of DVB with a percentage of 100%.

**Key words:** BVDV, Prevalence, ELISA, Saraguro.

## 1. INTRODUCCIÓN

La Diarrea Viral Bovina del (vDVB) es una enfermedad infecto-contagiosa con amplia distribución mundial y que limita la eficiencia productiva debido a la persistencia del virus en la naturaleza. El vDVB es endémico en algunos hatos bovinos lecheros y de doble propósito del Ecuador, cuantificándose a nivel de país una prevalencia del 39,4 % (Jara, 2008). Causando grandes pérdidas económicas debido a su presentación clínica con trastornos reproductivos y muerte embrionaria; entre otros. Además de animales persistentemente infectados, los cuales resultan estériles o diseminan la enfermedad (Baker, 1990).

En el cantón Loja estudios realizados por Lavanda (2015) se encontró una prevalencia del 29% en vacas lecheras que tienen más de una cría.

Considerando que el cantón Saraguro está constituido por pequeñas ganaderías con 3 a 10 vacas en producción que constituyen el sustento de sus familias y en ellas probablemente la DVB puede ocasionar 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, la presente investigación satisface 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 de Saraguro.

Es por ello que con esta investigación se logró determinar la prevalencia actual de la enfermedad, utilizando leche como alternativa al suero sanguíneo y como método de diagnóstico a ELISA Indirecto debido a 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 siendo la IgG la principal inmunoglobulina presente en leche y calostro (Tizard, 2002 y Pritchrd, 2001). Para el efecto se plantearon los siguientes objetivos:

- Calcular la prevalencia del vDVB de acuerdo a las Parroquias.
- Determinar la prevalencia del vDVB de acuerdo a la edad de los animales.
- Calcular la prevalencia del vDVB de acuerdo a la Raza y al número de partos.
- Determinar la prevalencia de vDVB de acuerdo al sistema de manejo, bioseguridad y métodos de reproducción.
- Relacionar los signos clínicos 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 (vDVB) 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).

El virus de la vDVB es un Pestivirus que originalmente fue clasificado en la familia de los Togaviridae, pero que debido a sus características moleculares se reclasificó dentro de la familia Flaviviridae. Es un virus de genoma ARN, pequeño con una envoltura lipoproteica que está estrechamente emparentado con el virus de la Enfermedad de Border de los ovinos y en un menor grado con el virus de la Peste Porcina Clásica. El vDVB puede infectar también de manera subclínica ovinos, caprinos, cerdos y otros rumiantes. Este virus también es un contaminante común de materiales biológicos, en especial líneas de cultivos celulares y sueros que se utilizan como promotores de crecimiento celular. Es llamativa la heterogenicidad genómica que se observan en los aislamientos de campo (Duffell y Harkness, 1985).

Hasta el presente se han caracterizado dos Genotipos de virus: genotipo 1 y genotipo II. El primero está asociado a la enfermedad clásica vDVB con sus diferentes presentaciones clínicas; en la naturaleza se aíslan dos Biotipos que se diferencian por su capacidad de producir efecto citopático en cultivos celulares: cepas citopáticas y cepas no citopáticas (vDVB CP y vDVB NCP respectivamente). Asimismo dentro de estos biotipos existen cepas antigénicamente homólogas y otras parcialmente heterólogas. El

Genotipo II fue aislado por primera vez en 1992 y está asociado a cuadros agudos severos y hemorrágicos digestivos agudos en adultos. A este genotipo también se lo aísla de animales infectados persistentemente y de suero fetal. En Argentina se han aislado los dos Genotipos y los dos biotipos del genotipo 1. Recientes estudios sobre el genoma del vDVB CP indican que estas cepas producen un polipéptido no estructural llamado p80/NS3, el cual es considerado como un marcador bioquímico de las cepas de vDVB CP. Las cepas NCP no poseen este marcador. Por otro lado se demostró que la presencia del p80/NS3 en el virus estimula la replicación del mismo e incremento la actividad enzimática de helicasas y proteasas (enzimas favorecedoras de la difusión del virus dentro del organismo y la modulación de un eficiente desarrollo viral). Las cepas CP aisladas de Enfermedad de Border en ovinos también producen p80/NS3 (Bolin et al., 2004).

Dado que la variabilidad de las cepas de BVD-V que se observan en diferentes regiones del mundo afecta los valores de protección otorgados por las vacunas, es importante realizar estudios genómicos permanentes de las cepas aisladas en el país. Las cepas del Genotipo II aisladas en diferentes brotes son NCP. Las vacunas que se encuentran actualmente disponibles en el comercio de todos los países contienen el genotipo 1, las cuales tienen una protección cruzada contra el genotipo II. Sin embargo esta protección no alcanza para prevenir las infecciones transplacentarias, lo cual indicaría la necesidad de incluir el genotipo II en las vacunas (Baker et al., 1990).

Especial importancia adquiere esta virosis cuando la infección ocurre en la etapa reproductiva, ya que puede interferir con la concepción y la infección transplacental 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).

## **2.2. ANTECEDENTES**

La diarrea viral bovina (DVB) se presentó por primera vez en el año 1946 en Estados Unidos (Olafson et al., 1946), y se caracterizó por la presentación de fiebre alta, depresión, diarrea, deshidratación, anorexia, salivación, descarga nasal, erosiones gastrointestinales, leucopenia, y hemorragia en varios tejidos. El agente causal de esta enfermedad fue aislado por (Lee y Gillespie, 1957) y se denominó VDVB. Una presentación similar pero de mayor severidad se observó en Canadá (Childs, 1946) y Estados Unidos, manifestándose con fiebre, anorexia, depresión, salivación profusa, descarga nasal, hemorragias gastrointestinales, erosiones, úlceras, y diarrea profusa a veces sanguinolenta; condición que posteriormente se denominó “enfermedad de las mucosas” (EM) (Ramsey y Chivers, 1953).

### **2.2.1. Etiología**

### **2.2.2. Taxonomía y Estructura**

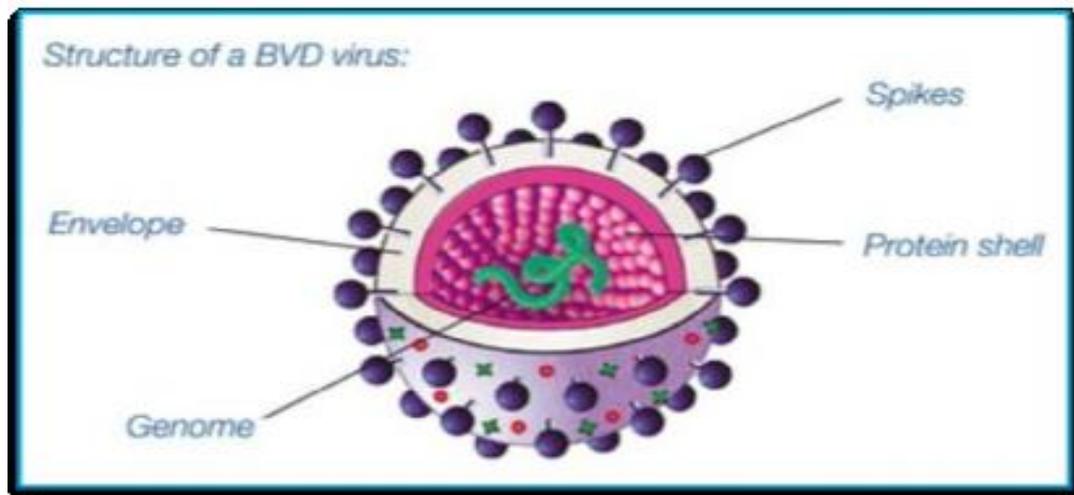
El VDVB pertenece al género Pestivirus de la familia Flaviviridae (Heinz et al., 2000). Se hizo necesaria la reclasificación de estos virus dentro de la familia Flaviviridae (Horzinek, 1991). La familia Flaviviridae (del latín flavus, amarillo) actualmente está constituida por tres géneros: los Flavivirus, los Pestivirus (del latín pestis, plaga), y los Hepacitovirus (del griego hepar, hepatus, hígado) (Heinz et al., 2000).

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 et al., 1995). Entre las proteínas más importantes que confarman la estructura de la partícula tenemos:

- Npro/p20: Es la primera proteína no estructural traducida del ORF y cumple la función de autoproteasa, generado del extremo N terminal de la proteína C/p14 Esta proteína no es requerida para la replicación del ARN viral (Goyal y Ridpath, 2005).
- C/p14: Es la segunda proteína generada y es la más abundante. Constituye la cápside y antígeno del grupo viral. Su función es empaquetar el ARN genómico y proveer las interacciones necesarias donde se anclará la envoltura del virión. Esta proteína no provoca una respuesta de anticuerpos en el ganado (Chase et al., 2004).
- Erns/E0/gp48: Glicoproteína bien conservada que induce altos niveles de anticuerpos aunque con escasa capacidad neutralizante. Es una ARNasa secretada al espacio extracelular por exocitosis durante la replicación viral (Chase et al., 2004).
- E1/gp25: Es otra glicoproteína de envoltura que se ha encontrado en viriones covalentemente unidos al E2/gp53 por puentes disulfuro. Esta proteína no induce una respuesta humoral significativa (Chase et al., 2004).
- E2/gp53: Es la principal glicoproteína y objetivo antigénico de los anticuerpos. Esta glicoproteína es muy antigénica e induce la producción de anticuerpos neutralizantes luego de una infección o vacunación con vacunas vivas o muertas. Además, está asociada con otras actividades biológicas, incluyendo unión al receptor de la célula y ensamblaje viral (Chase et al., 2004).

- p7: Es una proteína no estructural que parece ser esencial para la producción y ensamblaje de virus infeccioso. Esta proteína no es requerida para la replicación del ARN viral (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS2-3/p125: Es una proteína no estructural altamente conservada entre todos los pestivirus, posee propiedades de helicasa y proteasa, indispensable en la replicación viral; cuenta con dos dominios que actúan por separado, NS2/p54 y NS3/p80, cada uno con distintas propiedades químicas. El ganado infectado o vacunado con virus modificado desarrolla una fuerte respuesta humoral contra este polipéptido; mientras que la vacuna a virus muerto produce una respuesta insignificante. Los anticuerpos contra NS2-3/p125 producen reacción cruzada entre VDVB, VPPC y VEF (Chase et al., 2004).
- NS2/p54: Es un producto proteolítico de la NS2-3/p125. Esta proteína tiene una actividad de unión en el ARN. Posee un dominio tipo Zincfinger (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS3/p80: Es un producto proteolítico de la NS2-3/p125, determinando el fenotipo del VDVB. Esta proteína tiene actividad de NTPasa en el extremo amino terminal y de helicasa en el extremo carbono terminal. La NS3/p80 es una proteína altamente conservada en el biotipo CP, 2005) y se produce por mutaciones o recombinaciones entre el ARN del VDVB y ARN celular o duplicaciones del ARN viral. La proteína NS3 es un antígeno inmunodominante en las respuestas de anticuerpo en terneros inmunizados (Chase et al., 2004; Goyal y Ridpath, 2005).
- NS4A/p10: Es una proteína no estructural hidrofóbica que participa como un esencial cofactor de la NS2-3/p125 y la serina proteasa NS3/p80 (Goyal y Ridpath, 2005).

- NS4B/p32: Es una proteína no estructural hidrofóbica. Es un importante modulador de la citopatogenicidad de la cepa NADL del VDVB y se encuentra asociado a la producción del NS3/p80 del fenotipo CP. Esta proteína es un componente de la replicasa (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS5A/p58: Es una fosfoproteína serina que está íntimamente asociada con una o más quinasas. También, es un componente de la replicasa (Goyal y Ridpath, 2005).
- NS5B/p75: Es el ARN polimerasa dependiente de ARN viral (RdRp). Esta proteína ha sido directamente implicada en la morfogénesis del VDVB (Goyal y Ridpath, 2005).



**Figura 1.** Representación Esquemática del Virión del vDVB; el vDVB está constituido por 3 proteínas de envoltura (Erns, E1 y E2) y la proteína de la cápside viral la cual empaqueta el ARN genómico (Revista el Agro, 2013).

### 2.2.3. Variabilidad

La principal característica de este virus ARN es su variabilidad genética y antigénica. Los virus ARN se caracterizan por su plasticidad; 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 de su hospedador. El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversidad antigénica o envoltura (Lértora, 2003).

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 et al., 1994 y Lamberth et al., 2007).

#### **2.2.4. Organización del Genoma Viral**

El genoma de los pestivirus está compuesto de ARN de hebra simple de polaridad positiva de una longitud aproximada de 12,3 kb y no presenta ARNm subgenómicos. El extremo 5' carece de estructura "cap", mientras que el extremo 3' no se encuentra poliadenilado y termina con un corto tracto poli C. El ORF codifica una sola gran poliproteína de cerca de 4.000 kDa, la que será dividida, posterior a la traducción, en proteínas individuales mediante la acción de proteasas virales y celulares (Ridpath, 2005).

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. 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 (Martínez-Salas et al., 2001).

