



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA  
(VDVB), EN EL CANTÓN SANTA ROSA MEDIANTE EL MÉTODO  
MOLECULAR PCR.

CARRILLO CORREA LESLY MICHELLE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

MACHALA  
2019



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA  
(VDVB), EN EL CANTÓN SANTA ROSA MEDIANTE EL  
MÉTODO MOLECULAR PCR.

CARRILLO CORREA LESLY MICHELLE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

MACHALA  
2019



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO TITULACIÓN  
TRABAJO EXPERIMENTAL

DETERMINACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB), EN EL  
CANTÓN SANTA ROSA MEDIANTE EL MÉTODO MOLECULAR PCR.

CARRILLO CORREA LESLY MICHELLE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

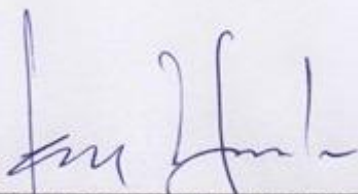
AGUILAR GALVEZ FERNANDO LENIN

MACHALA, 18 DE SEPTIEMBRE DE 2019

MACHALA  
2019

**Nota de aceptación:**

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado DETERMINACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB), EN EL CANTÓN SANTA ROSA MEDIANTE EL MÉTODO MOLECULAR PCR., hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



---

AGUILAR GALVEZ FERNANDO LENIN  
0704217348  
TUTOR - ESPECIALISTA 1



---

PELAEZ RODRIGUEZ HENRY OLAY  
0702789744  
ESPECIALISTA 2



---

VARGAS GONZALEZ OLIVERIO NAPOLEON  
1101446894  
ESPECIALISTA 3

Machala, 18 de septiembre de 2019

# Diagnostico del Virus de la Diarrea Viral Bovina por Técnica de PCR

## INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

INDICE DE SIMILITUD

3%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[www.vet.unne.edu.ar](http://www.vet.unne.edu.ar)

Fuente de Internet

1%

2

[scielo.sld.cu](http://scielo.sld.cu)

Fuente de Internet

1%

3

Nathalie Llancares A., Hermelinda Rivera G.,  
Mariluz Arainga R., Néstor Falcón P..

"SEROPREVALENCIA DE PESTIVIRUS DE RUMIANTES EN OVINOS REPRODUCTORES DE UNA EMPRESA DE LA SIERRA CENTRAL DEL PERÚ.", Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2012

Publicación

<1%

4

[www.oie.int](http://www.oie.int)

Fuente de Internet

<1%

5

Antonio Herrera R., Alberto Manchego S.,  
Mercy Ramírez V., Juan More B., Hermelinda Rivera G.. "SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL EN BOVINOS DE

<1%



## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, CARRILLO CORREA LESLY MICHELLE, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado DETERMINACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB), EN EL CANTÓN SANTA ROSA MEDIANTE EL MÉTODO MOLECULAR PCR., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 18 de septiembre de 2019



CARRILLO CORREA LESLY MICHELLE  
1150041356

## **DEDICATORIA**

En primer lugar dedico este trabajo a Dios por darme la fortaleza para culminar mi investigación, a mis abuelos quienes han sido un pilar fundamental en mi vida y mi motor para seguir adelante y culminar mis estudios, a mi madre por el apoyo incondicional durante toda mi etapa de estudio y de manera muy especial mis hermanos David y Fernando para que este esfuerzo sea un motor de inspiración y superación para que cumplan metas y sigan adelante, a mis tíos por darme ánimos para seguir con mi propósito de cumplir mi meta.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar agradezco a Dios por darme salud y bienestar para por culminar con mi trabajo de investigación.

A mis abuelos Mariana y Efrén quienes han sido mi motor de vida y mi impulso para seguir adelante enfocándome en cumplir mi meta, por su apoyo incondicional, por su paciencia y estar siempre pendientes de mí.

A mi madre Sandy, quien me supo apoyar en toda mi etapa de estudio tanto moral como económico, por estar ahí cuando la necesite, ya que sin ella no hubiese sido posible la culminación de mi trabajo.

