



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) EN BOVINOS DE LECHE
MEDIANTE ANÁLISIS DE ELISA COMPETITIVO”**

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Médica Veterinaria Zootecnista

AUTORA: DANIELA ALEXANDRA PACHECO IÑIGUEZ

TUTOR: ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, MGTR.

Cuenca - Ecuador

2022

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Daniela Alexandra Pacheco Iñiguez con documento de identificación N° 0106940455, manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 07 de noviembre del 2022

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Daniela Pacheco', is written over a horizontal line.

Daniela Alexandra Pacheco Iñiguez

0106940455

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Daniela Alexandra Pacheco Iñiguez con documento de identificación N° 0106940455, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Prevalencia de Diarrea Viral Bovina (DVB) en bovinos de leche mediante análisis de ELISA competitivo”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médica Veterinaria Zootecnista, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 07 de noviembre del 2022

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Daniela Pacheco', is written over a horizontal line.

Daniela Alexandra Pacheco Iñiguez

0106940455

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mauricio Xavier Salas Rueda con documento de identificación N° 0603329681, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) EN BOVINOS DE LECHE MEDIANTE ANÁLISIS DE ELISA COMPETITIVO”, realizado por Daniela Alexandra Pacheco Iñiguez con documento de identificación N° 0106940455, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción de Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 07 de noviembre del 2022

Atentamente,



Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda, Mgtr.

0603329681

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico principalmente a mi madre Rebeca por apoyarme incondicionalmente en mis estudios y guiarme día a día para ser una buena persona. A mi hermana Gabriela por brindarme su apoyo y buenos consejos que me ayudan en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTO.

Me gustaría agradecer primeramente a mi madre por su amor y sacrificio que me brinda para poder culminar mis estudios. A mi hermana que con su apoyo y palabras de aliento me ayudaron a seguir adelante en este camino.

Agradezco también a los docentes de la Carrera de Medicina Veterinaria, quienes durante toda mi carrera universitaria me han brindado sus conocimientos y consejos para llegar a ser una buena profesional.

ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN	14
1.1	PROBLEMA	15
1.2	DELIMITACIÓN	15
1.2.1	Temporal	15
1.2.2	Espacial	15
1.2.3	Académica.....	16
1.3	EXPLICACIÓN DEL PROBLEMA	16
1.4	OBJETIVOS	16
1.4.1	Objetivo General	16
1.4.2	Objetivo Específico	17
1.5	HIPÓTESIS	17
1.5.1	Hipótesis alternativa.....	17
1.5.2	Hipótesis nula.....	17
2.	REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL	18
2.1	Generalidades	18
2.2	Distribución	19
2.3	Etiología.....	20
2.4	Morfología.....	21
2.5	Genoma.....	21

2.6	Proteínas estructurales	21
2.7	Proteínas no estructurales	23
2.8	Clasificación	24
2.9	Transmisión	25
2.10	Manifestaciones clínicas	26
2.11	Diagnóstico	28
2.12	ELISA	29
2.12.1	ELISA Directo	30
2.12.2	ELISA Indirecto	30
2.12.3	ELISA tipo Sándwich HADAS	30
2.12.4	ELISA Competitivo	31
2.13	Tratamiento	31
2.14	Control y Prevención.....	31
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1	Materiales	33
3.1.1	Físicos.....	33
3.1.2	Biológicos.....	34
3.1.3	Químicos	34
3.2	Diseño estadístico	34
3.3	Metodología estadística	35

3.4	Población y Muestra	35
3.4.1	Obtención de la muestra	35
3.4.2	Procesamiento de la muestra	36
3.5	Operalización de variables.....	37
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	38
4.1	Prevalencia total	38
4.2	Prevalencia según la raza.....	39
4.3	Prevalencia según el sexo	40
4.4	Prevalencia por edad.....	42
4.5	Prevalencia por abortos	43
4.6	Prevalencia por número de partos	44
4.7	Prevalencia por procedencia.....	46
4.8	Prevalencia por tipo de reproducción	47
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
5.1	Conclusiones.....	49
5.2	Recomendaciones	49
6.	Bibliografía.....	51
7.	ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE ILUSTRACIÓN

<i>Ilustración 1.</i> Ubicación de Cañar, sector San Pedro (Google maps, 2022).....	16
<i>Ilustración 2.</i> Toma de muestra sanguínea de vena coxígea.....	60
<i>Ilustración 3.</i> Procesamiento del Kit de ELISA Competitivo con el suero bovino	60
<i>Ilustración 4.</i> Lectura de densidades ópticas	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Materiales Físicos</i>	33
Tabla 2. <i>Materiales Biológicos</i>	34
Tabla 3. <i>Materiales Químicos</i>	34
Tabla 4. <i>Variable Independiente: Suero de origen Bovino</i>	37
Tabla 5. <i>Variable dependiente: ELISA para VDVB</i>	37
Tabla 6. <i>Prevalencia total positiva de VDVB</i>	38
Tabla 7. <i>Prevalencia total positivo según la raza</i>	39
Tabla 8. <i>Prevalencia total dudoso según la raza</i>	39
Tabla 9. <i>Prevalencia total positivo según el sexo (Positivo)</i>	40
Tabla 10. <i>Prevalencia total dudoso según el sexo</i>	41
Tabla 11. <i>Prevalencia total positivo por edad</i>	42
Tabla 12. <i>Prevalencia total dudoso por edad</i>	42
Tabla 13. <i>Prevalencia total positivos por abortos</i>	43
Tabla 14. <i>Prevalencia total dudoso por abortos</i>	43
Tabla 15. <i>Prevalencia total positiva por número de partos</i>	44
Tabla 16. <i>Prevalencia total dudoso por número de parto</i>	45
Tabla 17. <i>Prevalencia total positivo por procedencia</i>	46
Tabla 18. <i>Prevalencia total dudoso por procedencia</i>	46
Tabla 19. <i>Prevalencia total positivo por tipo de reproducción</i>	47
Tabla 20. <i>Prevalencia total dudoso por tipo de reproducción</i>	47

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de Diarrea Viral Bovina en la zona de San Pedro en la provincia de Cañar, esta es una localidad en la cual la producción ganadera es la principal fuente de ingresos económicos de sus habitantes. Sin embargo, a pesar de ser una zona ganadera anteriormente no se han realizado trabajos epidemiológicos en las explotaciones ganaderas sobre las principales enfermedades que pueden llegar afectar a los animales y de esta manera a la economía de la localidad, como es el caso del VDVB. Por tal razón se realizó este trabajo, en 3 zonas diferentes de San Pedro, con un muestreo al azar de 184 bovinos en las diferentes explotaciones de la zona ganadera, la recolección de las muestras de sangre se realizó de la vena coxígea del animal, de estas se extrajo el suero y se almacenó en refrigeración para su posterior análisis el cual se lo realizó en la Clínica Veterinaria POLIVET, mediante la técnica de ELISA Competitivo IDVet®. Los resultados de las muestras proporcionaron una prevalencia para VDVB de 31,52 % (58/184), de animales positivos; 67,39% (124/184), de animales negativos y 1,09 % (2/184), de animales dudosos.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the prevalence of Bovine Viral Diarrhea in San Pedro in the province of Cañar, a town where livestock production is the main source of income for its inhabitants. However, despite being a livestock area, epidemiological work on the main diseases that can affect animals and thus the economy of the locality, such as BVDV, has not been carried out previously in livestock farms. For this reason, this work was carried out in 3 different zones of San Pedro, with a random sampling of 184 cattle in the different farms of the cattle zone, the blood samples were collected from the animal's coccygeal vein, the serum was extracted and stored in refrigeration for its later analysis, which was carried out at the POLIVET Veterinary Clinic, by means of the IDVet® Competitive ELISA technique. The results of the samples provided a prevalence for BVDV of 31.52% (58/184) of positive animals, 67.39% (124/184) of negative animals and 1.09% (2/184) of doubtful animals.

1. INTRODUCCIÓN

La diarrea viral bovina (DVB), es una enfermedad viral que afecta frecuentemente al ganado bovino. Es endémica en la mayoría de los países productores de ganado y en algunos países se considera uno de los virus bovinos más relevantes, afecta tanto la reproducción como la productividad, lo cual genera mayores pérdidas económicas a productores.

El impacto económico de esta enfermedad son las pérdidas productivas, gastos de tratamiento y prevención, sin embargo las pérdidas productivas dependen del tamaño de la población, la magnitud de la infección y el curso de las diferentes manifestaciones de la enfermedad que influyen en la disminución de la producción láctea; en los trastornos reproductivos tenemos, la reducción en la tasa de la concepción, infecciones fetales causales de abortos, defectos congénitos, retardo en el crecimiento y muerte entre los animales al adquirir la infección en forma aguda, sumándole a esto, la infección de los fetos produciendo terneros persistentemente infectados (PI) donde los animales más jóvenes son más débiles y tienen una mayor susceptibilidad a otras enfermedades y eventualmente pueden morir por la enfermedad de las mucosas. (Houe, Economic impact of BVDV infection in dairies, 2003)

Se conoce esta enfermedad como una de las principales causas de pérdidas económicas en hatos ganaderos, como consecuencia de esta enfermedad se resalta pérdidas reproductivas como abortos espontáneos, fetos con malformaciones, en otros casos se puede resaltar problemas respiratorios, diarreas sanguinolentas, entre otras, por lo que ocasiona que el animal se debilite y logre desarrollar otras enfermedades que existan en la zona, debido a que su sistema inmune se encuentra débil. (Moennig & Becher, 2018)

De acuerdo con la OIE, los virus de la diarrea viral bovina (VDVB) tienen la posibilidad de infectar a ganado bovino de cualquier edad. Es una patología de repartición mundial, aunque

recientemente se ha logrado erradicar en ciertos territorios. “La infección por el VDVB da sitio a extensa variedad de signos clínicos, como entéricos y respiratorios” (OIE, 2018).