### **2.2.5. Clasificación del vDVB**

Según sus efectos en los cultivos celulares y por el reordenamiento genómico del gen no estructural, los Pestivirus se dividen en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización del citoplasma mediante un mecanismo apoptótico y muerte celular, además se caracteriza por la expresión separada de las proteínas NS2 y NS3 (Donis et al., 2003), los virus NCP no ocasionan cambios o lesiones visibles en el cultivo celular es decir que no causa ningún efecto en la monocapa celular que infecta y donde se multiplica adecuadamente, es decir que la célula infectada parece normal, pero no indica carencia de virulencia o patogenicidad en su huésped usual (bovino); Este biotipo es el más común en la naturaleza y se expresa NS2-3 como proteína fusionada (Bolin et al., 2004). Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos. El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad de las mucosas (EM) y se origina por mutación a partir del biotipo NCP ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción del fragmento de ARN celular y reordenamiento del ARN viral. Los virus NCP presentan afinidad por células linfocitarias mientras que los virus CP infectados de manera predominante las células epiteliales (Bolin et al., 1992 y Bolin et al., 2004).

### **2.2.6. Genotipificación del vDVB**

Los biotipos se refieren a diferencias fenotípicas, mientras que los genotipos indican las diferencias en el genoma. Al virus de DVB se lo divide en genotipos 1 y 2. En un inicio los genotipos fueron reconocidos

como especies distintas ya que la clasificación se realizaba en función a la similitud en la secuencia de la región 5 UTR, actualmente se basa en las diferencias que presentan en distintas partes del genoma (Ridpath et al., 2006).

El virus DVB tipo 1 es responsable de procesos leves con sintomatología inaparente, caracterizados por ligero aumento de la temperatura corporal y la presencia de lesiones moderadas restringidas al aparato digestivo y a órganos del sistema Linfoide; en vacas gestantes este genotipo puede inducir abortos y patologías reproductivas, al virus DVB tipo 2 se lo asocia con enfermedades agudas severas caracterizadas por presentar un cuadro hemorrágico agudo, conocido como síndrome hemorrágico, que es fatal para los animales. No se ha establecido una diferencia en la virulencia y en los mecanismos patogénicos de ambas especies (Walz et al., 2001).

Genéticamente se han tipificado a los aislados del virus DVB tipo 1 y 2 en subgrupos o subgenotipos, dando lugar a 11 subgenotipos para el virus DVB tipo 1 (1a, 1b, 1c, 1e, 1f, 1g, 1h, 1i, 1j, 1k,) y 2 para el virus DVB 2 (1a, 1b,) (Pedrera et al., 2007).

Según el efecto sobre los cultivos celulares se ha tipificado dos tipos del Virus, citopático (CP) y no citopático (NCP). El biotipo NCP es responsable de la infección 90% de los bovinos, así como también es uno de los causantes de las alteraciones reproductivas, y pertenece al grupo de virus que actúan en el complejo respiratorio bovino (Bracamonte et al., 2006).

Los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada se observa normal. El biotipo CP es el que se encuentra mayormente en el ambiente, este puede originar infección persistente, este biotipo se origina por mutación del NCP por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción del Fragmentos de ARN celular o duplicación y

reordenamiento del ARN viral y es aislado en animales con enfermedad mucosa. Los virus NCP infectan células linfocitarias, los tienen predilección por células epiteliales (Dubovi, 1986).

El biotipo CP es aislado únicamente en animales con enfermedades de las mucosas, provocan efectos citopático sobre cultivos de células epiteliales bovinas, lo que se traduce en vacuolización citoplasmática y muerte celular. El biotipo NCP ante los cultivos celulares muestra que se replica pero no presenta cambios morfológicos evidentes. Actualmente se ha surgido la existencia de un tercer biotipo linfocitopático que no causa muerte celular en cultivos de células epiteliales pero si en cultivos de células linfoides (Ridpath et al., 2006).

El biotipo NCP es el único con capacidad de atravesar la placenta e infectar al feto, pudiendo dar lugar al nacimiento de animales persistentemente infectados, los cuales juegan un papel crucial en la epidemiología de la enfermedad. El biotipo CP en cambio, es incapaz de establecer infecciones persistentes. Sin embargo, cuando infecta a individuos que han sufrido una infección intrauterina previa por una cepa NCP antigénicamente homóloga, puede dar lugar al desarrollo de una forma fatal de la DVB conocida como enfermedad de las mucosas (Pedrera et al., 2007).

### **2.3. REPLICACIÓN VIRAL**

La unión y entrada de los pestivirus a la célula involucra la interacción con un receptor, la internalización y la fusión de membranas. Los receptores de la célula para pestivirus no han sido completamente caracterizados, pero mediante el empleo de anticuerpos monoclonales se identifica a una proteína de superficie celular de 50 kDa y a otras de 60 y 93 kDa (Lindenbach et al., 2007).

Las glicoproteínas E2 y E rns pueden ligarse independientemente a la superficie celular, interactuando con distintos componentes de la membrana celular. La glicoproteína E2 es la proteína mayoritariamente presente en el virión y es la principal responsable de la unión al receptor celular y del tropismo del virus en cultivos celulares, por lo menos para los pestivirus de rumiantes; Además es la proteína más inmunodominante existente en el virión de los pestivirus, induciendo altos niveles de anticuerpos neutralizantes (Donis y Dubovi, 1987; Ridpath, 1991).

Luego de la unión, el vDVB ingresa a la célula vía endocitosis ubicándose en un compartimiento endocítico prelisosomal en donde un pH bajo induce la fusión de la envoltura del virión con la membrana celular, llevando a que la nucleocápside se libere hacia el citoplasma, lugar en que ocurre la traducción y duplicación del ARN genómico. La traducción del ARN es independiente del Cap y está mediado por una secuencia nucleotídica conocida como IRES (del inglés, Internal Ribosome Entry Site) que está ubicada en el extremo 5' UTR del genoma y permite comenzar la traducción del ARN uniéndose a la subunidad ribosomal 40S generando la producción de una poliproteína que posteriormente es fraccionada en proteínas no estructurales y estructurales, iniciándose este proceso por la proteína no estructural (Krey et al., 2005 y Lecot et al., 2005).

El conjunto de proteínas no estructurales se ensamblan en un complejo funcional de replicación y ayudan a catalizar la transcripción de ARN sentido positivo a una hebra ARN complementaria sentido negativo, la que a su vez sirve de plantilla para generar nuevos ARN genómicos. Este proceso se realiza en el citoplasma celular vecino al retículo endoplásmico. Las proteínas virales son procesadas por proteasas virales y celulares para generar proteínas virales maduras (Lecot et al., 2005).

Las proteínas de la cápside son liberadas de la membrana del retículo endoplásmico e interactúan con ARN genómicos seguido por el

reconocimiento de dominios citoplasmáticos de proteínas de la envoltura. Los viriones dispuestos en vesículas se movilizan a través del citoplasma a la superficie, donde las vesículas se fusionan con la membrana plasmática liberando las partículas en el medio extracelular alrededor de las 8 horas post infección (Lindenbach et al., 2007).

## **2.4. EPIDEMIOLOGÍA**

Según Parra 1994, la distribución de los anticuerpos en los distintos grupos etarios en hatos con animales PI y sin animales PI, determina que existan 5 fases en el ciclo de infección.

- Fase A: hatos con infección aguda sin animales PI solo un pequeño porcentaje del hato será seropositivo.
- Fase B: hatos infectados con animales PI menores de 3-4 meses de edad, la mayor de los animales están bajo una infección aguda, a una velocidad variable dependiente del sistema de producción (Leche, Carne o doble propósito).
- Fase C: Hatos infectados con animales PI mayores de 3-4 meses de edad, usualmente más del 90% del hato es seropositivo.
- Fase D: Hatos previamente infectados donde los animales PI han sido removidos recientemente, los animales jóvenes serán seronegativos cuando pierdan sus anticuerpos calostrales a los 6-8 meses de edad, mientras que los animales adultos permanecen seropositivos.
- Fase E: Hatos previamente infectados, donde los animales PI han sido removidos hace varios años, todos los animales jóvenes serán seronegativos (excepto algunos terneros con anticuerpos calostrales) Eventualmente el Hato se volverá seronegativo.

### **2.4.1. 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. Siendo su huésped preferido los bovinos (Valera, 2007).

### **2.4.2. Fuentes de la Infección**

La principal fuente de infección son los bovinos persistentemente infectados (PI), estos animales son los que se infectan antes de los cuatro meses de gestación (120-125 días) con un biotipo NCP, su sistema inmune no es capaz de reconocer al virus como invasor y se convierte en inmunotolerante al virus en cantidades altas y continuamente durante toda su vida el virus, mediante secreción nasal, saliva, materia fecal, orina, lagrimas, semen y leche; por otra parte los animales con infección aguda también son una fuente importante de eliminación del virus aunque en menor cantidad y por cortos periodos de tiempo (Houe, 2003).

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, 2003).

### **2.4.3. Métodos de Transmisión**

La transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto. Siendo la transmisión vertical la que se da de una generación a la siguiente, pudiendo ésta 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, 2003).

#### **2.4.3.1. Transmisión vertical**

La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. 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 (Obando y Rodríguez, 2005).

Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen. Hembras PI siempre dan terneros PI. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Houe, 1999).

A pesar de la alta mortalidad entre los terneros PI, 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, 2003).

#### **2.4.3.2. Transmisión horizontal**

El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz a nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus (Houe, 2003).

Se ha demostrado experimentalmente la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovinos persistentemente infectados a bovinos centinelas.

Aunque la transmisión aerógena no es la principal ruta de transmisión, puede tener consecuencias graves cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con alta densidad animal (Lertora, 2002).

El semen crudo o criopreservado de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal. Para evitar el uso de estos animales, en los centros de inseminación se debe recurrir al aislamiento viral y a un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección (Lertora, 2002).

Sin embargo, un toro con infección aguda puede escapar al aislamiento viral en sangre, superar el período de cuarentena y seguir siendo una amenaza. El virus puede eliminarse en semen por un corto período más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por semen. Esta última situación se presenta cuando la infección ocurre en la pubertad, durante la formación de la barrera inmunológica hemato-testicular, permitiendo al virus replicarse dentro del testículo y evadir la respuesta inmune (Lertora, 2002).

También es posible la transmisión por transferencia embrionaria. La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además, los cultivos celulares y el suero fetal bovino utilizados en transferencia embrionaria pueden estar contaminados. Los embriones producidos in vivo, con zona pelúcida intacta, recolectados de vacas naturales o artificialmente infectadas, no actuarían como vectores para la transmisión de la enfermedad si se cumple con los procedimientos de lavado o lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria (Fray et al., 2000).

Sin embargo, la presencia de una zona pelúcida intacta y los procedimientos de lavado, no garantizan que los embriones estén libres

del virus, ya que pueden desarrollarse de oocitos infectados. Se ha demostrado que los oocitos soportan la replicación del vDVB, pudiendo ingresar al oocito en forma directa o a través de las células del cumulus, las cuales son susceptibles al virus y están en estrecho contacto con el oocito por medio de procesos citoplasmáticos (Fray et al., 2000).

Pese a que no se ha demostrado si estos oocitos infectados son capaces de desarrollarse hasta la ovulación, no debe descartarse el potencial de las células germinales para transmitir al vDVB. Los embriones producidos in vitro son una fuente potencial de introducción del vDVB. La zona pelúcida de embriones producidos in vitro presentan alteraciones estructurales y bioquímicas permitiendo al virus penetrar hasta aproximadamente 50% de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus. Sin embargo, no se ha determinado si la cantidad de virus asociado a estos embriones podría constituir una dosis infectiva para recipientes susceptibles vía intrauterina (Fray et al., 2000).

Experimentalmente se han demostrado varias vías de transmisión indirecta como el uso de agujas, mocheta, palpación rectal y la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva fácilmente. Es rápidamente inactivado por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergentes, solventes orgánicos y pH que exceda el rango de 5,7 a 9,3 70. Otro modo importante de transmisión es el uso de vacunas a virus vivo modificado o vacunas contaminadas (Houe, 2003).

#### **2.4.3.3. Transmisión entre rebaños**

La principal forma de introducir el virus 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 (Houe, 1999 y Lértora, 2003).

#### **2.4.3.4. Transmisión dentro del rebaño**

La 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 (Lértora, 2003 y Houe, 1999).

#### **2.4.4. Animales Persistentemente Infectados (PI)**

Los animales PI constituyen un grupo importante para la perpetuación de las enfermedades en las poblaciones animales, por lo que son conocidos como los únicos reservorios naturales del virus. El ternero PI es portador del virus mientras vive y es incapaz de montar una adecuada respuesta inmune contra el virus presente en su organismo, estos animales son los reservorios y los principales diseminadores del virus en el hato y pueden desarrollar la enfermedad de las mucosas de curso fetal (Bolin, 1992).

Una vez han desaparecido los anticuerpos maternos, el PI puede eliminar el virus durante toda su vida. Se asume que la vida útil de los PI, es reducida por diversos aspectos, además de la probabilidad de

manifestar EM la cual tiene consecuencias letales (Bolin, 1992 y Rivera, 2001).

Los PI son más susceptibles a otras enfermedades comunes a los terneros, como diarrea y neumonías; estos animales permanecen en las finca, pues los propietarios no relacionan la situación con el vDVB y mediante cuidados alternativos, tratan de nivelar el grupos de animales jóvenes favoreciendo la supervivencia de los PI, aunque pocos terneros PI puedan hacerlo. Son animales aparentemente normales, en ocasiones tienen ganancias de peso y desarrollo menor cuando se comparan con los otros animales del grupo. En casos donde el hato sea libre de la enfermedad, o los niveles de inmunidad sean bajos, se pueden presentar brotes de DVB con alta mortalidad (Parra, 1994).

Las vacas PI siempre paren terneros PI, sin embargo, algunas vacas seropositivas pueden producir terneros persistentemente infectados si sus anticuerpos circulantes no tienen reacción cruzada con el virus al cual son expuestas. Los terneros PI son susceptibles a numerosas enfermedades por el feto inmunosupresor del virus. Algunas veces, sin embargo, pueden ser aparentemente normales y saludables (Brownlie et al., 2000).