A la Lic. Blanca Yanangomez y al Abg. Francisco Arrobo, por abrirme las puertas de su casa y darme la oportunidad de continuar mis estudios.

A mi mejor amiga Katty, por su apoyo en todo el transcurso de mi carrera, que a pesar de la distancia siempre estuvo ahí apoyándome cuando más la necesitaba. A mis compañeras y amigas Gaby, Sandy, Johanna y Alejandra, por estar ahí en la lucha contra todo, a Juan Carlos, por ayudarme y apoyarme siempre que lo necesitaba, por ser esa persona especial en mi vida y por estar ahí en la lucha hasta culminar mi carrera.

A mis maestros, que en el transcurso de mis estudios me impartieron sus conocimientos desinteresadamente, los cuales fueron de mucha ayuda para culminar mi carrera.

A mi tutor el Dr. Lenin Aguilar por su guía durante mi proceso de tesis y su paciencia para culminarla, al Dr. Oliverio Vargas por la paciencia que tuvo durante todo este proceso y por estar presto a ayudarnos en lo que necesitábamos y al Dr. Henry Peláez por formar parte de mi proceso de titulación y su ayuda en que se haga posible la culminación del mismo.



## RESUMEN

La Diarrea Viral Bovina es una de las enfermedades que más afectan al ganado a nivel mundial causando un gran impacto económico y por ende pérdidas de animales en hatos ganaderos, la enfermedad es desarrollada por un virus con cadena simple de RNA. El agente etiológico de esta enfermedad de gran importancia pertenece a la familia Flaviviridae del género Pestivirus, se lo puede confundir por el antígeno similar con las enfermedades de la peste porcina clásica y el virus de la frontera. La transmisión del virus puede darse por varias formas, ya sea por contacto directo con animales infectados, como también por medio de fómites o material contaminado, por medio de semen infectado o en el caso de transferencia de embriones que se encuentren infectados con el virus. El objetivo principal de esta investigación fue determinar la presencia del virus de la Diarrea Viral bovina en el Cantón Santa Rosa a través de la técnica molecular Reacción de cadena de Polimerasa (PCR). El presente trabajo de investigación se realizó en ganado bovino de haciendas del cantón Santa Rosa en la provincia de El Oro, dicho cantón se encuentra localizado geográficamente en las coordenadas: Latitud Sur: 3°27'08"S, Longitud Oeste: 79°57'42"O, Temperatura: 22°C – 31°C y Humedad Relativa: 90%. La metodología para realizar este trabajo fue muestrear 3 fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa de las cuales se obtuvo 100 muestras de sangre tomadas a nivel de coccigea y yugular en tubos tapa lila de 4 ml (EDTA), luego como siguiente paso fue la realización de pooles de 5 muestras de sangre de ganado bovino previamente etiquetado de cada finca, haciendo un total de 20 pooles para luego ser debidamente procesadas y empaquetadas con geles manteniendo la temperatura adecuada para el envío al laboratorio de Agrocalidad – Tumbaco, ubicado en Quito, en el sitio denominado La Granja para ser analizadas respectivamente y determinar la presencia o no de la enfermedad. Se tomó 25 muestras de la hacienda "Nievana" ubicada km 1 vía a Puerto Jelí, 45 muestras de la hacienda Las Lomas ubicada vía Troncal a la Costa a 2 km del Restaurant El Campestre y 30 muestras en la hacienda "Karfel" ubicada vía a Bella María cerca del Estero Medina, Las variables estudiadas fueron: animales enfermos (infectados y no infectados); edad (de 0 – 1,4 años; 1,5 años a 5,4 años y de 5,5 años a 12 años); sexo (Hembra y Macho); raza (Mestizas; Pardo Suizo, Holstein mestiza, Gyr, Brahman mestiza); estado de vacunación (vacunado y no vacunado). Los resultados emitidos por el laboratorio de Agrocalidad arrojaron un 0% de positivos a la presencia de virus de DVB, por lo tanto se concluye que no existe la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina en el cantón Santa Rosa, específicamente

en las tres fincas muestreadas, se recomienda continuar con la investigación a nivel de la Provincia de El Oro, teniendo en cuenta un número mayor de animales así como también inclinarse en trabajar más con animales enfermos o que presenten una patología que de indicios que presenten la enfermedad, ya que en este caso se trabajó con animales sin tener en cuenta su estado de salud, como también se recomienda validar la técnica molecular con controles positivos y así obtener resultados confiables.