Por ello la presente investigación busca proporcionar información que nos ayude a conocer la prevalencia del VDVB y, así prevenir grandes pérdidas económicas en el sector de San Pedro.

1.1 PROBLEMA

En la actualidad en algunos hatos ganaderos aún existe la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina, la cual, provoca grandes pérdidas reproductivas y monetarias. Uno de los problemas principales es que los ganaderos de esta localidad no conocen la enfermedad y también la presencia de esta en sus hatos ganaderos, también una problemática es que no se lleva un registro de los nuevos animales que llegan y los que nacen.

Esto a su vez provoca pérdidas económicas a los pequeños y grandes productores de ganado lechero. Por lo tanto, el presente trabajo busca conocer la prevalencia de VDVB en el sector de San Pedro.

1.2 DELIMITACIÓN

1.2.1 Temporal

El presente trabajo tuvo una duración de cuatrocientas horas, las cuales fueron distribuidas en trabajo experimental y redacción del documento final.

1.2.2 Espacial

El presente trabajo se centra en la provincia de Cañar, cantón Cañar, parroquia Ingapirca específicamente en el sector de San Pedro, el cual se encuentra a 3160 m.s.n.m.

El análisis de las muestras se realizó en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana.

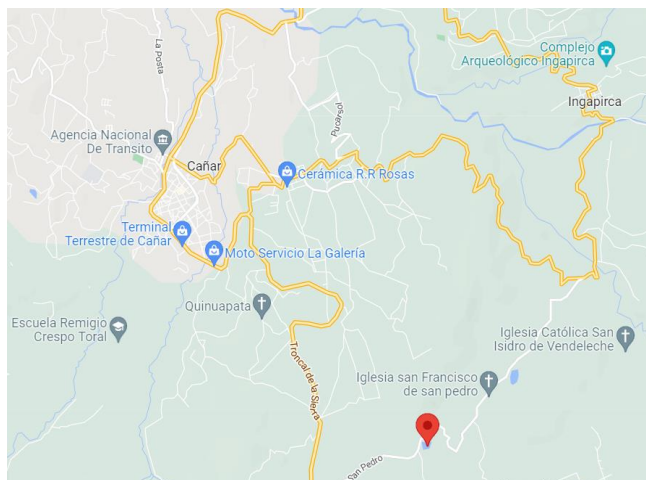


Ilustración 1. Ubicación de Cañar, sector San Pedro (Google maps, 2022)

1.2.3 Académica

El presente trabajo investigativo está relacionado con el área de Sanidad Animal, que comprende el análisis de las muestras, lo cual permite obtener resultados más certeros frente a la prevalencia de Virus de la Diarrea Viral Bovina.

1.3 EXPLICACIÓN DEL PROBLEMA

La diarrea viral bovina (DVB) representa un problema de entorno mundial que causa pérdidas considerables tanto en ganado de carne como lechero, afectándolo de distintas maneras las cuales permanecen supeditadas a la edad del animal, estado inmunológico e instante de la gestación en el cual se genera la infección (Rondón , 2006).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de Diarrea Viral Bovina en bovinos de leche, en la provincia de Cañar, zona San Pedro, mediante análisis de ELISA competitivo.

1.4.2 Objetivo Específico

Detectar anticuerpos dirigidos contra Diarrea Viral Bovina en bovinos de leche, mediante la técnica de ELISA competitivo.

Calcular la prevalencia de DVB en bovinos de producción de leche.

1.5 HIPÓTESIS

1.5.1 Hipótesis alternativa

La prevalencia de DVB en bovinos de leche de la zona de San Pedro es alta.

1.5.2 Hipótesis nula

La prevalencia de DVB en bovinos de leche de la zona de San Pedro es baja.

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1 Generalidades

La diarrea viral bovina es una de las enfermedades infecciosas más importantes del ganado con respecto a la salud animal y el impacto económico. Su naturaleza sigilosa, infecciones transitorias prolongadas y la presencia de animales persistentemente infectados (PI) como reservorios eficientes fueron responsables de su presencia difundida en las poblaciones bovinas de todo el mundo (Moennig & Becher, 2018).

En marzo 1964 en Ithaca (estado de New York), fue descubierto el primer brote de diarrea viral bovina, VDVB. El animal enfermo fue una vaca de 4 años, importada, dos años atrás de Inglaterra, con signos clásicos de diarrea invernal (diarrea acuosa, anorexia, disminución en la producción láctea e hipertermia), cuyo desenlace fue fatal. En los días siguientes después de este episodio de diarrea, cinco animales de la misma finca murieron manifestando la misma sintomatología; después de estos casos, otras cinco fincas ubicadas en un perímetro de 15 km donde sucedió el primer brote fueron rápidamente alcanzadas por la infección. (Cavirani et al.,2001) Desde entonces, la infección ha evolucionado hasta convertirse en una enfermedad multifacética con presentaciones clínicas variadas. De acuerdo con su patogenia, la DVB ha sido considerada la enfermedad viral más complicada en bovinos (Deregt, 2005)

La VDVB es una enfermedad de etiología viral que ataca las mucosas; es considerada una de las principales afecciones que interfiere en los procesos productivos. Su distribución es mundial y también muy difundida (Martínez, 2016, p.341).

Es una de las enfermedades de mayor distribución en la población bovina y su prevalencia depende del tipo de ganado, densidad poblacional, tipo de manejo, comercio de los animales, manejo de las pasturas, etc. (Houe, 1999). Es una enfermedad altamente contagiosa, que provoca

la muerte de los animales afectados. la enfermedad se caracteriza por cuadros de diarrea sanguinolenta, úlceras en el intestino, deshidratación, fiebre alta y muerte. (Díaz, Molina, & Molina, 2004, p.5)

Una de las características más importantes de este virus es su alta frecuencia de mutación y la tendencia a la recombinación, lo que ha llevado a que tenga una gran diversidad genética y antigénica; problema que se ve reflejado en las múltiples manifestaciones clínicas observadas en los animales afectados y en el difícil control de la enfermedad (Vargas, Jaime, & Vera, 2009, p.677).

“La infección con el virus de la VDVB/EM tiene efectos distintos dependientes del estado del estado inmunitario y estadio de gestación de la madre, el estado inmunitario del rebaño, el genotipo o biotipo del agente etiológico y su virulencia” (Dirksen, Grunder, & Stober, 2005, p.521).

La eficiencia epidemiológica del virus se basa en su capacidad de producir infecciones persistentes en animales congénitamente expuestos al virus. Estos animales eliminan el virus en sus secreciones durante toda su vida, de modo que constituyen un excelente vehículo para la diseminación de la infección (Morán, Morán , Di Santo, & Gogorza, 2006).

2.2 Distribución

La VDVB se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial, con una prevalencia del 73-100% de los rebaños y del 50-90% de los animales. Produce una amplia variedad de presentaciones clínicas que van desde formas subclínicas a procesos hemorrágicos que pueden llegar a causar la muerte de los animales (Pedrera et al.,2007).

El VDVB se ha predeterminado como uno de los patógenos infectocontagiosos más relevantes que hay en la especialidad, puesto que tiene alta morbilidad y baja tasa de decesos, con repartición

en torno al mundo; no obstante, el grado de prevalencia es distinto entre zonas y territorios, por lo cual la seroprevalencia en las naciones en donde se ha estudiado cambia entre 50 y 90 %. (Báez et al.,2018)

2.3 Etiología

Es una enfermedad viral producida por un *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae*. La única especie afectada son los bovinos de cualquier edad, aunque su incidencia es mayor en los jóvenes, en las vacas al final de la gestación y en animales entre los ocho meses y los dos años de edad (Isique, 2014, p.75).