## **2.5. PATOGENESIS Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

El vDVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes (Bielefeldt, 1995). 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:

### **2.5.1. Infección Subclínica**

La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad. Se desarrollan anticuerpos neutralizantes 14 a 28 días postinfección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida. 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, 2005 y Baker, 1987).

### **2.5.2. Infección Aguda**

Es una infección de severidad variable, en bovinos 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 (Lértora, 2002 y Baker, 1987).

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 oculonasal. Las infecciones agudas causan ovaritis y producen infertilidad temporal (Vanroose et al, 1998).

En 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).

### **2.5.3. Enfermedad de las Mucosas**

Es de baja morbilidad y alta mortalidad. La EM resulta de la infección de un ternero persistentemente infectado con una cepa CP la que probablemente ha evolucionado o mutado de la cepa NCP. La enfermedad se caracteriza por una grave patología digestiva con úlceras y erosiones por todo el tracto digestivo, severa leucopenia, diarrea profusa lesiones en la piel y espacios interdigitales. En la EM se pueden aislar ambas cepas CP y NCP (Obando y Rodríguez, 2005).

### **2.5.4. Síndrome Hemorrágico**

Virus del genotipo 2 del vDVB se asocian a una condición fatal denominada síndrome hemorrágico. Se caracteriza por mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y muerte (Bolin et al., 1992).

Esta signología se atribuye a trombocitopenia y alteración de la función plaquetaria. Se ha demostrado una disminución de la respuesta de las plaquetas a la agregación y, aunque se desconoce el mecanismo de estas alteraciones, es probable que el virus actúe por uno o más de estos mecanismos: 1) se ha detectado antígeno viral en los megacariocitos, lo que podría resultar en una menor producción de plaquetas y en un incremento en el porcentaje de plaquetas envejecidas (los trombocitos

viejos son menos sensibles a los estímulos de agregación); 2) el virus se aísla de trombocitos y una interacción virus–plaqueta directa puede afectar la respuesta plaquetaria a la agregación; 3) aumento en la producción de sustancias inhibitoras de la agregación plaquetaria; bovinos infectados con el vDVB presentan altas concentraciones de prostaglandina E y óxido nítrico (Baker, 1987).

Hay una fuerte correlación entre la fase trombocitopénica y la viremia; además, la recuperación del recuento plaquetario está estrechamente relacionada con la aparición de anticuerpos neutralizantes. Esto sugiere que este síndrome es el resultado de una alteración y consumo de los trombocitos periféricos, más que una alteración en su producción (Hamers, 2000).

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., 2010).

### **2.5.5. Complejo Respiratorio**

El vDVB origina inmunodepresión sistemática y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios, según (Baker 1990), ciertos virus de la DVB actúan como agentes primarios de neumonías.

### **2.5.6. Infección Venérea**

El semen del toro infectado durante la etapa fetal o de toros con infección aguda, contienen el vDVB, esto como consecuencia de la replicación del virus en la vesícula seminal y glándula prostática, este semen infectado posee espermatozoides de baja motilidad y con anormalidades

morfológicas, además es el medio ideal para transmitir el virus a vacas susceptibles (Kirkland et al., 1994 y Bracamonte et al., 2006).

### **2.5.7. Infección en Hembras Gestantes**

El impacto del vDVB durante la preñez se divide en cuatro períodos, en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante estos intervalos de tiempo específicos.

#### **a. Etapa embrionaria (0–45 días)**

Las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento del apareamiento ocasionan muerte embrionaria y repeticiones de servicio hasta que desarrollen respuesta inmune. Se desconoce cómo los biotipos NCP afectan al embrión. El virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de los embriones hasta el día 8–9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles. El resultado de la infección puede ser citolítico o no. Ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico, resultando en el desarrollo de malformaciones. Por otra parte, la replicación del virus en células oviductales puede alterar sus funciones biológicas, como la secreción de factores embriotrópicos que soportan el desarrollo embrionario (McGowan et al., 1993).

#### **b. Día 45 a 125 de gestación**

Este período comienza al finalizar la etapa embrionaria y culmina cuando el feto adquiere competencia inmunológica al vDVB. El momento exacto en que el feto adquiere competencia inmunológica al virus no es claro; se han detectado anticuerpos neutralizantes contra el virus en fetos infectados entre los días 100 y 135 de gestación. La infección con biotipos NCP antes que el feto adquiriera competencia inmunológica, resulta en el

nacimiento de animales persistentemente infectados e inmunotolerantes. Durante este período también se produce muerte fetal con momificación o aborto meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis (Dubovi, 1994).

#### **c. Día 125 a 175 de gestación**

Este período representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, momento en el cual se presenta un gran porcentaje de alteraciones del desarrollo. También se pueden producir abortos, pero éstos son más frecuentes en las etapas tempranas de gestación. Se pueden observar distintos tipos y grados de malformaciones tales como hipoplasia cerebelar, microencefalia, hipomielogénesis, hidranencefalia, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, degeneración de retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis, retraso general del crecimiento y deformidades esqueléticas (Moennig et al., 1995).

Posibles explicaciones de estas malformaciones serían el daño celular directo por el virus o la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal. Este hallazgo sugiere que el virus altera el metabolismo hormonal fetal originando trastornos del desarrollo esquelético (Moennig et al., 1995)

#### **d. De 175 días de gestación en adelante**

En esta etapa el feto se encuentra en un período de crecimiento general y es inmunológicamente competente. Las infecciones en este período resultan en el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles; mientras que los abortos son ocasionales (Moennig et al., 1995).

### **2.5.8. Terneros persistentemente Recién Nacidos**

Los Fetos infectados con cepas NCP entre los días 42 y 125 pueden sobrevivir, portar el virus y diseminarlo de por vida, siendo los principales reservorios del VDVB. Estos animales son inmunotolerantes a la cepa ncp infectante, aunque pueden responder con producción de anticuerpos contra cepas heterólogas o cepas vacunales. Las infecciones que ocurren en el último trimestre de la gestación dan lugar a terneros con anticuerpos específicos pero sin virus. El término “infectados congénitamente” se refiere a estos animales con anticuerpos al nacer pero sin virus detectable (Fulton et al., 2003).

### **2.5.9. Infección Persistente**

Un animal persistente infectado (PI) es aquel en que es posible aislar el virus de la sangre o tejido en dos ocasiones sucesivas con un intervalo no menor a dos semanas. Estos animales son virémicos durante toda su vida y no producen anticuerpos contra la cepa que les origino inmunotolerancia. La infección persistente debe ser considerada en todo ternero pequeño al nacimiento, con escaso desarrollo y ganancia de peso, débil y con cuadro recurrente de enfermedad respiratoria y digestiva (Raymond et al., 2002).

Los animales PI resultan de la infección fetal con DVB durante el primer trimestre de gestación, dado que el sistema inmune fetal infectado con DVB antes del día 125 de preñez, no reconoce el vDVB como agente infeccioso o extraño, además la mayor expansión de órganos linfoides fetales y sus poblaciones leucocitarias ocurre en el tercer trimestre de gestación (Raymond et al., 2002).

Solo el biotipo NCP del vDVB ha sido reportado capaz de establecer una infección persistente en el feto, también se propuso que la capacidad del virus NCP y CP para establecer la infección persistente está relacionada

con diferencias en la habilidad de inducir interferón, (IFN). Aunque se cree que la multiplicación considerable del virus genera diversidad, no se han detectado cambios genéticos en aislados en diferentes momentos del mismo animal (Raymond et al., 2002).

## **2.6. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS**

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

## **2.7. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico, es realizado con la finalidad de detectar los bovinos persistentemente infectados, que son quienes diseminan la enfermedad. 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 el vDVB en el ganado (Dubovi, 2013).

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 (Duvobi, 2013).

## **2.7.1. Técnicas de diagnóstico**

### **2.7.1.1. Aislamiento viral**

El Aislamiento viral para el vDVB se utiliza una línea celular de riñón fetal bovina (MDBK). Es importante esta tecnología porque además puede detectar otros virus presentes en la muestra, incluso revelar la presencia de virus DVB como contaminante del suero fetal bovino utilizando anticuerpos monoclonales (Duvobi, 1996).

### **2.7.1.2. Inmunohistoquímica**

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 (Givens et al., 2007).

### **2.7.1.3. ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas)**

La prueba de ELISA utiliza anticuerpos monoclonales o policlonales para “capturar” antígenos del vDVB en muestras de sangre. Comparado con el aislamiento viral, es un método rápido y económico, por lo tanto, es el método de preferencia para la detección a gran escala de animales PI. Los sistemas ELISA basados en anticuerpos policlonales dirigidos contra varias proteínas y glicoproteínas de cepas antigénicamente diferentes, son capaces de detectar una amplia variedad de vDVB. 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 en detectar algunas cepas del vDVB (Graham et al., 1998).

#### **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 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.

#### **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 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.

### **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).

#### **2.7.1.4. Pruebas de detección de ácidos nucleicos**

La utilidad de la amplificación de ácidos nucleicos ha sido facilitada por el rápido progreso en la secuenciación de ácidos nucleicos. La comercialización de la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa y su alta sensibilidad permite 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.

## **2.8. OTROS ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE PREVALENCIA DE LA DIARREA VIRAL BOVINA**

Diversos porcentajes de prevalencia de DVB se han reportado en algunos países de Sur América, tales como: Chile 25,17 % (Barrientos, 2004), Perú 46 a 56 % (Quispe) y Colombia 29,4 % (Betancur). Sin embargo, el hecho de que un país reporte elevados porcentajes de seropositividad

frente al vDVB, no implica que puedan existir áreas geográficas, en las cuales la misma sea baja.

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 % (Houe et al., 1995).

En la provincia de Loja, se realizó un estudio acerca de la seroprevalencia de DVB e IBR, en el que se muestreo 734 animales distribuidos en 16 cantones de dicha provincia, de los cuales 118 animales dieron positivos a la prueba de ELISA indirecto dando como resultado una prevalencia del 16,06 %, con lo cual se demostró la prevalencia de la enfermedad en esta provincia (Jara, 2007).

Otro estudio realizado en el cantón Loja por Lavanda Jorge 2015, Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en Vacas Lecheras de las Ganaderías del Cantón Loja en el que se muestreó a 394 animales e los cuales 114 fueron positivos, con una seroprevalencia total de vDVB del 29% en vacas lecheras con más de una cría.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. MATERIALES**

#### **3.1.1. Materiales de Campo**

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

#### **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 de aluminio o adhesivos
- Papel absorbente
- Probetas graduadas
- Timer
- Casa IDEXX Kit para vDVB

### **3.1.3. Materiales de Oficina**

- Suministros de oficina
- Computadora
- Impresora
- Cámara fotográfica
- Calculadora

### **3.1.4. Muestras Biológicas**

- Leche

## **3.2. MÉTODOS**

### **3.2.1. Ubicación del Área de Estudio**

La toma de muestras de leche en ganado bovino se realizó en ganaderías de producción lechera del Cantón Saraguro y sus parroquias.

### **3.2.2. Métodos de Muestreo**

En este trabajo se realizó en bovinos hembras en producción lechera en ganaderías del Cantón Saraguro.

### **3.2.3. Tamaño de la muestra**

Se calculó mediante la fórmula de proporción de una enfermedad cuando la población con la que se pretende trabajar es conocida: ésta es de 13829 bovinos de los cuales el 50% son vacas en producción (Censo 2014), ya que se hizo prueba con muestras de Leche.

La fórmula es la siguiente:

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

En Donde

**N** = Tamaño de la muestra.

**P** = Probabilidad que se cumpla (0,05).

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

**E<sup>2</sup>** = Constante.

**K<sup>2</sup>** = Constante (2).

**N** = Número de animales.

$$n = \frac{0,25 (13962)}{(13962-1)\frac{(0,08)^2}{(2)^2} + 0.25}$$

$$n = \frac{3490}{(13961)(0,0016) + 0.25}$$

$$n = \frac{3490}{22.59}$$

$$n = 154 \text{ Muestras}$$

### 3.2.4. Cálculo de la Fracción

Para ello lo hemos realizado de la siguiente forma:

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

**Dónde:**

n= Tamaño de la muestra.

N= Población total.

$$F = \frac{154}{13962} = \frac{1}{90} = 0,011$$

### 3.2.4.1. Distribución de la población en el cantón Saraguro

**Cuadro 1.** Parroquias con su respectiva población y número de muestras recolectadas.

<b>Parroquias</b>	<b>Población bovina</b>	<b>Muestra</b>	<b>% Recolectadas</b>
Saraguro	1473	16	10,39
Urdaneta	1191	13	8,44
Cumbe	586	7	4,55
El Tablón	575	6	3,9
Tenta	2022	22	14,29
Celén	1083	12	7,79
Selva Alegre	683	8	5,19
Lluzhapa	1460	16	10,39
Sumaypamba	487	5	3,25
Yulúc	506	6	3,9
Manú	3896	43	27,92
<b>Total</b>	<b>13962</b>	<b>154</b>	<b>100</b>

### 3.2.5. 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, se desechó los tres primeros chorros de leche y procedió a coleccionar la muestra 8 ml en tubos esterilizados con cierre hermético, los cuales se identificó la vaca y el lugar, posteriormente se colocaba en un vial criogénico para llevarlo al Laboratorio de la CMVZ de la UNL, para su respectivo análisis.

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

### 3.2.6. Almacenamiento de las muestras

Una vez llegada las muestras de leche se depositó en un congelador a  $-15^{\circ}\text{C}$ . La descongelación se hizo dentro de un refrigerador la noche anterior al análisis, para luego llevarla a temperatura ambiente. Todo ello se hizo con el fin de conservar de mejor manera todos sus componentes vitales para su análisis.

### 3.2.7. Preparación de ELISA indirecto

Para ello se utilizó el kit IDEXX BVDV Total Ab, es un inmunoensayo enzimático indirecto necesario para detectar anticuerpos específicos de BVDV en muestras de suero, plasma o leche. El ensayo consiste en utilizar la técnica de ELISA indirecta donde se utilizan placas de micro titulación tapizadas con antígenos de BVDV.

El mismo consta de los siguientes reactivos:

**Cuadro 2.** Reactivos del kit IDEXX BVDV.

<b>Reactivos.</b>	<b>Volumen</b>
1. Placas tapizadas con antígeno BVDV	5 $\mu\text{l}$
2. Control positivo	1,0 ml
3. Control negativo	1,0 ml
4. Conjugado	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 (10 x)	480 ml

### **3.2.7.1. Preparación de reactivos**

#### **a. Solución de lavado**

La solución de lavado concentrada (10 x) 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 154 muestras de leche las cuales estuvieron almacenadas en congelación, con el fin de conservarlas para después ser analizadas con el método de ELISA.

### **3.2.7.2. Protocolo de ensayo**

Se verificó 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, sumergiendo la misma por debajo de la capa de grasa.

#### **Se siguió el siguiente procedimiento**

1. Se tomó las placas tapizadas y se marcó 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. Se continuó en el paso 6 de la selección protocolo del ensayo.
6. Se mezcló el contenido de los pocillos mediante un agitador.
7. Se incubó 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. Se aspiró los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Tras la aspiración final, se eliminó 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 incubó durante 30 minutos (+- 2 minutos) a 18-26 °C.
12. Se repitieron 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. Se comenzó 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. Se añadió la solución de frenado en el mismo orden en que la solución de substrato fue añadida en el paso 13.
16. Se calibro el espectrofotómetro y se preparó el programa Gen 5.
17. Se midió y se anotó la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm.

### **3.2.7.3. Cálculo de los resultados**

Para que el ensayo sea válido, la diferencia (M-N) entra 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 utilizó las siguientes formulas.

#### **Cálculo de la media del control negativo**

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A 450 + CN2 A450}{2}$$

#### **Cálculo de la media del control positivo**

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A450 + CP2 A450}{2}$$

#### **Cociente M/P**

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

#### **Interpretación de resultados**

- Las muestras con valores de M/P menores de 0,20 son considerados como negativas en anticuerpos frente a BVDV.
- Las muestras con valores de M/P mayores de 0,20 son considerados como dudosos. El animal deberá analizarse de nuevo en pocas semanas.
- Las muestras cuyos valores de M/P son mayores o iguales a 0,30 son considerados positivos en anticuerpos frente a BVDV.

#### **3.2.8. Registro de Datos**

Los datos obtenidos se anotaron en registros de campo, para lo cual se tomó en cuenta las parroquias del cantón Saraguro; así como 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).

### **3.2.9. Variables**

- Prevalencia de acuerdo a las parroquias
- Prevalencia de acuerdo a la edad
- 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

### **3.2.10. 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 Saraguro, para lo cual se determinó porcentajes apoyándose en cuadros y figuras para una mejor comprensión.

También se aplicó la siguiente fórmula para calcular la prevalencia de la enfermedad en el Cantón Saraguro.

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

$C_t$  = 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

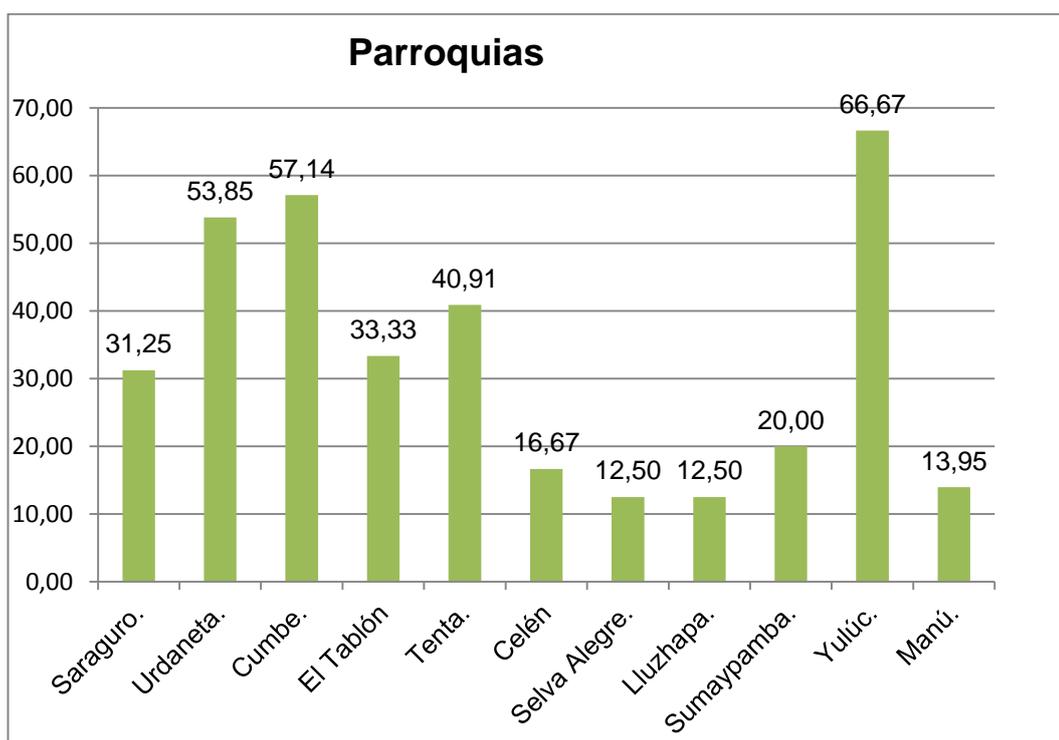
Los resultados obtenidos mediante el examen de ELISA para el diagnóstico de Prevalencia de Diarrea Viral Bovina (DVB) y su distribución en casos positivos en el Cantón Saraguro, se presenta los siguientes cuadros.

**Cuadro 3.** Prevalencia de la DVB en las parroquias del cantón Saraguro (%).

Parroquias	N° Muestras	N° Positivas	Porcentaje
Saraguro	16	5	31,25
Urdaneta	13	7	53,85
Cumbe	7	4	57,14
El Tablón	6	2	33,33
Tenta	22	9	40,91
Celén	12	2	16,67
Selva Alegre	8	1	12,50
Lluzhapa	16	2	12,50
Sumaypamba	5	1	20,00
Yulúc	6	4	66,67
Manú	43	6	13,95
Total	154	43	27,92

De acuerdo con los resultados del cuadro se aprecia que la prevalencia de la DVB del cantón Saraguro es de 27,92 %; y la Parroquia de Yulúc posee el 66,67 % siendo el más alto de todas las parroquias estudiadas, seguida por la parroquia Cumbe con un 57,14 %, la parroquia Urdaneta con un 53,85 %, la parroquia Tenta con un 40,91 %. El resto de parroquias poseen un porcentaje por debajo de estas cifras.

En la siguiente figura representamos el resultado de las parroquias con sus respectivos (%).



**Figura 2.** Resultados porcentuales de la Prevalencia del vDVB en las parroquias del cantón Saraguro.

#### 4.2. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA EDAD DE LOS ANIMALES

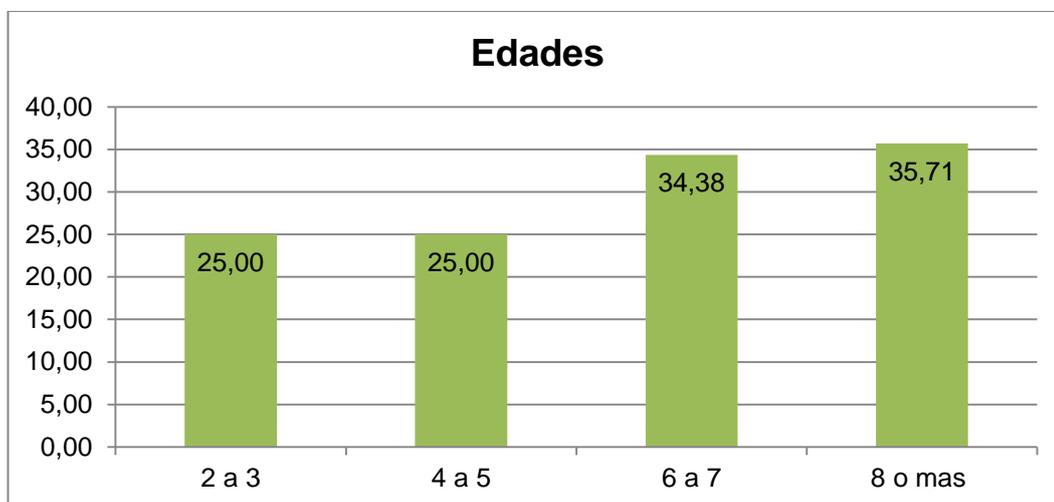
Se agruparon en 3 categorías: de 2 a 3 años; 4 a 5 años; de 6 a 7 años y  $\leq 8$  años.

**Cuadro 4.** Prevalencia de la DVB de acuerdo a la edad de los animales.

Edad de los animales	N° de vacas	Positivas	Porcentaje
2 a 3	24	6	25,00
4 a 5	84	21	25,00
6 a 7	32	11	34,38
$\leq 8$ años	14	5	35,71
<b>Total</b>	154	43	27,92

En el cuadro 4 se muestra que las vacas que poseen  $\leq 8$  años son las que tienen el porcentaje más alto con un 35,71 %, seguido por los

animales de 6 a 7 años con un 35,38 %, los animales de 2 a 3 y 4 a 5 poseen un 25 %.



**Figura 3.** Resultados porcentuales de acuerdo a la edad.

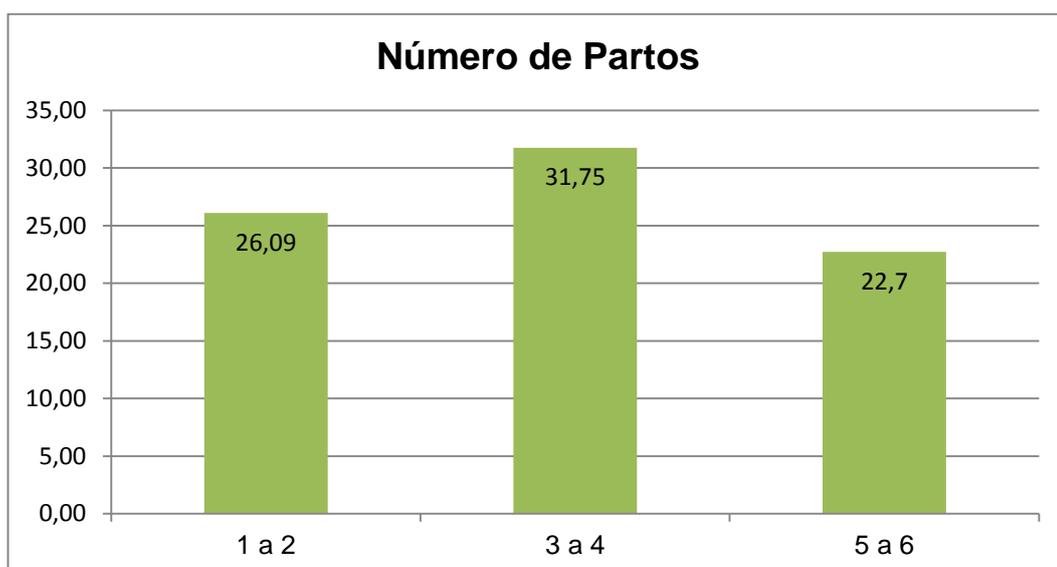
### 4.3. PREVALENCIA DE ACUERDO AL NÚMERO DE PARTOS

Aquí se consideró el número de partos de cada bovino el cual se ha agrupado de 1 a 2 partos de 3 a 4 partos y de 5 a 6 partos tal como se presenta en el siguiente cuadro.

**Cuadro 5.** Prevalencia de la DVB de acuerdo al número de partos.

N° de Partos	N° de vacas	Positivas	Porcentaje
1 a 2	69	18	26,09
3 a 4	63	20	31,75
5 a 6	22	5	22,7
<b>Total</b>	154	43	27,92

En el cuadro 5 las vacas con 3 a 4 partos poseen un 31,75 %, de 1 a 2 partos presentaron un 26,08 % y de 5 a 6 partos con un 22,7 % las cuales están representadas en la siguiente figura.