La familia *Flaviviridae* comprende tres géneros, cuyos miembros tienen genomas y propiedades fisicoquímicas similares, pero son biológicamente muy diferentes. El género *Flavivirus* contiene más de 70 virus, 10 de los cuales son de importancia veterinaria, incluyendo los virus de Louping ill (Encefalomiелitis ovina), Encefalitis Japonesa, Wesselsbron y del Oeste del Nilo. Cerca de 30 miembros de este género tienen potencial zoonótico y pueden ser patógenos para el hombre, transmitidos por artrópodos. Estas enfermedades varían en su signología, desde fiebre y erupciones cutáneas, hasta fiebres hemorrágicas, encefalitis y hepatitis que comprometen la vida. El género *Pestivirus* contiene tres virus, que son de importancia veterinaria: el virus de la diarrea viral bovina, el virus de la Enfermedad de la Frontera de las ovejas y el virus de la Peste Porcina clásica. El género *Hepacivirus* contiene solamente patógenos humanos, los virus de la hepatitis C y G. (Murphy, Gibbs, Horzinek, & Studdert, 1999)

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 & Entrican, 1995). También está constituido por

una cápside icosaédrica, rodeado de una envoltura lipoproteica proveniente de la membrana celular (Mettenleiter & Sobrino, 2008)

2.4 Morfología

El VDVB es una partícula de 40 – 60 nm de diámetro, constituida por un capsido icosaédrico de naturaleza proteica y una envoltura lipídica externa (Kobrak y Weber, 1997). Con una envoltura lipídica muy apretada y adherente cubierta por polímeros que rodea a la nucleocápside. Esta última es de naturaleza proteica y de simetría icosaédrica con un diámetro de 25 a 37 nm (Vadillo, Píriz, & Mateos, 2002).

2.5 Genoma

La información genética del virus de VDVB está codificada en una cadena simple de ARN de polaridad positiva, no segmentado, de aproximadamente 12,5 kilobases de longitud. Ha sido determinada la secuencia completa del virus, en el extremo 5' está ausente el capuchón o cap y el extremo 3' no está poliadenilado (Brock, Deng, & Riblet, 1992). El II, de aproximadamente 4000 codones, está flanqueado por una región no codificante (UTR) en el extremo 5' de 372 a 385 nucleótidos y una UTR en el extremo 3' de 185 a 273 nucleótidos (Collett, Anderson, & Retzel, 1988). El ARN genómico sirve como ARN mensajero. La traducción del genoma viral genera una larga poliproteína, que es procesada durante y después de la traducción por proteasas celulares y virales, para dar lugar a las proteínas estructurales y no estructurales del virus (Meyers & Thiel, 1996).

2.6 Proteínas estructurales

En cuanto al virus de la Diarrea Viral Bovina sabemos que tiene estructuras genómicas que se asemejan a otros virus, los cuales tienen o comparten regiones no traducidas las cuales son 5' y 3',

la región 5' comparten los genes denominados estructurales, en cambio la región 3 pertenecen a los genes denominados no estructurales (Chernick & Van der Meer, 2017).

En este caso las proteínas virales son el NPro que es una proteasa viral, las proteínas de la envoltura del virus que son Erns, E1 y la E2 y por consiguiente también se incluye la capsida propiamente dicha; tomando en cuenta que la Proteína Erns llega a ser secretada por la célula netamente infectada y la E1 y E2 pertenecen al grupo de las glicoproteínas que son las encargadas de permitir el ingreso de las células que pertenecen al huésped. (Chernick & Van der Meer, 2017)

-*Proteína C*, localizada en la nucleocápside (Vadillo, 2002). Es una pequeña proteína de 14 kDa, muy conservada entre los miembros de la familia *Flaviviridae*, rica en aminoácidos básicos, con un 21% de lys. Está localizada cerca del extremo amino de la poliproteína, entre la proteasa Npro y la glicoproteína Erns. Es liberada de la poliproteína por proteasa del propio virus y de la célula hospedadora. En el extremo amino terminal, el corte es realizado por la autoproteasa Npro y el extremo carboxilo terminal es liberado por una proteasa celular que corta el sitio ubicado entre la Ala 267 y Asp 268. (Heimann, Roman, Martoglio, Jurgen, & Rumenapf, 2006)

-*Proteína Erns*, antiguamente conocida como E0 ó gp 44/48, por su peso de 44 a 48 kDa. Es un homodímero, cuyas subunidades están unidas por puentes di-sulfuro (Langedijk, y otros, 2002). Está fuertemente glicosilada, es liberada de la poliproteína por peptidasas señal de la célula hospedadora, al igual que las proteínas E1, E2 Y p7 (Lackner et al.,2004).

-*Proteína E1*, es una glicoproteína integral de la membrana que contiene 2 a 3 lugares de glicosilación N-ligados, y forma un heterodímero unido por puentes disulfuro (Weiland et al.,1990).

-*Proteína E2 (gp53)*, es una glicoproteína integral de la membrana de la envoltura (Donis & Dubovi, 1987). Contiene 4 a 6 puntos de glicosilación N- ligados y forma un homodímero unido por puentes disulfuro, y también un heterodímero con E1 (Yu, Gould, Morrissy, & Westbury, 1994) Contiene una región hipervariable y altamente mutable, es el sitio donde ocurren las mutaciones y cambios antigénicos que dan lugar a la aparición de cepas variantes del VDVB (Xue & Minocha, 1990).

2.7 Proteínas no estructurales

-*Proteína p7*, es un pequeño polipéptido hidrofóbico, de 6 a 7 kDa, que esta codificada por una secuencia del genoma ubicada entre las secuencias de E2 y NS2-3. El clivaje entre E2 y p7 es realizada por una peptidasa señal de la célula hospedadora. Este clivaje a veces se produce en forma incompleta, resultando en proteínas E2-p7, E2 y p7. La proteína p7 es requerida para la producción de virus infecciosos, ya que se realizaron estudios experimentales y cuando no se producen el clivaje entre E2 y p7 no se obtienen partículas virales infectantes, sin embargo se produce la replicación del ARN viral. (Harada, Tautz, & Jurgen, 2000)

-*Proteína NS2-3 (P 125)*, es la proteína constituida por NS2 Y NS3 unidad, y cuyo clivaje determina la citopatogenicidad del VDVB. Es esencial para la replicación del genoma viral, participa en el ensamblaje de las partículas virales y es requerida para la producción de partículas virales infecciosas. (Agapov et al.,2004)

-*Proteína NS2*, es una cisteína proteasa identificada recientemente, muy conservada, que es responsable, en determinados casos, del proceso de NS2-3. La incorporación de un único aminoácido dentro de NS2 en la cepa VDVB identificada como CP7, es determinante para inducir el procesamiento eficiente de la NS2-3, y la expresión continua de NS3, que se asocia con la cepa

citopática del virus; por lo tanto esta proteína es un factor clave en el control de la patogenicidad del VDVB. (Kummerer & Meyers, 2000)

-*Proteína NS3(p80)*, que surge a partir de NS2-3, es expresada en niveles altos en todas las cepas citopáticas de VDVB. Forma parte del complejo ARN polimerasa y tiene actividad proteasa, helicasa y NTPasa: posee actividad de serina-proteasa en el extremo amino terminal y actividad ARN-helicasa en el extremo carboxilo terminal. (Paton, 1995)

-*Proteína NS4A*, “es un cofactor de la actividad proteasa de NS3. Es similar en tamaño y composición a NS4B” (Xu et al.,1997).

-*Proteína NS5B*, una ARN polimerasa dependiente de ARN, que contiene la secuencia GDD (Gly-Asp-Asp), común de todas las polimerasas (Collet, Anderson, & Retzel, 1988). Investigaciones recientes demuestran que esta proteína también es necesaria para el ensamblaje y la liberación de las partículas virales de la célula hospedadora (Ansari et al.,2004).

-*Proteína p20/ Npro*, que, a diferencia de las otras proteínas no estructurales, es la única proteína codificada en la primera porción del marco de lectura, en el extremo 5' (Stark, Rumenapf, & Thiel, 1993). Es una autoproteasa responsable del corte entre su carboxilo terminal y la siguiente proteína, la proteína C. Este es un sitio conservado de la poliproteína, entre la Cys-168 y la Ser-169. (Wiskerchen, Belzer, & Collett, 1991)

2.8 Clasificación

“La clasificación del VDVB es difícil, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género *Pestivirus* (virus de la peste porcina clásica y virus de la enfermedad de la frontera del ovino” (Nettleton & Entrican, 1995).

Según su comportamiento *in vitro* se distinguen dos tipos de virus; uno forma parte de una cepa citopática y el otro a una cepa no citopática. A su vez, la caracterización genómica permitió establecer dos genotipos; VDVB de tipo I y VDVB de tipo II, que ocasionan cuadros clínicos distintos (Martínez, 2016).

2.9 Transmisión

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

“Se consideran dos modalidades de transmisión del contagio: la transmisión vertical y la horizontal” (Martínez, 2016, p.341).

Transmisión vertical. La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente (Monnig & Liess, 1995).

“Transmisión horizontal. El contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz–nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales” (Houe, 1995).

“La principal vía de transmisión es el contacto directo con un animal infectado, con sus secreciones (saliva, moco, orina, heces, semen, leche, calostro, etc.) o su sangre” (González, 2019, p.13).

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. (Mars, Brusckhe, & Van Oirschot, 1999)

2.10 Manifestaciones clínicas

Los síntomas clínicos pueden variar desde una enfermedad subclínica hasta una enfermedad fulminante llamada enfermedad de las mucosas, usualmente las infecciones agudas pueden producir una diarrea pasajera o neumonía. En forma de brotes que afectan a grupos de animales. Su signología puede estar presente o no y aparentar animales sanos, dentro de la sintomatología que se puede presentar en los trastornos reproductivos es la muerte embrionaria, defectos congénitos, animales persistentemente infectados, abortos, reducción en la densidad espermática, hipoplasia testicular, diarrea intermitente, inmunosupresión, disminución de la producción de leche, disminución en la ganancia de peso y pueden estar acompañados de 26 enfermedades respiratorias principalmente de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (Stahl & Alenio, 2012).