**Figura 4.** Resultados porcentuales de acuerdo al número de partos.

#### 4.4. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA RAZA

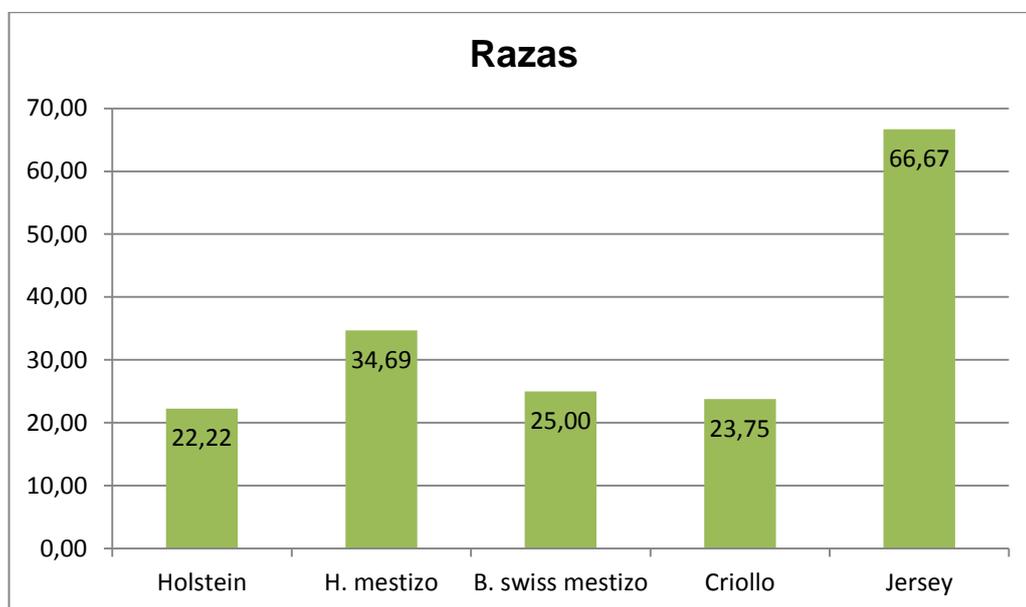
Se tomó como base las razas Holstein, Brown swiss y Jersey. Cabe recalcar que algunas de estas razas en ciertas zonas han pasado por procesos de mestizaje los cuales considero como Holstein mestizo, Brown swiss mestizo y los animales propios de la zona se denominaron como criollos.

**Cuadro 6.** Prevalencia de la DVB de acuerdo a las razas.

Raza	N° de vacas	Positivos	Porcentaje
Holstein	18	4	22,22
H. mestizo	49	17	34,69
B. swiss mestizo	4	1	25,00
Criollo	80	19	23,75
Jersey	3	2	66,67
<b>Total</b>	154	43	27,92

De acuerdo con el cuadro seis la raza Jersey presentó el porcentaje más alto de positividad con un 66,67 %, el tipo Holstein Mestizo con un

porcentaje del 34,69 %, Seguido tenemos el Brown swiss con un 25 %, en cuanto a las criollas con un 23,75 % y la Holstein presento un 22,22 %.



**Figura 5.** Resultados porcentuales de acuerdo a la raza.

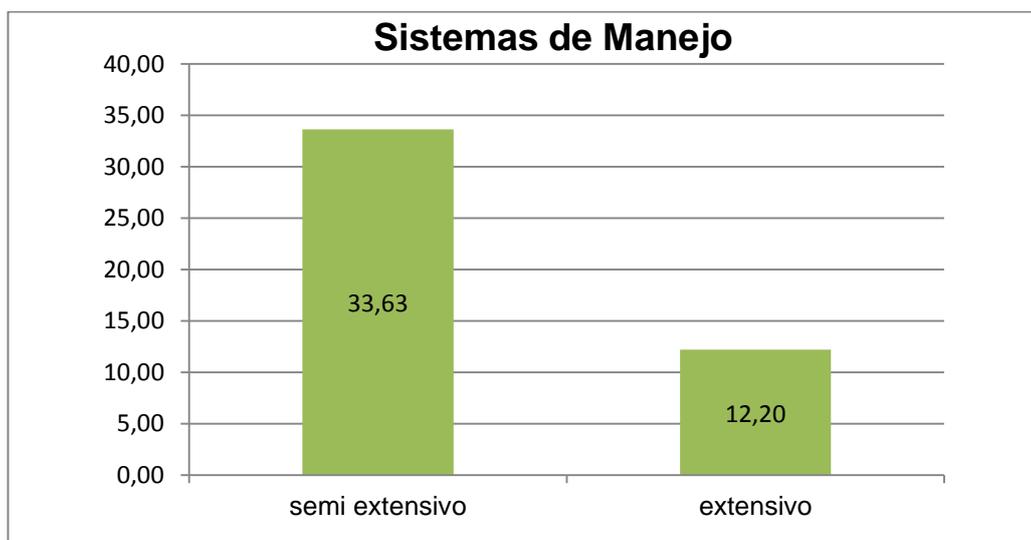
#### 4.5. PREVALENCIA DE ACUERDO AL SISTEMA DE MANEJO

El sistema de manejo que se da en cada finca se describe como semiextensivo y extensivo, el cual se presenta en el siguiente cuadro.

**Cuadro 7.** Prevalencia de la DVB de acuerdo al sistema de manejo.

Manejo	N° Vacas	Positivas	Porcentaje
Semiextensivo	113	38	33,63
Extensivo	41	5	12,20
<b>Total</b>	154	43	27,92

Según los resultados en el cuadro siete el manejo semiextensivo tiene el más alto porcentaje de positividad con 33,63 % seguido por el manejo extensivo con un 12,20 %.



**Figura 6.** Resultados porcentuales de acuerdo a los sistemas de manejo.

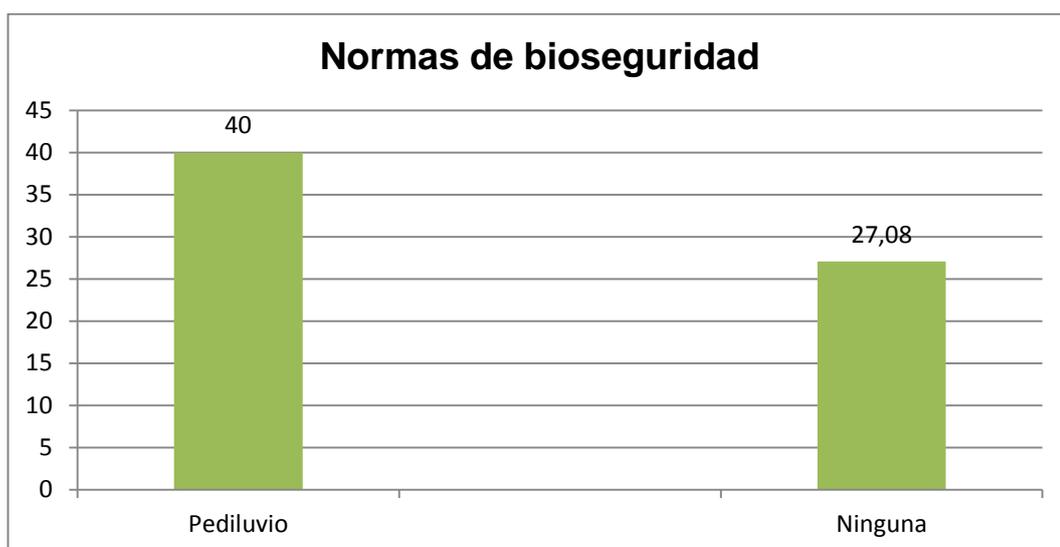
#### 4.6. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD

Las normas de bioseguridad que posee cada granja 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 8.** Prevalencia de la DVB de acuerdo a las normas de bioseguridad.

Bioseguridad	N° de vacas	Positivas	Porcentaje
Pediluvio	10	4	40
Ninguna	144	39	27,08
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>43</b>	<b>27,92</b>

De acuerdo con el cuadro ocho se observa que las fincas que contaban con pediluvio, tuvieron el más alto porcentaje de positividad de 40 %, mientras las granjas que no poseían ninguna norma de bioseguridad alcanzaron el 27,08 %; cabe mencionar que las granjas en que se estudió el virus ninguna poseían rodiluvio y tampoco a los animales los tienen en cuarentena.



**Figura 7.** Resultados porcentuales de acuerdo a las normas de bioseguridad.

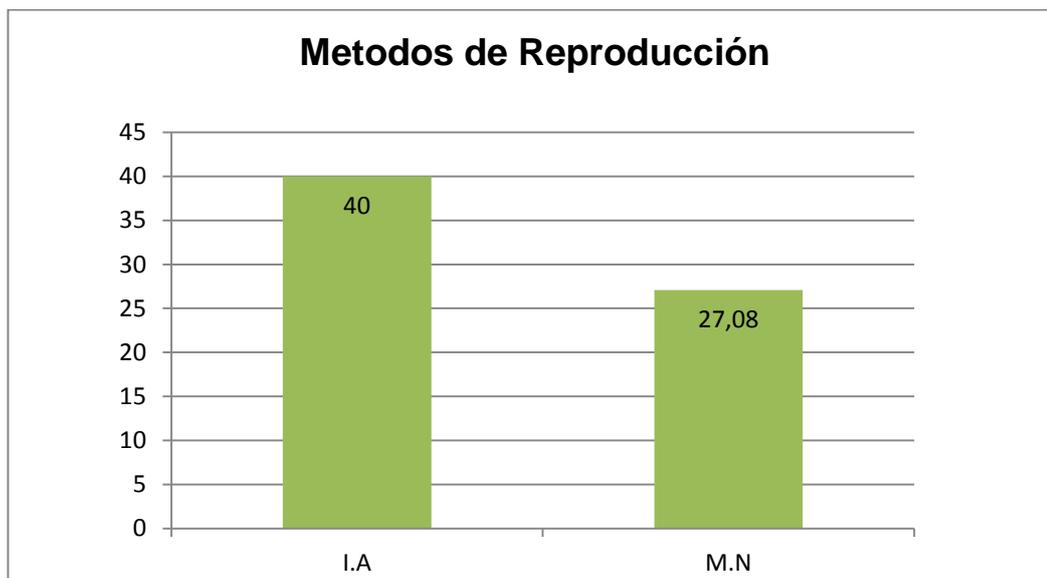
#### 4.7. PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS MÉTODOS DE REPRODUCCIÓN

Los métodos de reproducción que utilizan en cada finca se presentan en el siguiente cuadro con los respectivos resultados.

**Cuadro 9.** Prevalencia de la DVB de acuerdo a los métodos de reproducción

Métodos de reproducción	N° de Vacas	Positivas	Porcentaje
I.A	10	4	40
M.N	144	39	27,08
<b>Total</b>	154	43	27,92

De acuerdo con el cuadro nueve los animales que son sometidos a inseminación artificial (I.A) son los que obtuvieron el más alto porcentaje con el 40 %, seguido por la monta natural (M.N) con un 27,08 %.



**Figura 8.** Resultados porcentuales de acuerdo a los métodos de reproducción.

#### 4.8. PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SÍGNOS CLINICOS

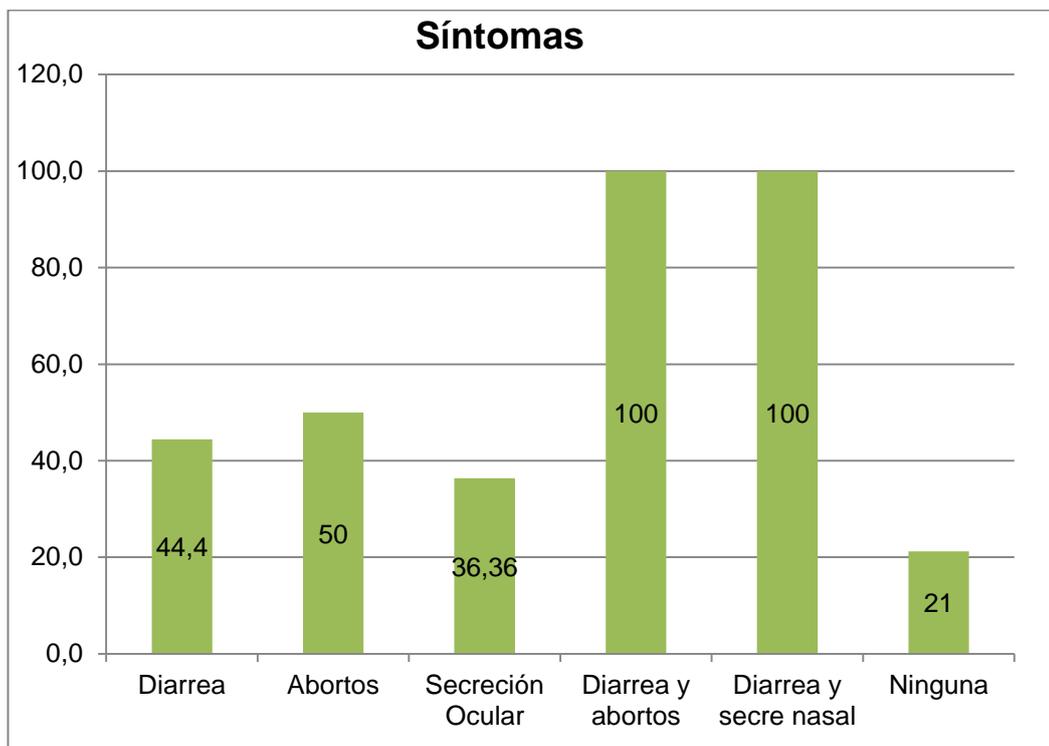
Los síntomas más comunes que presenta la enfermedad tales como estomatitis, diarrea, abortos, secreción nasal, secreción ocular son tomados en cuenta en esta variable, como se describe en el cuadro 11.

**Cuadro 10.** Prevalencia de acuerdo los signos clínicos

Signos clínicos	N° Vacas	Positivas	Porcentaje
Diarrea	18	8	44,44
Abortos	8	4	50
Secreción Ocular	11	4	36,36
Diarrea y abortos	2	2	100
Diarrea y secreción nasal	1	1	100
Ningún signo	113	24	21,24
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>43</b>	<b>27,92</b>

En el cuadro diez los animales que presentaron diarrea y abortos, diarrea y secreción nasal, obtuvieron el más alto porcentaje de 100 %, seguidos por las vacas que presentaron abortos con un 50 %; mientras que las

vacas que tuvieron diarrea presentaron un 44,44 %. Cabe recalcar que las vacas que no presentaron síntomas, alcanzaron un 21,24 %.



**Figura 9.** Resultados porcentuales de acuerdo a los síntomas.

## **5. DISCUSIÓN**

### **5.1. PREVALENCIA DE ACUERDO A LAS PARROQUIAS**

En el cantón Saraguro existe una seroprevalencia de vDVB del 27,92 % en vacas lecheras que tienen entre 3 a  $\leq$  8 años y más de 1 cría, siendo la parroquia de Yúluc la que más alto porcentaje obtuvo dentro del cantón con un 66,67 %, seguida por Cumbe con un 57,14 % y la parroquia Urdaneta con un 53,85 % estos resultados son diferentes a los publicados por Lavanda (2015), sobre el vDVB en las ganaderías lecheras del Cantón Loja, los cuales presentaron una prevalencia para DVB del 29 % y también fueron superiores a los estudios realizados por la UTPL Jara (2008) sobre el VDVB en la provincia de Loja los cuales presentaron una prevalencia para VDVB del 16,07 %.

Tomando en cuenta los resultados se atribuye a que esta enfermedad en muchos casos es subclínica, es decir asintomática diseminándose fácilmente siendo imperceptible para el ganadero o el mismo veterinario, también se puede atribuir a aquellos productores quienes compran animales para pie de cría a los grandes productores sin hacer pruebas de diagnóstico de ninguna enfermedad reproductiva Houe (1995).

### **5.2. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA EDAD DE LOS ANIMALES**

Vacas  $\geq$  a 8 años presentaron un alto porcentaje de positividad con un 35,71% en comparación con las vacas de menor edad, que tienen menor tendencia a estar contagiadas del virus. Odeón (2001) demostró en su estudio realizado en Argentina que existe una alta prevalencia de anticuerpos en vacas adultas, y que un porcentaje alto de bovinos menores de 12 meses están expuestos tempranamente al virus DVB. Quispe (2008), encontró en su estudio realizado en Perú, que los

animales mayores de 2 años poseen mayor predisposición a infectarse con el virus de la DVB, esto debido a la presencia de anticuerpos en el animal y a la posibilidad de que el animal sufra reinfecciones con el virus de la DVB. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Betancur (2007), en su estudio realizado en Montería-Colombia en el que se muestrearon animales distribuidos en 3 categorías: animales entre 3 - 4 años, 5 - 6 años y mayores de 7 años obtuvo prevalencias de 16 %, 17 % y 11 %, respectivamente animales entre 5 y 6 años presentaron una prevalencia mayor, debido a que se encontraban en la edad reproductiva, pasando ya por varios partos, esto podría causar estados de inmunodepresión, logrando así que tenga más posibilidades de infectarse, pero se demostró estadísticamente que esta enfermedad se puede presentar en cualquier edad reproductiva del animal.

Otro autor como Cabezas (2012), reportó resultados similares en su estudio realizado en Galápagos, concluye que la edad si es un factor de riesgo para la presentación de esta enfermedad, ya que animales entre los 2 a 8 años de edad presentaron el mayor porcentaje de seropositividad y menciona que esto puede estar debido al estrés y a los múltiples estados inmuno-depresivos que se pueden presentar en esta etapa debido a las practicas reproductivas y productivas aumentadas en esta etapa. Sin embargo, no se realizó el cálculo de la diferencia significativa entre los grupos de edad. Por otro lado Jara (2008), en su estudio realizado en la provincia de Loja, concluyo que la edad no es un factor determinante en la presentación de esta enfermedad, debido al muestreo aleatorio realizado para este estudio.

### **5.3. PREVALENCIA DE ACUERDO AL NÚMERO DE PARTOS**

En vacas entre 3 a 4 partos presentaron un alto porcentaje de positividad con un 31,75 % en comparación con las vacas que poseen un mayor número de partos en el estudio realizado por la UNL Lavanda (2015), en

el que presento un alto porcentaje de positividad. Coincidiendo con Fredriksen (1999), en lo que destaca que las vacas 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.

#### **5.4. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA RAZA**

Las vacas de raza Jersey obtuvieron el más alto porcentaje de positividad frente a anticuerpos contra el vDVB con un 66,67 % mientras que las vacas Holstein mestizo presentaron un 34,69 % en el caso de las vacas Brown Swis meztizo presentaron un 25 % en cuanto a las vacas Criollas presentaron un 23,75 % y las tipo Holstein presento un 22,22 %. Las vacas Jersey su porcentaje de positividad fue el más elevado debido a que solo se muestreo a 3 de las cuales 2 fueron positivas. Coincidiendo con Lavanda (2015) y Houe (1995), en donde destacan que las vacas Holstein y 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. 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 Por lo que un bovino infectado subclínicamente puede ser transportado de un lugar a otro.

Considerando las vacas criollas ya que ellas forman en gran parte de los hatos lecheros en donde menciona Rivera (2001) dice que un 70 % de los animales criollos son más susceptibles a la enfermedad. En lo que se podría concluir que la presencia del virus, no depende o no está influenciada por la Raza o cruce del animal según Betancur (2007).

En otro estudio realizado por Quispe (2008), en donde identifico el virus de la DVB en bovinos criollos de la provincia de Melgar, Perú, se encontró una prevalencia del 48,7 % y comparándolo con estudios realizados en bovinos de la misma raza en Ayacucho Rivera (2001) se encontró prevalencias superiores al 70 %, con lo que se concluyó que al parecer los animales criollos son altamente susceptibles, esto podría deberse al estrés por deficiencias nutricionales e infecciones parasitarias, pero los efectos del virus podrían pasar desapercibidos o ser confundidos con otros problemas sanitarios.

### **5.5. PREVALENCIA DE ACUERDO AL SISTEMA DE MANEJO**

Las vacas sometidas al manejo semiextensivo obtuvieron el más alto porcentaje de positividad con 33,63 %. Considerando el resultado que se obtuvo, el sistema semiextensivo es el que mayormente se utiliza en las ganaderías del cantón Saraguro, donde coincidimos con Aguilar (2006) en la cual se dicen que los animales más susceptibles a adquirir la enfermedad son aquellos manejados en una crianza extensiva o semiextensiva constituidos por pocos animales en donde no existe el cuidado adecuado de los mismos, con un pequeño capital de explotación, normalmente con áreas reducidas de recursos forrajeros.

### **5.6. PREVALENCIA DE ACUERDO A LA BIOSEGURIDAD**

Las fincas que contaban con normas de bioseguridad alcanzaron el porcentaje más alto de positividad; mientras que las que no contaban obtuvieron un porcentaje no significativo. Concordando con Jara (2007), en donde menciona a que este podría ser un factor determinante en los ganaderos al momento de la compra de bovinos regularmente, sin una adecuado análisis clínico y confirmación en laboratorio, cuarentena ni manejan registros, y control al momento de la movilización por lo cual no se realizan descartes de animales PI infectados. Teniendo así los focos de infección.

## **5.7. PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS MÉTODOS DE REPRODUCCIÓN**

En las fincas donde someten a sus vacas a la Inseminación Artificial fueron las que más porcentaje de positividad obtuvieron con un 40%, y los ganaderos que utilizan Monta Natural la positividad fue menor con un 27,08%. Odeón (2006) manifiesta que en el caso de la inseminación artificial, el virus resiste la temperatura de congelación, el semen contaminado resulta ser una fuente de diseminación de la enfermedad a otros animales, por lo cual se evidencia que puede ser un factor de riesgo para la predisposición de la enfermedad en estos hatos, Concordando con resultados hechos por Lavanda (2015), en donde menciona que la inseminación artificial es un método de reproducción en los cuales los animales se han visto afectados. Por las industrias donde provengan las dosis de germoplasma pueden ser potenciales medios de transmisión si provienen de toros PI a la enfermedad, coincidiendo con publicaciones hechas por (Lértora, 2003).

Fray (2000), destaca que el virus se puede eliminar en el semen por un periodo corto después del último día de viremia y se han destacado toros seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por el semen, esta situación por lo general se presenta cuando el animal fue infectado durante la pubertad, en la que se está formando la barrera inmunológica hemato-testicular, lo cual permite al virus que se replique dentro del testículo y que evada la respuesta inmune.

## **5.8. PREVALENCIA DE ACUERDO A LOS SIGNOS CLÍNICOS**

Los animales estudiados que presentaron signos clínicos como diarrea y abortos, abortos y secreción oculares fueron los que mayor porcentaje obtuvieron con un 100 %, y los animales que solo presentaron abortos obtuvieron un 50 %, diarrea un 44,4 % Secreción ocular un 36,36 %, y los animales que no presentaron ningún signo clínico obtuvieron el menor

porcentaje de prevalencia. Considerando estos resultados pudo ser debido a que tenían una forma subclínica de la enfermedad donde los síntomas son casi imperceptibles concordando con Baker (1987), donde indica que 70 a 90 % del ganado adulto susceptible puede presentar la DVB subclínico.

Por otro lado Lértora (2002) y Baker (1987) mencionan que la mayoría de las infecciones causadas por el biotipo NCP, generalmente ocurre en animales entre 6 meses y 2 años de edad. 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.

Cabe mencionar según Vanroose (1998), destaca que vDVB clínicamente se caracteriza por: estomatitis erosiva aguda, gastroenteritis y diarrea, leve depresión, inapetencia, descarga oculonasal, ovaritis y producen infertilidad temporal, En 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.

Concordando con Lindberg (1999), en donde menciona que Las altas prevalencias del VDVB en un hato o zona ganadera, indica la existencia de una fuente de infección que son los animales PI pero la falta de conocimiento, causa que no se apliquen las adecuadas medidas de bioseguridad provocando así un alto contagio, también un deficiente sistema de manejo y falta de bioseguridad que promueven la transmisión de la infección viral.

## 6. CONCLUSIONES

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

- En el cantón Saraguro se encuentra una seroprevalencia del 27,92 % en vacas lecheras que tienen más de una cría, siendo la parroquia Yúluc la que más alto porcentaje posee (66,67 %), Cumbe es la segunda con (57,14 %) y la parroquia Urdaneta con (53,85 %). El resto de parroquias tienen un porcentaje menor.
- Las vacas  $\geq 8$  años de edad presentaron un porcentaje de 35,71 %;
- Considerando el número de partos las vacas entre 3 a 4 partos presentaron un alto porcentaje de positividad con 31,75 %.
- Las vacas Jersey presentaron un porcentaje elevado de positividad con un 66,67 %.
- Vacas sometidas a los sistemas de manejo semiextensivo tienen el mayor porcentaje de positividad con un 33,63 %.
- Las granjas que a pesar de tener normas de bioseguridad obtuvieron un porcentaje de 40 %;
- En cuanto al método de reproducción la prevalencia del VDVB es mayor en granjas donde se realiza Inseminación artificial (40 %).
- En lo que refiere a signos clínicos aquellos animales que presentaron diarrea y abortos fueron positivos a presentar anticuerpos de DVB con un porcentaje del 100 %.

## **7. RECOMENDACIONES**

Al finalizar este trabajo investigativo y respecto de los resultados obtenidos se recomienda lo siguiente:

- Se recomienda intervención sanitaria por parte de los organismos encargados de velar por la salud animal, sobre los focos infecciosos en el cantón Saraguro.
- Adquirir animales con el respectivo análisis de su perfil reproductivo.
- Promover capacitaciones periódicas por el MAGAP y por la CMVZ para los ganaderos de los sectores afectados, para que conozcan sobre el serio problema que causa a los hatos bovinos.
- Realizar un calendario de vacunación para prevenir y combatir esta enfermedad conjuntamente con los ganaderos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. ÁLVAREZ, S.; H. RIVERA; D. PEZO; W. GARCÍA. 2002. Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. Inv. Vet, Perú* pág. 46-51.
2. 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): pág. 148–153.
3. BAKER, J.C. 1990. Clinical aspects of bovine virus diarrhoea virus infection, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 9: pág. 25-41.
4. BAKER, J.C. 1987. Bovine viral diarrhoea virus: A review, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190: 1449-1458.
5. BETANCUR, H. GOGORZA, LM. Y MARTINEZ,FG. 2007. Serepidemiología de la Diarrea Viral ovina en Monteria (Córdoba Colombia)
6. BIELEFELDT OHMANN H. 1995. The pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection. *Food Anim. Pract.* 11: pág.447–476.
7. BOLIN, S.R., J.F. RIDPATH. 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves, *Am. J. Vet. Res.* 53: pág. 2157-2163.
8. BOLIN, S R., D. L. GROOMS. 2004. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. *Vet. Clin. Food. Anim.* Pág. 51-68.
9. BOLIN, SR, RIDPATH JP. 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves. *Ava. J Vet Res* 53: pág. 2157-2163.
10. BRACAMONTE, M., OBANDO, C. Y PLAZA, 2006. Diarrea viral bovina. Como afecta a los animales. INIA. Divulga. Centro Nacional de Investigación de investigaciones Ag opecuarias. pág. 1-22.