“El virus de la diarrea viral bovina es un patógeno que afecta la salud bovina; produce signos clínicos como bronconeumonía, diarrea, teratogenia y pérdidas reproductivas” (Buitrago, Jiménez, & Zambrano, 2018, p. 65).

“Las infecciones agudas por el VDVB son más frecuentes en animales de corta edad, y pueden ser subclínicas o causar fiebre, diarrea, signos respiratorios y, en ocasiones, una muerte súbita” (Baker, 1995).

El VDVB es responsable de causar 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).

La infección por VDVB en el ganado se resume en tres síndromes los cuales son; Diarrea viral bovina, la infección persistente y la enfermedad de las mucosas . A su vez la infección reproductiva esta directamente relacionada con la diseminación transplacentaria del virus dependiendo en que fase de la gestacion ocurrio la infeccion, lo cual puede provocar abortos, muerte embrionaria, defectos congénitos y en el nacimiento se presentan terneros débiles o terneros normaloes con anticuerpos neutralizantes precalostrales para VDVB. (Grooms, 2004)

Tiene varias formas de presentacion clinica, que afectan a los hospedaderos que van desde cuadros respiratorios, reproductivos y nerviosos.

La patología respiratoria podría ser una de las primordiales protestas de la infección generalizada por VDVB. Existe prueba epidemiológica y empírico de que VDVB está de manera directa asociado con el “complejo respiratorio bovino (CRB)”.La infección reproductiva o infección fetal está vinculada con la diseminación transplacentaria del virus dependiendo del instante de la infección a lo largo de la gestación, ocasionando muerte embrionaria, legrado, inmunotolerancia, deficiencias congénitos, origen de terneros débiles; aunque además tienen la posibilidad de nacer terneros típicos con anticuerpos neutralizantes precalostrales para VDVB (Vargas, Jaime, & Vera, 2009).

2.11 Diagnóstico

Se basa en los datos anamnesicos obtenidos del productor y de la observacion clinica. En un establecimiento afectado, se encuentran muchos animales sin manifestaciones clínicas, es decir, asintomaticos y algunos animales (alrededor 5%) con síntomas de distinta intensidad (Martínez, 2016, p.342).

Puede ser mediante detección de Ag del virus específica, y también mediante detección de Ac específicos, el cual determina el estado inmunitario de un animal y cualquier exposición previa al agente. Si sale positivo en un animal no vacunado indica una la exposición del agente frente al huésped. (Stahl & Alenio, 2012)

Aislamiento viral: esta técnica permite detectar virus infeccioso en muestras clínicas. Para realizar el aislamiento viral, se requiere mano de obra calificada para trabajar con células, equipamiento y disponibilidad de cultivos celulares. El procedimiento lleva como mínimo tres semanas de trabajo debido a la necesidad de realizar múltiples pasajes en líneas celulares susceptibles al VDVB. A través de estos pasajes celulares se logra aumentar la concentración del virus y el último paso implica el 15 revelado a través de la detección del antígeno viral en las células infectadas con anticuerpos policlonales o monoclonales marcados con fluorocromos (inmunofluorescencia) o bien detectar el genoma viral por RT-PCR (reacción de transcriptasa reversa seguido de reacción en cadena de la polimerasa). (Pecora & Pérez, 2017)

Detección de genoma viral: esta técnica detecta material genético del VDVB. El procedimiento abarca una a una extracción de ARN viral a partir de la muestra seguida por una reacción de retro transcripción, y finalmente, la PCR propiamente dicha. Por un lado. en el caso de la PCR convencional, el resultado se obtiene mediante la corrida de un gel de agarosa para visualizar una banda específica. Todo el proceso requiere aproximadamente 1-2 días de trabajo, dependiendo del

laboratorio de diagnóstico. Por un lado, en el caso de la PCR en tiempo real, el resultado se obtiene directamente a través del software asociado al equipo utilizado. Se puede trabajar con muestras de suero, sangre entera o leucocitos. (Pecora & Pérez, 2017)

Detección del antígeno viral: ELISA de antígeno. Estos análisis se basan en la detección de proteínas conservadas del virus (Erns o NS3/p80). Existen kits comerciales importados que utilizan muestras de suero, sangre entera o leucocitos y en los cuales se siembran en placas las muestras individuales de cada animal que se quiera evaluar. El procedimiento lleva 2 o 3 horas. (Pecora & Pérez, 2017)

2.12 ELISA

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utiliza como sus siglas lo indican en una enzima como marcador para mediar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Casi todas las pruebas de ELISA son ensayos en fase sólida en los cuales se adsorbe un antígeno o un anticuerpo sobre un soporte sólido. Algunos de los protocolos se basan en reacciones de enlace competitivo y otras en reacciones de enlace no competitivo, pero en todas las pruebas ELISA se requiere de un paso de separación para eliminar el conjugado enzimático libre antes de proceder a determinar la cantidad de conjugado enzimático enlazado. (Guzmán, 2004)

A través del uso de anticuerpos poli o monoclonales dirigidos contra proteínas específicas del VDVB, pueden detectarse antígenos virales en diversos tipos de muestras. La técnica de ELISA de captura de antígenos permite detectar antígenos en muestras de suero (Reinhardt, Ochoa, Tadich, Riedemann, & S, 2003) o tejidos que pueden ser tomados a través de biopsias, por ejemplo, piel de oreja, para detectar PI (Cornish et al., 2005). 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 PI (Saliki & Dubovi, 2004). Al igual que el aislamiento viral, el ELISA puede dar falsos

negativos en terneros PI que han ingerido suficiente cantidad de calostro (Zimmer, Van Maanen, De Goey, Brinkhof, & Wentink, 2004).

2.12.1 ELISA Directo

El ensayo ELISA directo corresponde a un tipo de formato en el cual, el antígeno presente es una muestra clínica de interés, es la molécula que se adhiere a la placa para reaccionar posteriormente con un anticuerpo específico dispensado en los pozos y que está conjugado directamente con una enzima reveladora. Este tipo de ensayos se usa generalmente para la valoración de un antígeno específico en una muestra, este tipo no es muy usado. (Cultek, 2006)

2.12.2 ELISA Indirecto

El ensayo ELISA indirecto corresponde a una configuración del inmunoensayo en el cual un antígeno estándar o comercial se adhiere a los pozos de la placa para la detección o “screening” de anticuerpos en muestras de suero. Estos ensayos se conocen convencionalmente como pruebas serológicas o en este caso ELISA serológico. El inmunocomplejo es posteriormente detectado por un anticuerpo secundario conjugado con la enzima catalizadora. En la interpretación del ensayo se debe tener en cuenta que, la concentración de anticuerpo específico presente en el suero se correlaciona directamente con la intensidad del color que resulta de la acción de la enzima sobre su sustrato. (Gan & Patel, 2013)

2.12.3 ELISA tipo Sándwich HADAS

El formato de ELISA Sándwich HADAS, es utilizado para identificar un antígeno específico en una muestra, usando anticuerpos específicos contra diferentes epítopes del mismo antígeno, lo que le confiere una muy alta especificidad a la prueba. En este caso a diferencia del anterior, el inmunocomplejo (sándwich) es reconocido por un anticuerpo secundario conjugado con una enzima catalizadora. (Gan & Patel, 2013)

2.12.4 ELISA Competitivo

En el formato de ELISA competitivo directo, el evento diferenciador es el proceso de competición entre el antígeno de una muestra y el mismo antígeno recombinante comercial o estándar que se encuentra inmovilizado en los pozos de la placa. En este ensayo un anticuerpo primario estándar o comercial (preferencialmente monoclonal específico) es incubado previamente con la muestra clínica a una concentración limitante. Dicha mezcla es adicionada a los pozos que contienen el antígeno estándar inmovilizado. De esta forma cuanto más antígeno presente en la muestra, habrá menor cantidad de anticuerpo primario disponible para unirse con el antígeno estándar inmovilizado en los pozos. La detección de los inmunocomplejos formados en este caso es directa, ya que el anticuerpo primario se encuentra conjugado con la enzima catalizadora. En este tipo de ensayo una muestra positiva origina la menor señal colorimétrica; en otras palabras, la ausencia de color indicará la presencia del antígeno de interés en la muestra. (Penalva, 2000)

2.13 Tratamiento

“No hay un tratamiento específico, pero pueden ayudar las terapias de sostén a base de astringentes digestivos y de soluciones parenterales de electrolitos. Se tratan son las enfermedades secundarias que se generan por la inmunosupresión” (Márquez, 2017).

2.14 Control y Prevención

“A partir de la década del 60, el control de la VDVB estaba focalizado en prevenir la ocurrencia clínica de la enfermedad mediante la vacunación” (Van Oirschot, Brusckhe, & Van Rijn, 1999).

Una complicación para el desarrollo de las vacunas contra el VDVB es la diversidad antigénica. La tendencia es identificar la mayor cantidad de variantes antigénica e incluirlos en la vacuna, las

evaluaciones realizadas a las vacunas existentes dieron resultados muy variados, tanto para la infección posnatal como para la infección prenatal (Van Oirschot, Brusckhe, & Van Rijn, 1999).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Físicos

Tabla 1. *Materiales Físicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Esferos	Unidad	2
Libreta de notas	Unidad	1
Marcadores	Unidad	2
Computadora	Horas	25
Carpetas	Unidad	2
Engrapadora	Unidad	1
Guantes de látex	Caja	1
Mascarillas	Caja	1
Gorros quirúrgicos	Unidad	3
Overol	Unidad	1
Centrifuga	Horas	
Nariguera	Unidad	1
Agujas Vacutainer	Caja	2
Porta agujas Vacutainer	Unidad	2
Agua destilada	Litros	1
Tubos Eppendorf	Paquete	2
Pipetas Desechables	Paquete	2
Lector Elisa	Horas	4

3.1.2 Biológicos

Tabla 2. *Materiales Biológicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Bovinos hembra	Unidad	184

3.1.3 Químicos

Tabla 3. *Materiales Químicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Kits para determinación de DVB	Kit	1

3.2 Diseño estadístico

En este trabajo por sus características no se realizarán análisis estadísticos paramétricos y pruebas de significancia, sino más bien un análisis objetivo de tipo numérico y proporcional. Para el cálculo de la prevalencia de Diarrea Viral Bovina, se aplicará la siguiente fórmula.

$$PA = \frac{\text{Total de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

3.3 Metodología estadística

La metodología aplicada en la presente investigación para el cálculo de los resultados y para la tabulación de los datos, fue el software EpiInfo 7.2.5.0, con la base de datos diseñado en el software Excel.

3.4 Población y Muestra

La fórmula es la siguiente;

$$n = \frac{z^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

Donde;

- p = 0.863 Prevalencia referencial
- q = 1-p Probabilidad de que no ocurra el evento
- Z = 1.96 Nivel de confianza al 95%
- d = 0.05 Error máximo permisible.
- n= Número mínimo de muestra.

Sustitución de la fórmula:

$$n = \frac{1.96^2 * (0.863) * (1 - 0.863)}{0.05^2}$$

De acuerdo con el cálculo establecido, se debe recopilar 181.6 muestras, aunque se dispuso 184 muestras.

3.4.1 Obtención de la muestra

Para la toma de muestra se utilizó equipo estéril que consiste en agujas de acero desechables de la marca vacutainer, tubos de recolección de sangre tapa roja, para la obtención de sangre de la

vena coxígea. Para obtener la muestra sanguínea se procedió a limpiar la zona de la vena coxígea con alcohol y papel desechable.

Posterior a eso se realizó la punción de la vena coxígea con aguja de acero desechable y se procedió a recoger en un tubo de muestra de tapa roja.

Se deja reposar la muestra sanguínea y posterior a ello se centrifugó de 25 a 30 minutos para obtener el suero y se mantuvo en congelación en tubos eppendorf para su procesamiento.

3.4.2 Procesamiento de la muestra

Teniendo el plasma a temperatura ambiente, se procedió a obtener mediante micropipetas dispensadoras de volúmenes, muestras de suero y se colocó 10 ul de muestra en los pocillos de las microplacas.

1. Siguiendo con el procesamiento se añadió:

- 90 ul de Diluyente 19 en cada pocillo.
- 10 ul del Control Positivo a los pocillos A1 y B1.
- 10 ul del Control Negativo a los pocillos C1 y D1.

2. Se cubrió la placa y se incubó $45 \text{ min} \pm 5 \text{ min}$.

3. Se vacían los pocillos, lavar 3 veces cada pocillo con agua destilada. Evitar el desecado de cada pocillo entre cada lavado.

4. Como siguiente paso añadir 100 ul del Conjugado listo para usar a cada pocillo.

5. Cubrir la placa e incubar $30 \text{ min} \pm 3 \text{ min}$.

6. Posterior a ello vaciar los pocillos, lavar 3 veces cada pocillo al menos con 300 ul de agua destilada. Evitar el desecado de cada pocillo entre cada lavado.

7. Añadir 100 ul de la Solución de Revelación a cada pocillo.
8. Cubrir la placa e incubar 15 min \pm 2 min en la obscuridad.
9. Distribuir 100 ul de Solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el paso 7 para la reacción.
10. Leer la microplaca a 450 nm.

3.5 Operalización de variables

3.5.1 Variable independiente

Tabla 4. *Variable Independiente: Suero de origen Bovino*

Concepto	Categorías	Indicadores	Variables
-Unidad experimental que facilitará los indicadores	-Físico	- Número de hembras	- Numérico
	-Biológico	- Cantidad de sangre	- ml
		- Cantidad de suero	- MI
		- Positivo	- Numérico
		- Negativo	- Numérico

3.5.2 Variable dependiente

Tabla 5. *Variable dependiente: ELISA para VDVB*

Concepto	Categorías	Indicadores	Variables
- Método analítico que depende de la reacción Ag-Ac	-Biológico	-Cantidad de uniones Ag-Ac	- Numérico

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Prevalencia total

Tabla 6. *Prevalencia total positiva de VDVB*

PREVALENCIA TOTAL	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
NEGATIVO	124	67,39%	60,11%	74,11%
POSITIVO	58	31,52%	24,88%	38,77%
DUDOSO	2	1,09%	0,13%	3,87%
TOTAL	184	100%		

Como nos indica la tabla 6, de las 184 muestras obtenidas para la determinación de Diarrea Viral Bovina en la comunidad de San Pedro en la provincia de Cañar, mediante el análisis de las muestras por la técnica de ELISA Competitivo, se obtuvo, 31,52% (58/184) positivos, 67,39% (124/184) negativos y 1,09% (2/184) dudosos a VDVB. De acuerdo con la investigación de Gálvis, Bautista, & Vásquez (2016), realizada en la región del Cesar, en Colombia se encontró una prevalencia de 55% para VDVB, el cual resulta superior al resultado que se obtuvo.

En el estudio epidemiológico de Sobalvarro (2003) realizado en los departamentos de Atlántida, Cortés, Yoro, Colón y El Paraíso en Honduras, se encontró una prevalencia de 17% para VDVB, la cual resulta menor a la prevalencia que se obtuvo, lo cual puede ser por el manejo que se realizan en dichas producciones ganaderas.

En el trabajo epidemiológico de Román & Chávez (2016), se encontró una prevalencia de 8,24% para VDVB, en las ganaderías del cantón Loja, el cual resulta menor al resultado que se obtuvo en esta presente investigación.

4.2 Prevalencia según la raza

Tabla 7. *Prevalencia total positivo según la raza*

RAZA	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
Brown Swiss	1	1,72%	0,04%	9,24%
Holstein Mixta	45	77,59%	64,73%	87,49%
Jersey	11	18,97%	9,87%	31,41%
Normando	1	1,72%	0,04%	9,24%
Total	58	100,00%		

Tabla 8. *Prevalencia total dudoso según la raza*

RAZA	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
Brown Swiss	0	0,00%	0,00%	84,19%
Holstein Mixta	2	100,00%	15,81%	100,00%
Jersey	0	0,00%	0,00%	84,19%
Normando	0	0,00%	0,00%	84,19%
Total	2	100,00%		

Del total de muestras que se obtuvieron para el procesamiento y detección de VDVB, se encuentran 4 razas lecheras entre las que se encuentra, Holstein Mixta, Jersey, Brown Swiss y Normando, de las cuales de acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 7 se puede observar

que se encuentra una mayor prevalencia de VDVB en vacas de raza Holstein Mixtas con 77,59% (45/58), seguido de la raza Jersey con una prevalencia de 18,97% (11/58), posteriormente la raza Brown Swiss y la raza Normando ambas con una prevalencia de 1,72% que corresponde a (1/58) cada una. Teniendo en cuenta que la mayoría de los animales muestreados fueron de raza Holstein mixta se puede explicar su mayor prevalencia, sin embargo, el VDVB afecta a animales ungulados de cualquier raza. Mientras que en la tabla 8 se puede observar que existen 2 casos dudosos de VDVB que corresponden a la raza Holstein Mixta 100,00% (2/2). De acuerdo con González Carbajal (2016), en su trabajo de investigación la raza Jersey presentó el porcentaje más alto de positividad con un 66,67%, lo cual se puede deber a que en estas producciones se encontró un número más elevado de animales de dicha raza, el tipo Holstein Mestizo con un porcentaje de 34,69%, seguido tenemos el Brown Swiss con un 25%, en cuanto a las criollas con un 23,75% y la Holstein un 22,22%.

4.3 Prevalencia según el sexo

Tabla 9. *Prevalencia total positivo según el sexo (Positivo)*

SEXO	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
HEMBRA	57	98,28%	90,76%	99,96%
MACHO	1	1,72%	0,04%	9,24%
TOTAL	58	100,00%		

Tabla 10. *Prevalencia total dudoso según el sexo*

SEXO	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
HEMBRA	2	100,00%	15,81%	100,00%
MACHO	0	0,00%	0,00%	84,19%
TOTAL	2	100,00%		

De acuerdo con los resultados de la tabla 9 se encuentra una mayor prevalencia de VDVB en hembras con un total de 98,28 % (57/58), mientras que en machos solo existe el 1,72% (1/58), lo cual se debe a que en este caso el mayor número de animales muestreados fueron hembras, y por tal razón se obtuvo una prevalencia mayor a comparación de los machos.