11. BROWNLIE, J., I. THOMPSON, A. CURWEN. 2000. Bovine virus diarrhoea virus strategic decision for diagnosis and control. In Practice vol. 22, pág. 176-187.
12. CHASE, C.; ELMOWALID, G.; YOUSIF, A. 2004. The immune response to bovine viral diarrhoea virus: A constantly changing picture. Vet Clin North Am: Food Anim Pract. 20: pág 95–114.
13. CHILDS T. 1946. X disease in cattle. Can J Comp Med 10: pág. 316-319.
14. DONIS LIANG, D.; SAINZ, I.; ANSARI, I.; GIL, L.; VASSILEV, V.; R. 2003. The envelope glycoprotein E2 is a determinant of cell culture tropism in ruminant pestiviruses. J Gen Virol. 84: pág. 1269–1274.
15. DONIS, R.; DUBOVI, E. 1987. Glycoproteins of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus in infected bovine cells. Journal of General Virology. 68: pág. 1607-1616.
16. DUBOVI E. J. 2013. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. Biologicals 41: pág. 8 – 13.
17. DUBOVI. E 1986. Fatal BVD virus-induced disease: role of persistently infected animals. The Bovine Procedure, pág. 18
18. DUBOVI EJ. 1994. Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle. Food Anim. Pract. 10: pág. 503–514.
19. DUBOVI EJ. 1996. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. Vet. Med. 91: pág. 867–872
20. FRAY MD, PATON DJ, ALENIUS S. 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. Anim. Reprod. Sci. 60–61: pág. 62-615.
21. 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: pág. 111–114.

22. FULTON, R.; RIDPATH, J.; CONFER, A.; SALIKI, J.; BURGE, L.; PAYTON, M. 2003. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *Biologicals*. 31: pág. 89–95.
23. GOYAL SM, RIDPATH JF. 2005. Bovine Viral Diarrhea Virus. Diagnosis, Management, and Control. Blackwell Publishing – USA, pág. 260.
24. GIVENS M DANIEL HARLAND RICHARD. BROCK KENNY V. 2007. Noncytopathic bovine viral diarrhoea virus can persist in testicular tissue after vaccination of peri-pubertal bulls but prevents subsequent infection. *Vaccine* 25. Pág. 867-876.
25. GRAHAM DA, MCLAREN IE, GERMAN A. 1998. Evaluation of the suitability of a commercial bovine viral diarrhoea virus antigen capture ELISA for diagnostic testing. *Vet. J.* 157: pág. 149–15.
26. GROOMS D. 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am*; pág. 5-19.
27. HAMERS C, COUVREUR B, DEHAN P, LETELLIER C, LEWALLE P, PASTORET P, KERKHOF P. 2000. Differences in experimental virulence of bovine viral diarrhoea virus strains isolated from hemorrhagic syndromes. *Vet. J.* 160: pág. 250–258.
28. HEINZ, F.; COLLET, M.; PURCELL, R.; GOULD, E.; HOWARD, C.; HOUGHTON, M.; MOORMANN, R.; RICE, C.; THIEL, H. 2000. Family Flaviviridae. In: Van Regenmortel, M.; Fauquet, C.; Bishop, D.; Carstens, E.; Estes, M.; Lemon, S.; Maniloff, J.; Mayo, M.; McGeoch, D.; Pringle, C.; Wickner, R. (Eds). *Virus Taxonomy; classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London, England. Academic Press. Pág. 859–879.
29. HOUE H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: pág. 521–547.

30. HOUE H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89–107.
31. HOUE, H. 2003. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Edit. Biologicals* 31, pág. 137-143.
32. JARA DIEGO 2007 – 2008 Estudio de seroprevalencia de diarrea vírica bovina (DVB) y rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) en la provincia de Loja UTPL (Ecuador) por medio de enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) y su distribución epidemiológica geoespacial.
33. KREY, T.; THIEL, H.; RUMENAPF, T. 2005. Acid-resistant bovine pestivirus requires activation for pH-triggered fusion during entry. *J Virol.* 79: pág. 4191–4200.
34. LÉRTORA W.J. 2002 Inmunohistoquímicas en biopsias de piel y bulbos pilosos para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus diarrea viral bovina. Tesis de Maestría. Universidad Austral de Chile. Valdivia Chile. Pág. 61-90.
35. LAMBETH LUKES, MOORE ROBERT J., MURALITHARAN MORLEY S., DORAN TIMOTHY J. 2007. Suppression of bovine viral diarrhoea virus replication by small interfering RNA and short hairpin RNA-mediated RNA interference *Veterinary Microbiology* 119: pág. 132-134.
36. LAVANDA JORGE 2015 Tesis Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en Vacas Lecheras de las Ganaderías del Cantón Loja.
37. LÉRTORA W.J. 2003. Diarrea viral Bovina: Actualización. Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE Argentina. 1: pág. 42-51.

38. LECOT, S.; BELOUZARD, S.; DUBUISSON, J.; ROUILLE, Y. 2005. Bovine viral diarrhoea virus entry is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *J Virol.* 79: pág. 10826–10829.
39. LINDENBACH, B.; THIEL, H.; RICE, C. 2007. *Flaviviridae: The Virus and their Replication*. In: Knipe, D.; Howley, P. *Fields Virology*. 5th Edition. Philadelphia, USA. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins (Ed). Pág. 1101-1152
40. MARTÍNEZ-SALAS E, RAMOS R, LAFUNETE E, LÓPEZ DE QUINTO S. 2001. Functional interactions in internal translation directed by viral and cellular IRES elements. *J Gen Virol* 82: pág. 973-984.
41. MOENNIG V, LIESS B. 1995. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: pág. 477–487.
42. MCGOWAN MR, KIRKLAND PD, RODWELL BJ, KERR DR, CARROLL CL. 1993. A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenology* 39: pág. 443–449.
43. NETTLETON PF, ENTRICAN G. 1995. Ruminant Pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151: pág. 615–642.
44. ODEÓN AC, SPÄTH EJA, PALOMA EJ, LEUNDA MR, FERNÁNDEZ SAINZ IJ, PEREZ SE, KAISER GC, DRAGHI MG, CETRA BM, CANO A. 2001. Seroprevalencia de la diarrea viral bovina, herpesvirus bovino y virus sincicial respiratorio en Argentina. *Rev. Med. Vet.* 82: pág. 216–220
45. OLAFSON P, MACCALLUM AD, FOX A. 1946. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet* 36: pág. 205-213.
46. OBANDO CA, RODRÍGUEZ JM. 2005. *Diarrea Viral Bovina*. Manual de Ganadería de Doble Propósito. pág. 317-322.

47. 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: pág. 603–607.
48. PATON DJ. 1995. Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112: pág. 215–236.
49. PEDRERA, M., RISALDE, M., ROMERO, J., Da SILVA, A., ALEXANDRE, A., NUÑEZ. 2007. Diarrea vírica bovina: etiología formas clínicas, distribución del virus y patogenia. *Real Academia de Andalucía Oriental, Anales*, vol 20. Pág. 1- 8..
50. PARRA J., VERA V., VILLAMIL., RAMIREZ G. 1994. Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en explotaciones lecheras de la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, de la Universidad Nacional de Colombia: pág. 29-44.
51. QUISPE R, CCAMA A, RIVERA H, ARAÍNGA M. 2008. El virus de la diarrea viral en bovinos criollos de la provincia de Melgar, Puno. *Rev Inv Vet Perú.*; 19: pág. 176-82
52. RAMSEY FK, CHIVERS WH. 1953. Mucosal disease of cattle. *North Am Vet* 34: pág. 629-634.
53. RAYMOND G. 2002. DVB Bovine Virus Diarrhea Virus Veterinarian's Corner; pág. 2-9.
54. REVISTA EL AGRO. 2013. Diarrea vírica: una enfermedad expandida en granjas ecuatorianas.
55. RIDPATH JF. 2005. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: impact of biotype and genotype on U.S control programs. *Prev Vet Med* 72: pág. 17-30.

56. RIDPATH, J. 2010. Bovine Viral Diarrhea Virus: Global Status. *Vet Clin Food Anim.* 26: pág. 105–121.
57. RIVERA, H., VALDIVIA, L: Y BENITO, A. 2001. Diarrea Viral en Bovinos lecheros de crianza semiextensiva de la Provincia de Parinacochas, Ayacucho. *Rev. Inv. Vet., Perú.* Pág. 117-122.
58. RIDPATH, J., BENDFELDT, S., NEIL, J. Y LIEBLER- TENORIO, E. 2006. Lymphocytopathogenic activity in vitro correlates with high virulence in vivo for BVDV type 2 strains: Criteria for a third biotype of BVDV. *Virus Research* (118) pág. 62-65.
59. RIDPATH, J.; BOLIN, S. 1991. Hybridization analysis of genomic variability among isolates of bovine viral diarrhoea virus using cDNA probes. *Mol Cell Probes.* 5: pág. 291-298.
60. VALERA, A. 2007. *Microbiología Veterinaria.*(1era. Ed.) Buenos Aires, Argentina. pág. 447-450.
61. VANROOSE, G; H. NAUWINCK; A. VAN SOOM; E. VANOPDENBOSCH; A. DE KRUIF. 1998. Replicación OF Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viral Diarrhea Virus in Zona – Free and Zona – Intact In Vitro – Proceeded Bovine Embryos and the Effect on Embryo Quality. *Biology of Reproduction.* 58: pág. 857 – 866.
62. VANROOSE G, DE KRUIF A, VAN SOOM A. 2000. Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: pág. 131–143.
63. WALZ, P. BELL, T., WELLS, J. y GROOMS, D. 2001. Relationship between degree of viremia and disease manifestation in calves with experimentally induced bovine viral diarrhoea virus infection. *American Journal of Veterinary Research* (62). Pág. 103.

## 9. ANEXOS

Registros de los bovinos con sus respectivos datos y resultados de acuerdo a la prueba de ELISA

# muestra	Nombre del Propietario	Parroquia	Edad	# Partos	Raza	MANEJO			BIOSEGURIDAD				M. REPR ODUC CION		SINTOMAS					VALORES D.O ELISA	
						intensivo	semi extensivo	extensivo	cuarentena	pediluvio	rodiluvio	Ninguna	M. natural	I.A	estomatitis	diarrea	abortos	Secreción. Nasal	secreción. Ocular		ninguno
1	María Paque	Saraguro	5	3	Holstein	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,021
2	María Paque	Saraguro	4	2	Holstein	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,128
3	María Paque	Saraguro	5	3	Holstein	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,276
4	María Paque	Saraguro	4	2	Holstein	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,295
5	Miguel Lozano	Saraguro	7	5	H. Mestizo	no	si		no	Si	no	no		si	no	no	no	no	no	si	0,279
6	Miguel Lozano	Saraguro	6	4	H. Mestizo	no	si		no	Si	no	no		si	no	si	no	no	no	no	0,604
7	Miguel Lozano	Saraguro	4	2	H. Mestizo	no	si		no	Si	no	no		si	no	no	si	no	no	no	0,052
8	Celso Lavanda	Sumaypamba	4	2	Criolla	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,049
9	Celso Lavanda	Sumaypamba	5	3	Criolla	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,008
10	Celso Lavanda	Sumaypamba	3	1	Criolla	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,005
11	Celso Lavanda	Sumaypamba	7	4	Criolla	no		si	no	no	no	si	si		no	si	no	no	no	no	0,355
12	Maria Cuenca	Sumaypamba	6	3	Criolla	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,062
13	Isidro Guachizaca	Manu	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,251
14	Isidro Guachizaca	Manu	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,267
15	Lauro Torres	Manu	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,270
16	Marlene Guachizaca	Manu	6	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,014
17	Marlene Guachizaca	Manu	7	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si		no	si	no	no	no	no	0,027
18	Isidro Guachizaca	Manu	7	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si		no	no	si	no	no	no	0,162
19	Angel Romero	Manu	6	4	H.mestizo	no		si	no	no	no	si	si		no	si	no	no	si	no	0,431
20	Angel Romero	Manu	4	2	H. mestizo	no		si	no	no	no	si	si		no	si	no	no	no	no	0,273
21	Angel Romero	Manu	4	2	H. mestizo	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,027
22	Lola Samaniego	Manu	5	3	B.mestizo	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	si	no	0,027
23	Lola Samaniego	Manu	5	3	B. mestizo	no		si	no	no	no	si	si		no	no	no	no	no	si	0,090
24	Lola Samaniego	Manu	6	4	B.mestizo	no		si	no	no	no	si	si		no	no	si	no	no	no	0,484

25	Lola Samaniego	Manu	5	3	B.mestizo	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	0,027
26	Joaquin Ochoa	Manu	4	2	H.mestizo	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,257
27	Joaquin Ochoa	Manu	4	2	H.mestizo	no	si	no	no	no	si	si	no	si	no	no	no	no	0,273
28	Joaquin Ochoa	Manu	5	3	H.mestizo	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,058
29	Julio Macas	Manu	8	5	H.mestizo	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,216
30	Julio Macas	Manu	6	4	H.mestizo	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,219
31	Angel Ortega	Manu	8	6	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,200
32	Angel Ortega	Manu	4	2	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,030
33	Angel Ortega	Manu	4	2	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,273
34	Aida Armijos	Manu	8	5	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,118
35	Aida Armijos	Manu	6	3	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,194
36	Segundo Fares	Manu	9	6	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,273
37	Segundo Fares	Manu	5	3	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	1,058
38	Segundo Fares	Manu	9	6	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	si	no	no	no	no	0,604
39	Modesto Lavanda	Manu	3	1	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	si	no	no	no	no	0,276
40	Modesto Lavanda	Manu	9	6	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,046
41	Modesto Lavanda	Manu	6	4	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,248
42	Modesto Lavanda	Manu	8	5	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,197
43	Aida Armijos	Manu	9	6	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,207
44	Antonio Serrano	Manu	4	2	Holstein	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,159
45	Antonio Serrano	Manu	5	3	Holstein	no	si	no	no	no	si	si	no	si	no	no	no	no	0,241
46	Antonio Serrano	Manu	5	3	Holstein	no	si	no	no	no	si	si	no	si	no	no	no	no	0,260
47	Antonio Serrano	Manu	4	2	Holstein	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,263
48	Carlos Torres	Manu	4	2	Yersey	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,273
49	Carlos Torres	Manu	5	3	Yersey	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,443
50	Carlos Torres	Manu	7	4	Yersey	no	si	no	no	no	si	si	no	si	no	no	no	no	0,478
51	Lucia Macas	Manu	5	2	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,222
52	Lucia Macas	Manu	5	3	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,210
53	Lucia Macas	Manu	3	1	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,071
54	Lucia Macas	Manu	6	4	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,273
55	Emiliano Gonzales	Manu	4	2	Criolla	no	si	no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	0,285
56	Miguel Yungazaca	Saraguro	4	2	Holstein	no	si	no	Si	no	no	si	no	no	no	no	no	si	0,058
57	Miguel Yungazaca	Saraguro	5	3	Holstein	no	si	no	Si	no	no	si	no	no	no	no	no	si	0,270
58	Miguel Yungazaca	Saraguro	5	3	Holstein	no	si	no	Si	no	no	si	no	no	no	no	no	si	0,024