Se puede justificar una alta prevalencia en hembras ya que el mayor número de animales muestreados fueron de este sexo. Como se observa en la tabla 10 existen 2 casos dudosos de VDVB en el grupo de hembras dando una prevalencia de 100,00% (2/2). Según Jara Chamba (2009), en su trabajo de investigación para la presencia de VDVB en base al género, se pone de manifiesto que los machos tienen una mayor presencia (10,90%) frente a las hembras (5,18%), pese que de igual manera la mayor cantidad de muestras de suero fueron de hembras, lo que convierte a los machos en portadores asintomáticos de la enfermedad.

De acuerdo con el trabajo de Salas, Peña, Domínguez, Herrera, & Vazquez (2009), en el caso de hembras se encontró una prevalencia de 60,1% para VDVB, mientras que para machos se encontró una prevalencia de 71,6% para VDVB, a pesar de que el macho tiene la mayor prevalencia, este no es relevante ya que el tamaño de muestra fue muy pequeño en comparación con las hembras.

4.4 Prevalencia por edad

Tabla 11. *Prevalencia total positivo por edad*

EDAD	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
TERNERO 0-6 MESES	0	0,00%	0,00%	6,16%
TORETE 7-12 MESES	1	1,72%	0,04%	9,24%
TORO 1-5 AÑOS	0	0,00%	0,00%	6,16%
VACAS MAYORES 25 MESES	49	84,48%	72,58%	92,65%
VACONA 3-24 MESES	8	13,49%	6,15%	2,38%
TOTAL	58	100,00%		

Tabla 12. *Prevalencia total dudoso por edad*

EDAD	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
TERNERO 0-6 MESES	0	0,00%	0,00%	84,19%
TORETE 7-12 MESES	0	0,00%	0,00%	84,19%
TORO 1-5 AÑOS	0	0,00%	0,00%	84,19%
VACAS MAYORES 25 MESES	1	50,00%	1,26%	98,74%
VACONA 3-24 MESES	1	50,00%	1,26%	98,74%
TOTAL	2	100,00%		

Para este punto se agrupó a los animales en 5 grupos para su mejor apreciación, de acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 11 se puede verificar que existe mayor prevalencia en vacas mayores de 25 meses con un total de 84,48 % (49/58), seguido de vaconas entre 3 a 24 meses

13,49 % (8/58), se encontró 1 caso positivo en torete de 7 a 12 meses de edad, mientras que en terneros de 0 a 6 meses y toro de 1 a 5 años no se encontró ningún caso positivo de VDVB. De acuerdo con Moreno Peña (2019), en su trabajo de investigación los animales que tienen un porcentaje mayor de positivos y sospechosos son los que están en los rangos de edad de 1 a 4 años debido a su mayor porcentaje 5,52%.

4.5 Prevalencia por abortos

Tabla 13. *Prevalencia total positivos por abortos*

ABORTOS	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
NO	44	75,86%	62,83%	86,13%
SI	14	24,14%	13,87%	37,17%
TOTAL	58	100,00%		

Tabla 14. *Prevalencia total dudoso por abortos*

ABORTOS	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
NO	1	50,00%	1,26%	98,74%
SI	1	50,00%	1,26%	98,74%
TOTAL	2	100,00%		

De los resultados obtenidos en la tabla 13, se puede comprobar que de los 58 animales que resultaron positivos solo 14 de ellos presentaron abortos lo que corresponde a 24,14%, mientras que 44 no presentaron correspondiente a 75,86%, con estos resultados se puede pensar que los animales que presentaron abortos se ven afectados por VDVB. Lo cual nos revela que los animales

positivos a VDVB y presentaron abortos pueden tener presente otra enfermedad que les afecta reproductivamente.

En la tabla 14 se presentan 2 casos dudosos de VDVB, correspondientes a animales que si presentaron abortos 50,00% (1/2), y animales que no presentaron abortos 50,00% (1/2).

4.6 Prevalencia por número de partos

Tabla 15. *Prevalencia total positiva por número de partos*

NÚMERO DE PARTOS	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
0	8	13,79%	6,15%	25,38%
1	3	5,17%	1,08%	14,38%
2	11	18,97%	9,87%	31,41%
3	10	17,24%	8,59%	29,43%
4	17	29,31%	18,09%	42,73%
5	8	13,79%	6,15%	25,38%
6	1	1,72%	0,04%	9,24%
TOTAL	58	100%		

Tabla 16. *Prevalencia total dudoso por número de parto*

NÚMERO DE PARTOS	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
0	0	0,00%	0,00%	84,19%
1	1	50,00%	1,26%	98,74%
2	1	50,00%	1,26%	98,74%
3	0	0,00%	0,00%	84,19%
4	0	0,00%	0,00%	84,19%
5	0	0,00%	0,00%	84,19%
6	0	0,00%	0,00%	84,19%
TOTAL	2	100,00%		

Se tomó en cuenta animales que no han tenido ningún parto como animales hasta 6 partos, con estos resultados podemos tener una idea de cuantos animales nacen siendo portadores de la enfermedad. Como se indica en la tabla 15 se obtiene mayor prevalencia en animales que han tenido 4 partos con un total de 29,31% (17/58), siguiendo a este valor esta los animales que han tenido 2 partos hasta el momento con una prevalencia de 18,97% (11/58), los animales que han tenido 3 partos presentan una prevalencia de 17,24% (10/58). Con esto se puede apreciar que existe un alto número de animales PI, los cuales pueden ser asintomáticos a la enfermedad y por tal razón seguir transmitiendo la enfermedad a más animales y diferentes hatos ganaderos.

Los animales que no han tenido ningún parto presentan una prevalencia de 13,79% (8/58), lo cual nos indica que pueden llegar a tener problemas de reproducción. Como se observa en la tabla 16 existen 2 casos dudosos de VDVB, en animales que presentan 1 parto con una prevalencia de 50,00% (1/2), y en animales que presentan 2 partos 50,00% (1/2).

En la tabla 16 se observan 2 casos dudosos de animales que han presentado 2 partos y 2 parto con una prevalencia del 50,00% respectivamente dando una frecuencia de (1/2) para cada uno.

4.7 Prevalencia por procedencia

Tabla 17. *Prevalencia total positivo por procedencia*

PROCEDENCIA	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
SAN PEDRO ALTO	15	25,86%	15,26%	39,04%
SAN PEDRO BAJO	30	51,72%	38,22%	65,05%
VENDE LECHE	13	22,41%	12,51%	35,27%
TOTAL	58	100,00%		

Tabla 18. *Prevalencia total dudoso por procedencia*

PROCEDENCIA	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
SAN PEDRO ALTO	0	0,00%	0,00%	84,19%
SAN PEDRO BAJO	0	0,00%	0,00%	84,19%
VENDE LECHE	2	100,00%	15,81%	100,00%
TOTAL	2	100,00%		

De acuerdo con la tabla 17, la localidad que presenta una mayor prevalencia es San Pedro Bajo con un total de 51,72% (30/58), siguiendo se encuentra San Pedro Alto con una prevalencia de positivos de 25,86% (18/58) y por último esta la localidad de Vende Leche con un total de 22,41%

(13/58). Así mismo como se observa en la tabla 18 la localidad de Vende Leche presenta 2 casos dudosos presentando una prevalencia de 100,00% (2/2).

4.8 Prevalencia por tipo de reproducción

Tabla 19. *Prevalencia total positivo por tipo de reproducción*

TIPO DE REPRODUCCIÓN	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
INSEMINACIÓN	7	12,07%	4,99%	23,30%
MIXTA	14	24,14%	13,87%	37,17%
MONTA NATURAL	37	63,79%	50,12%	76,01%
TOTAL	58	100%		

Tabla 20. *Prevalencia total dudoso por tipo de reproducción*

TIPO DE REPRODUCCIÓN	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
INSEMINACIÓN	0	0,00%	0,00%	84,19%
MIXTA	0	0,00%	0,000%	84,19%
MONTA NATURAL	2	100,00%	15,81%	100,00%
TOTAL	2	100,00%		

Para este punto se clasificó en 3 grupos entre los cuales están por monta natural, por inseminación y por reproducción mixta. En la tabla 19 podemos observar que los animales que tienen una reproducción de tipo monta natural presentan una prevalencia de 63,79% (37/58),

siguiendo la reproducción de tipo mixta con 24,14% (14/58) y por último la reproducción de tipo inseminación 12,07% (7/58).

En la tabla 20 se puede observar que existen 2 casos dudosos de VDBV que corresponden a monta natural presentando una prevalencia de 100,00% (2/2).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

-El total de la prevalencia positiva de Diarrea Viral Bovina en la localidad de San Pedro es de 31,52% (58/184), y un valor negativo de 67,39% (124/184).

-En la localidad de San Pedro Bajo existe un mayor número de prevalencia de VDVB, lo cual nos puede indicar que los ganaderos de esa zona tienen poco conocimiento sobre la enfermedad y por ello tienen un mayor contagio entre los animales.

-La falta de registros sanitarios en las explotaciones ganaderas dificulta tener un buen control sobre las enfermedades que afectan a los animales y su sintomatología.

-Tener un registro de los partos de cada explotación ganadera nos permite identificar animales PI, y de esta manera evitar futuros contagios y propagación de la enfermedad y descartar a los animales portadores de la enfermedad.

-De acuerdo con los resultados de la prevalencia de VDVB con respecto a los números de partos, los animales ya presentan la enfermedad incluso sin ningún parto, lo cual se puede comprender que son animales PI.

5.2 Recomendaciones

-Llevar un registro de todos los animales que se encuentran en una explotación ganadera, de esta manera se puede evitar posibles contagios a futuros y descartar a animales que ya se encuentran infectados.

-Descartar a los animales que se encuentran infectados para evitar la propagación de la enfermedad en la explotación ganadera y en las explotaciones vecinas.

-Realizar más investigaciones para identificar a explotaciones ganaderas que presentan VDVB, y de esta manera lograr la erradicación y control de la enfermedad.

-Asegurarse que los animales destinados para la reproducción estén libres de VDVB, para de esta manera frenar la propagación de la enfermedad y que lo animales que nacerán a futuro se encuentren completamente sanos.

-Capacitar a los productores sobre la enfermedad, para que realicen un correcto manejo de los animales que se encuentran infectados dentro de la explotación.

6. Bibliografía

- Agapov, E., Murray, C., Frolov, I., Qu, L., Myers, T., & Rice, C. (2004). Se requiere NS2-3 sin escindir para la producción del virus de la diarrea viral bovina infecciosa. *Virology*, *78*(5), 2414-2425.
- Ansari, I., Chen, L., Liang, D., Gil, L., Zhong, W., & Donis, R. (2004). Participación de un locus NS5B del virus de la diarrea viral bovina en el ensamblaje del virión. *Virology*, *78*(18), 9612-9623.
- Báez, M., Lara, M., González, A., Ortega, O., Ozuna, ., P., & Aponte, G. (2018). Evaluación de niveles de anticuerpos generados contral el virus de la diarrea viral bovina (vDVB) a partir de la inmunización con diferentes marcas comerciales de vacunas. *Compendio Ciencias Vet*, *8*(2), 7-12.
- Baker, J. (1995). Las manifestaciones clínicas de la infección por diarrea viral bovina. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, *11*(3), 425-445.
- Bielefeldt, H. (1995). Las patologías de la infección por el virus de la diarrea viral bovina. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, *11*(3), 447-476.
- Brock, K., Deng, R., & Riblet, S. (1992). Nucleotide sequencing of 5' and 3' termini of bovine viral diarrhea virus by RNA ligation and PCR. *Virol Meth*, *38*, 39-46.
- Buitrago, E., Jiménez, C., & Zambrano, J. (2018). Identificación de factores asociados con la exposición al virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en terneras de hatos lecheros de la sabana de Bogotá. *Rev Med Vet*, *36*, 63-73.

- Cavirani, S., Cabassi, C., Donofrio, G., De Iaco, B., Taddei, S., & Flammini, C. (2001). Association between Chlamydia psittacci seropositivity and abortion in Italian dairy cows. *Preventive Veterinaria Medicine*, 50, 145-151.
- Chernick, A., & Van der Meer, F. (2017). Evolution of Bovine viral diarrhoea virus in Canada from 1997 to 2013. *Virology*, 509, 232-238.
- Collet, M., Anderson, D., & Retzel, E. (1988). Comparaciones del virus de la diarrea viral bovina pestivirus con miembros de los flaviviridae. *Gen Virol*, 69(10), 2637-2643.
- Collett, M., Anderson, D., & Retzel, E. (1988). Comparison of the pestivirus bovine viral diarrhoea virus with members of the Flaviviridae. *Gen Virol*, 69, 2637-2643.
- Cornish, T., Olphen, L. v., A, Cavender, J., Edwards, J., Jaeger, P., . . . Miller, D. (2005). Comparación de inmunohistoquímica ear notch, ELISA de captura de antígeno ear notch y aislamiento del virus de la capa leucocitaria para la detección de terneros persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina. *Vet Diag Invest*, 17(2), 110-7.
- Cultek. (2006). *Fundamentos y tipos de ELISAs*. Obtenido de <http://www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf>
- Deregt, D. (2005). *Bovine Viral Diarrhoea Virus Diagnosis, Management and Control* (Vol. 3). (S. Goyal , & J. Ridpath, Edits.) Ames, Iowa: Wiley-Blackwell .
- Díaz, M., Molina, C., & Molina, J. (2004). *Diarrea Viral Bovina...con su ganado termina* . Los Ríos: INIAP.

- Dirksen, G., Grunder, H., & Stober, M. (2005). *Medicina interna y cirugía del Bovino* (Vol. 1). Buenos Aires: Inter-Médica.
- Donis, R., & Dubovi, E. (1987). Characterization of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus-specific proteins in bovine cells. *Gen Virol*, 68(6), 1597-1605.
- Gálvis, T., Bautista, H., & Vásquez, M. (2016). Prevalencia de anticuerpos contra diarrea viral bovina, virus sincital bovino, rinotraqueitis infecciosa bovina, leucosis bovina, Neospora caninum, parainfluenza bovina (PI3) y paratuberculosis, en ganadería bovina de fincas ubicadas en Aguachica y R.O. *Rev. Fac. Cienc. Salud UDES*, 3(1), 36.
- Gan, S., & Patel, K. (2013). Inmunoensayo enzimático y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. *Invest Dermatol*, 133(9).
- González Carbajal, K. J. (2016). ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA EN GANADERÍAS DEL CANTÓN SARAGURO, PROVINCIA DE LOJA. (*Tesis de Grado*). Universidad Nacional de Loja, Loja.
- González, F. (2019). *Guías Prácticas de Producción Bovina: Diarrea Viral Bovina*. Zaragoza: EDRA.
- Grooms, D. (2004). Consecuencias reproductivas de la infección por el virus de la diarrea viral bovina. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20(1), 5-19.
- Grooms, D. (2012). Diagnostic Testing and Strategies for BVDV. *Michigan Dairy*, 1-5.
- Guzmán, E. (2004). Las pruebas de ELISA. *Medigraphic*, 140(3), 48-49.
- Harada, T., Tautz, N., & Jurgen, H. (2000). E2-p7 Region of the Bovine Viral Diarrhea Virus Polyprotein: Processing and Functional Studies. *Virology*, 74(20), 9498-9506.

- Heimann, M., Roman, G., Martoglio, B., Jurgen, H., & Rumenapf, T. (2006). La proteína central de los pestivirus se procesa en el extremo C mediante la péptido señal de péptido. *Virology*, 80(4), 1915-1921.
- Houe, H. (1995). Epidemiología del virus de la diarrea viral bovina. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 521-547.
- Houe, H. (1999). Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus BVDV infection. *Vet Microbiol*, 64, 89-107.
- Houe, H. (2003). Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals*(31), 137-143.
- Isique, J. (2014). *Sanidad de vacunos de leche*. Lima: MACRO.
- Jara Chamba, D. V. (2009). Estudio de seroprevalencia de Diarrea Vírica Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en la provincia de Loja (Ecuador) por medio de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y su distribución epidemiológica geoespacial. (*Tesis de Grado*). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Kummerer, B., & Meyers, G. (2000). Correlación entre mutaciones puntuales en NS2 y la viabilidad y citopatogenicidad de la cepa Oregon del virus de la diarrea viral bovina analizada con un clon de ADNc infeccioso. *Virology*, 74(1), 390-400.
- Lackner, T., Muller, A., Pankraz, A. P., Thiel, H., Gorbalenya, A., & Tautz, N. (2004). Temporal modulation of an autoprotease is crucial for replication and pathogenicity of an RNA virus. *Virology*, 78(19), 10765-10775.

- Langedijk, J., P. v. V., Schaaper, W., de Ru, A., Meloen, R., & Hulst, M. (2002). A Structural Model of Pestivirus Erns Based on Disulfide Bond Connectivity and Homology Modeling Reveals an Extremely Rare Vicinal Disulfide. *Virology*, 76(20), 10383-10392.
- Márquez, S. (2017). Programa de monitoreo de Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en leche de tanque. (*Tesis de Grado*). Corporación Universitaria Lasallista, Caldas-Antioquia.
- Mars, M., Bruschke, C., & Van Oirschot, J. (1999). La transmisión aérea de BHV1, BRSV y BVDV entre el ganado es posible en condiciones experimentales. *Vet Microbiol*, 66(3), 197-207.
- Martínez, J. (2016). *Patología y Clínica Bovina*. Buenos Aires : Inter-Médica.
- Mettenleiter, T., & Sobrino, F. (2008). Virus Animales: Biología Molecular. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22, 677-688.
- Meyers, G., & Thiel, H. (1996). Molecular characterization of pestivirus. *Ad. Virus Res*, 47, 53-117.
- Moennig, V. (2018). Control de la Diarrea Viral Bovina. *Patógenos*, 7(29).
- Moennig, V., & Becher, P. (2018). *Control of bovine viral diarrhea*. Obtenido de Pathogens: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5874755/>
- Monnig, V., & Liess, B. (1995). Patogenia de las infecciones intrauterinas por el virus de la diarrea viral bovina. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 11(3), 477-487.