59	Antonio Guaman	Saraguro	5	3	Holstein	no	si		no	Si	no	no		si	no	no	no	no	si	0,131
60	Antonio Guaman	Saraguro	4	2	Holstein	no	si		no	Si	no	no		si	no	no	si	no	no	0,879
61	Marco Gualan	Saraguro	4	2	Holstein	no	si		no	Si	no	no		si	no	no	no	no	si	1,008
62	Marco Gualan	Saraguro	5	3	Holstein	no	si		no	Si	no	no		si	no	no	no	no	si	1,169
63	Isabel Medina	Saraguro	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	0,090
64	Isabel Medina	Saraguro	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	1,894
65	Micaela Ramon	Celen	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,326
66	Micaela Ramon	Celen	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,049
67	Amalia Cabrera	Tenta	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	0,055
68	Amalia Cabrera	Tenta	6	4	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	si	no	no	1,125
69	Amalia Cabrera	Tenta	8	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,273
70	Manuel Beltran	Tenta	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	0,715
71	Manuel Beltran	Tenta	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,027
72	Gonzalo Beltran	Tenta	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,358
73	Gonzalo Beltran	Tenta	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	0,355
74	Gonzalo Beltran	Tenta	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	0,172
75	Gonzalo Beltran	Tenta	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	1,071
76	Manuel Beltran	Tenta	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,248
77	Digna	Tenta	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	si	no	no	1,465
78	Digna	Tenta	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	1,443
79	Digna	Tenta	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,043
80	Carlos Pineda	Tenta	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	1,131
81	Carlos Pineda	Tenta	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,134
82	Ezequiel Cabrera	Tenta	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,030
83	Ezequiel Cabrera	Tenta	6	4	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,002
84	Ezequiel Cabrera	Tenta	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	si	no	no	0,039
85	Maria Ramon	Tenta	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,267
86	Maria Cabrera	Tenta	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	0,440
87	Leonidas Ordoñez	Tenta	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,276
88	Leonidas Ordoñez	Tenta	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,260
89	Jenny Ramon	Celen	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,257
90	Jenny Ramon	Celen	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,203
91	Jenny Ramon	Celen	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	0,238
92	Rosa Japon	Celen	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,260

93	Ricardo P. Pineda	Celen	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,239
94	Ricardo Pineda	Celen	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,208
95	Ricardo Pineda	Celen	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,814
96	Rosa Japon	Celen	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,218
97	Bayron Godoy	Celen	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,203
98	Bayron Godoy	Celen	5	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,246
99	Manue Dociteo Lavanda	Lluzhapa	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,229
100	Manuel Dociteo Lavanda	Lluzhapa	7	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,178
101	Manuel Lavanda	Lluzhapa	8	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,226
102	Ricardo Puglia	Lluzhapa	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	1,032
103	Fanny Ordoñez	Lluzhapa	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,077
104	Fanny Ordoñez	Lluzhapa	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	si	no	no	0,223
105	Porfirio Lavanda	Lluzhapa	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,004
106	Porfirio Lavanda	Lluzhapa	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,352
107	Lucas Erreyes	Lluzhapa	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,234
108	Lucas Erreyes	Lluzhapa	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,226
109	Lucas Erreyes	Lluzhapa	4	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,231
110	Flor Pezante	Lluzhapa	8	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,229
111	Flor Pezante	Lluzhapa	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	0,226
112	Rosalía Puglia	Lluzhapa	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,218
113	Rosalía Puglia	Lluzhapa	6	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,239
114	Rosalía Puglia	Lluzhapa	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,239
115	Ángel Armijos	Selva Alegre	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,226
116	Ángel Armijos	Selva Alegre	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,229
117	Ángel A. Lavanda	Selva Alegre	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	1,193
118	Asunción Macas	Selva Alegre	7	5	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,115
119	Asunción Macas	Selva Alegre	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,034
120	Segundo Gonzalez	Selva Alegre	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,236
121	Segundo Gonzalez	Selva Alegre	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,231
122	Segundo Gonzalez	Selva Alegre	5	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,006
123	Gilbert Montaña	Urdaneta	4	2	holsten	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,064
124	Jilver Montaña	Urdaneta	3	1	holsten	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,006
125	Gilbert Montaña	Urdaneta	4	2	holsten	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	1,597
126	Zoila	Urdaneta	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	no	si	0,107

	Espinosa				zo																		
127	Zoila Espinosa	Urdaneta	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,236							
128	Sixto Espinosa	Urdaneta	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,011							
129	Blanca Gonzalez	Urdaneta	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	2,986							
130	Blanca Gonzalez	Urdaneta	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	no	0,231						
131	Blanca Gonzalez	Urdaneta	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,314							
132	Segundo Albarado	Urdaneta	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	1,347							
133	Segundo Albarado	Urdaneta	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	1,471	
134	Gudelia Mora	Urdaneta	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	1,264							
135	Gudelia Mora	Urdaneta	3	1	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	1,390							
136	Alejandrina Gonzalez	Tablon	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	1,282							
137	Julio Gonzalez	Tablon	4	2	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,264							
138	Julio Gonzalez	Tablon	5	3	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,037							
139	Galindo Sigcho	Tablon	8	5	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	0,428	
140	Galindo Sigcho	Tablon	6	4	H.mestizo	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,064							
141	Celida Armijos	Tablon	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	no	0,049						
142	Luis Sigcho	Cumbe	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	2,393							
143	Luis Sigcho	Cumbe	6	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	2,410							
144	Luis Sigcho	Cumbe	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,042							
145	Oswaldo Gonzalez	Cumbe	8	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	1,926							
146	Oswaldo Gonzalez	Cumbe	6	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	0,049	
147	Oswaldo Gonzalez	Cumbe	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	1,362							
148	Oswaldo Gonzalez	Cumbe	3	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,092							
149	Klever Guillen	Yulo	4	1	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,001							
150	klever Guillen	Yulo	6	3	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	si	no	no	no	no	no	1,241	
151	klever Guillen	Yulo	8	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	2,173							
152	jhovany	Yulo	7	4	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	no	no	no	si	no	no	no	0,034	
153	jhovany	Yulo	5	2	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	no	1,302						
154	jhovany	Yulo	8	5	Criolla	no	si		no	no	no	si	si	no	si	0,903							

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

**Placa 1.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,102	0,188	0,179	0,108	0,168	0,435	0,176	0,122	0,419	0,186	0,564	0,184
B	0,097	0,291	0,184	0,108	0,169	0,291	0,182	0,186	0,47	0,326	0,557	0,239
C	0,431	0,116	0,185	0,128	0,163	0,187	0,183	0,19	0,128	0,108	0,113	0,187
D	0,402	0,115	0,104	0,253	0,109	0,114	0,186	0,118	0,7	0,213	0,458	0,182
E	0,106	0,102	0,108	0,108	0,186	0,178	0,24	0,185	0,203	0,212	0,142	0,181
F	0,14	0,101	0,151	0,181	0,137	0,162	0,251	0,107	0,115	0,154	0,109	0,164
G	0,187	0,212	0,236	0,186	0,161	0,165	0,17	0,141	0,117	0,439	0,1	0,175
H	0,193	0,119	0,186	0,118	0,186	0,15	0,166	0,378	0,456	0,178	0,112	0,182

**Placa 2.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,079	0,155	0,076	0,169	0,166	1,257	0,179	0,837	0,59			
B	0,07	0,172	0,214	0,169	0,077	0,166	0,089	0,094	0,432			
C	0,374	0,165	0,167	0,164	0,1	0,199	0,244	0,614				
D	0,567	0,145	0,164	0,165	0,077	0,608	0,1	0,111				
E	0,169	0,164	0,166	0,547	0,707	0,657	0,094	0,075				
F	0,157	0,483	0,165	0,12	0,117	0,575	1,022	0,566				
G	0,397	0,105	0,164	0,088	0,168	0,625	1,029	0,935				
H	0,161	0,163	0,161	0,168	0,079	0,582	0,091	0,088				

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

**TESIS: “ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO, PROVINCIA DE LOJA”**

**FOTOGRAFÍAS SALIDA DE CAMPO**

**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: “ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL**  
**BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO, PROVINCIA**  
**DE LOJA”**

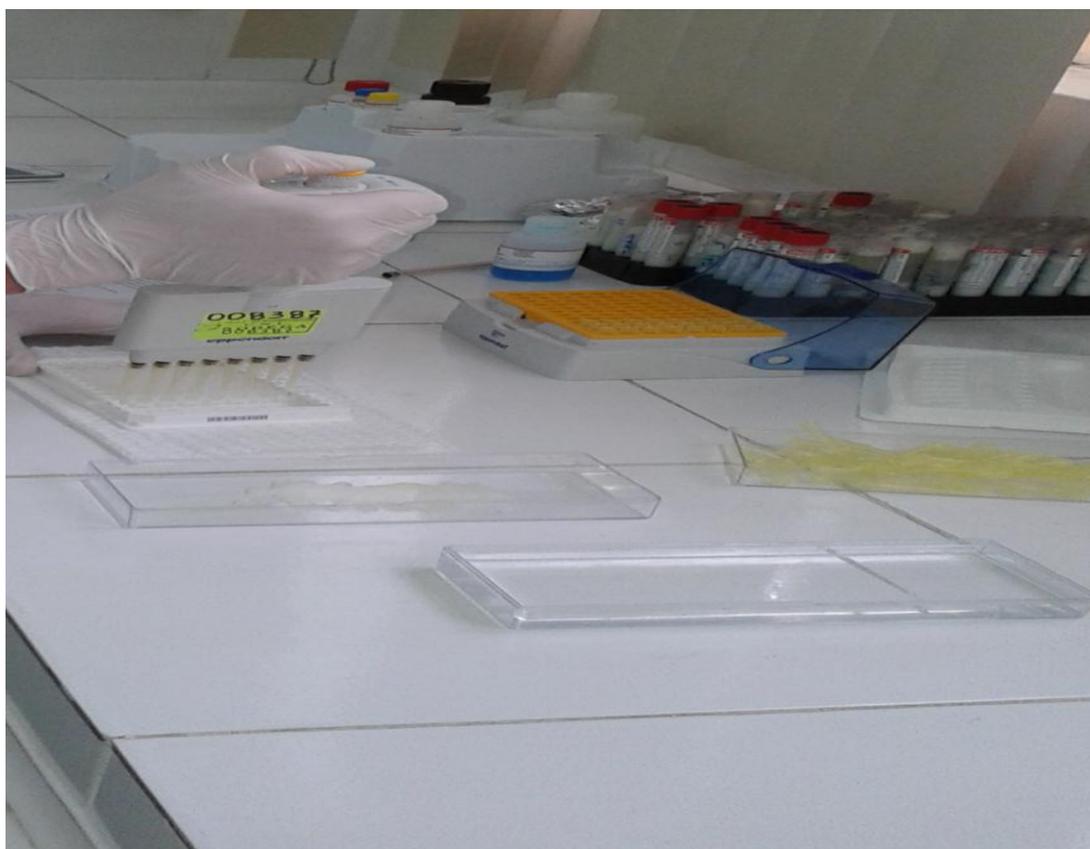
**Foto 2.** Muestras de leche colectadas en sus respectivos recipientes.



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

**TESIS: “ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO, PROVINCIA DE LOJA”**

**Foto 3.** Trabajo de laboratorio.



## 10. GLOSARIO

- vDVB.- Virus de la Diarrea Viral Bovina.
- BVDV.- Virus de la Diarrea Viral Bovina.
- EM.- Enfermedad de las Mucosas.
- CP.- Cepas Citopáticas.
- PI.- Persistentemente Infectados
- NCP.- Cepas no Citopáticas.
- Epítipo.- es el lugar donde se le une el anticuerpo al antígeno
- Cofactor.- es un componente no proteico, termoestable y de baja masa molecular, necesario para la acción de una enzima.
- Apoptótico.- La apoptosis o muerte celular programada es el proceso ordenado por el que la célula muere ante estímulos extra o intracelulares. La apoptosis es fundamental en el desarrollo de órganos y sistemas, en el mantenimiento de la homeostasis del número de células y en la defensa frente a patógenos. Es un proceso finamente regulado que cuando se altera produce graves patologías como malformaciones, defectos en el desarrollo, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas o aparición de tumores.
- Citopático.- Daño celular causado por la infección de un virus.