- Morán, Morán , P., Di Santo, M., & Gogorza, L. (2006). Transmisión del virus de la diarrea viral Bovina. Factores de riesgo en el ingreso y diseminación en los rodeos. *Rev. Vet*, 17(1), 50-56.
- Moreno Peña, A. A. (2019). ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA, EN EL CANTÓN SANTA ROSA POR MEDIO DE ENZYME LINKED INMUNOSORBENT ASSAY (ELISA). (*Tesis de Grado*). Universidad Técnica de Machala, Machala.
- Murphy, F., Gibbs, E., Horzinek, M., & Studdert, M. (1999). *Veterinary Virology*. San Diego: Elsevier.
- Nettleton, P., & Entrican, G. (1995). Ruminant pestiviruses. *Br Vet J*, 151(6), 615-642.
- OIE. (2018). *Diarrea Viral Bovina* . Obtenido de OIE: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.07_BVD.pdf
- Paton, D. (1995). Pestivirus diversity. *J. Comp. Pathol*, 112(3), 215-236.
- Pecora, A., & Pérez, M. (2017). *Actualización en diarrea viral bovina, herramientas diagnósticas y estrategias de prevención* . Buena Aires: INTA.
- Pedreira, M., Risalde, M., Romero, J., Da Silva, A., Núñez, A., Ruiz, E., . . . Sánchez, P. (2007). DIARREA VÍRICA BOVINA: ETIOLOGÍA, FORMAS CLÍNICAS, DISTRIBUCIÓN DEL VIRUS Y PATOGENIA. *Anales*, 20(1), 135-158.
- Penalva, J. (2000). Inmunoensayos en medios orgánicos para el análisis en línea de plaguicidas. (*Tesis Doctoral*). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.

- Reinhardt, G., Ochoa, C., Tadich, N., Riedemann, & S. (2003). Utilización del Método de Elisa en la detección directa de antígeno de virus diarrea viral bovina en muestras de suero sanguíneo de bovinos. *Archivos de medicina veterinaria*, 35(1), 89-93.
- Román, F., & Chávez, R. (2016). Prevalencia de enfermedades que afectan la reproducción en ganado Bovino Lechero del cantón Loja. *CEDEMAZ*, 6(1), 83-90.
- Rondón, B. L. (2006). Diarrea viral bovina: patogénesis e inmunopatología. *MVZ Córdoba*, 11(1).
- Salas, D. R., Peña, T. M., Domínguez, M. A., Herrera, D. I., & Vazquez, Z. S. (2009). *Prevalencia de diarrea viral bovina en el estado de Veracruz, México*. Obtenido de UNIVERSIDAD DE VERACRUZANA: <https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Prevalencia-de-Diarrea-Viral-Bovina.pdf>
- Saliki, J., & Dubovi, E. (2004). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20(1), 69-83.
- Sobalvarro, M. (2003). Estudio epidemiológico de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina y Diarrea Viral Bovina en 10 explotaciones ganaderas de Honduras. (*Tesis de Grado*). Universidad Zamorano, Honduras.
- Stahl, K., & Alenjo, S. (2012). Control y erradicación de BVDV en Europa: una actualización. *Jpn J Vet Res*, 31(9).
- Stark, R., Rumenapf, T., & Thiel, H. (1993). Procesamiento de la poliproteína de pestivirus: sitio de escisión entre la autoproteasa y la proteína de la nucleocápside del virus de la peste porcina clásica. *Virology*, 67(12), 7088-7095.

- Vadillo, S., Píriz, S., & Mateos, E. (2002). *Manual de Microbiología Veterinaria*. España: Editorial Interamericana.
- Van Oirschot, J., Brusckhe, C., & Van Rijn, P. (1999). Vacunación de bovinos contra la diarrea viral bovina. *Veterinario Microbiol*, 64(2-3), 169-183.
- Vargas, D., Jaime, J., & Vera, V. (2009). Perspectivas para el control del Virus de la Diarrea Viral Bovina. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(4), 677-688.
- Vargas, D., Jaime, J., & Vera, V. (2009). Perspectivas para el control del Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(4), 677-688.
- Weiland, E., Stark, R., Hass, B., Rumenapf, T., Meyers, G., & Thiel, H. (1990). Pestivirus glycoprotein which induces neutralizing antibodies forms part of a disulfide-linked heterodimer. *Virology*, 64(8), 3563-3569.
- Wiskerchen, M., Belzer, S., & Collett, M. (1991). Expresión génica de pestivirus: el primer producto proteico del marco de lectura abierto grande del virus de la diarrea viral bovina, p20, posee actividad proteolítica. *Virology*, 65(8), 4508-4514.
- Xu, J., Méndez, E., Carón, P., Lin, C., Murcko, M., Collett, M., & Arroz, C. (1997). Serina proteinasa NS3 del virus de la diarrea viral bovina: sitios de escisión de poliproteínas, requisitos de cofactores y modelo molecular de una enzima esencial para la replicación de pestivirus. *J Virol*, 71(7), 5312-5322.
- Xue, W., & Minocha, H. (1990). Variaciones antigénicas en virus de la diarrea viral bovina detectadas por anticuerpos monoclonales. *Clinical Microbiology*, 28(2), 1688-1693.

Yu, M., Gould, A., Morrissy, C., & Westbury, H. (1994). High level expression of the envelope glycoprotein (gp53) of bovine viral diarrhoea virus (Singer) and its potential use as diagnostic reagent. *Res. virus*, 34(2), 178-186.

Zimmer, G., Van Maanen, C., De Goey, Y., Brinkhof, J., & Wentink, G. (2004). El efecto de los anticuerpos maternos en la detección del virus de la diarrea viral bovina en muestras de sangre periférica. *Veterinario Microbiol*, 100(3-4), 145-149.

7. ANEXOS

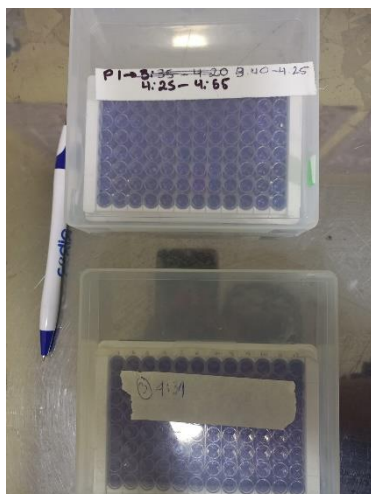
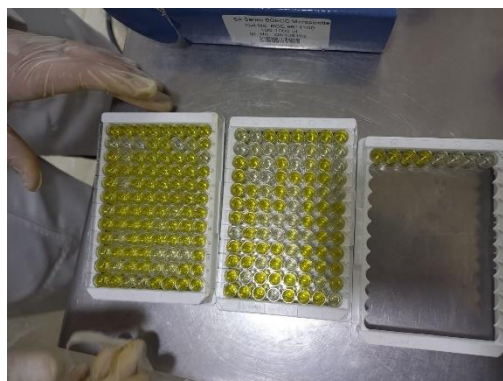
Ilustración 2. Toma de muestra sanguínea de vena coxígea*Ilustración 3. Procesamiento del Kit de ELISA Competitivo con el suero bovino*

Ilustración 4. Lectura de densidades ópticas

	1	2	3	4	5	6
A	001 1.485	009 1.077	017 0.243	025 1.215	033 1.238	041 1.215
B	002 1.412	010 0.414	018 1.101	027 1.229	034 1.301	042 1.173
C	003 1.365	011 0.147	019 1.194	026 1.187	035 1.351	043 1.325
D	004 1.275	012 1.420	020 1.184	028 1.364	036 0.878	044 1.256
E	005 1.098	013 1.131	021 1.064	029 1.096	037 1.362	045 1.262
F	006 1.102	014 0.149	022 1.159	030 1.242	038 1.347	046 1.219
G	007 1.348	015 0.167	023 0.279	031 1.083	039 0.202	047 1.225
H	008 1.424	016 0.287	024 1.283	032 1.322	040 1.332	048 1.514

7-12>> Send Result Print Exit

Microplate Reader

	1	2	3	4	5	6
A	001 1.502	009 0.250	017 0.152	025 0.354	033 0.179	041 1.403
B	002 1.546	010 0.298	018 1.607	027 1.478	034 0.490	042 1.592
C	003 0.880	011 0.453	019 0.359	026 1.395	035 1.242	043 1.119
D	004 1.374	012 0.198	020 0.199	028 1.286	036 0.365	044 0.214
E	005 1.518	013 0.198	021 1.489	029 1.360	037 1.399	045 1.169
F	006 1.276	014 0.201	022 0.153	030 0.132	038 0.309	046 1.149
G	007 0.201	015 0.261	023 1.284	031 0.127	039 1.055	047 1.403
H	008 0.359	016 0.223	024 1.370	032 1.374	040 1.452	048 1.214

7-12>> Send Result Print Exit