**Palabras claves:** Bovino, diarrea, molecular, virus, PCR, EDTA.

## ABSTRACT

The Bovine Viral Diarrhea is one of the diseases that most affect livestock worldwide causing a large economic impact and therefore animal losses in livestock, the disease is developed by a virus with simple chain of RNA. The etiological agent of this disease of great importance belongs to the family Flaviviridae of the genus Pestivirus, it can be confused by the antigen similar to the diseases of classical swine fever and the border virus. Transmission of the virus can occur in various forms, either through direct contact with infected animals, or through fomites or contaminated material, through infected semen or in the case of transfer of embryos that are infected with the virus. The main objective of this research was to determine the presence of Bovine Viral Diarrhea virus in Canton Santa Rosa through the molecular technique Polymerase Chain Reaction (PCR). The present research work was carried out on cattle from farms in Santa Rosa canton in the province of El Oro, this canton is geographically located in the following coordinates: South Latitude: 3°27'08"S, West Longitude: 79°57'42"O, Temperature: 22°C - 31°C and Relative Humidity: 90%. The methodology to carry out this work was to sample 3 farms located in Cantón Santa Rosa from which 100 blood samples were taken at the level of coccigea and jugular in 4 ml lilac cap tubes (EDTA), then as the next step was to perform pools of 5 blood samples of cattle previously labeled from each farm, making a total of 20 pools and then be properly processed and packaged with gels maintaining the appropriate temperature for shipment to the laboratory Agrocalidad - Tumbaco, located in Quito, at the site called La Granja to be analyzed respectively and determine the presence or not of the disease. 25 samples were taken from "Nicvana" farm located km 1 via Puerto Jelí, 45 samples from Las Lomas farm located via Troncal to the Coast 2 km from El Campestre Restaurant and 30 samples from "Karfel" farm located via Bella María near Estero Medina, the variables studied were: sick animals (infected and non-infected); age (from 0 - 1.4 years; 1.5 years to 5.4 years and from 5.5 years to 12 years); sex (Female and Male); race (Mestizos; Swiss Brown, Holstein mestiza, Gyr, Brahman mestiza); vaccination status (vaccinated and non-vaccinated). The results issued by the laboratory of Agroquality showed a 0% positive to the presence of BVD virus, therefore it is concluded that there is no presence of Bovine Viral Diarrhea Virus in Santa Rosa canton, specifically in the three farms sampled, it is recommended to continue with

the investigation at the level of the Province of El Oro, taking into account a greater number of animals as well as inclination to work more with sick animals or animals that present a pathology that of signs that present the disease, since in this case it was worked with animals without taking into account their state of health, it is also recommended to validate the molecular technique with positive controls in order to obtain reliable results.

**Keywords:** Bovine, diarrhea, molecular, virus, PCR, EDTA.

## CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	16
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	18
2.1. Virus de la diarrea viral bovina.....	18
2.1.1. Aspectos generales.....	18
2.1.2. Taxonomía.....	19
2.1.3. Clasificación.....	19
2.1.4. Genoma.....	20
2.1.4.1. Proteínas virales.....	21
2.1.5. Vulnerabilidad al virus.....	21
2.1.6. Causas que ocasiona la DVB.....	22
2.1.7. Modos de transmisión.....	23
2.1.7.1. Transmisión vertical.....	23
2.1.7.2. Transmisión horizontal.....	23
2.1.8. Patogenia.....	24
2.2. Animales Persistentemente Infectados (PI).....	24
2.3. Resistencia y patogenicidad.....	25
2.4. Tipos de infección.....	26
2.4.1. Infección aguda.....	26
2.4.2. Infección congénita.....	26



2.5. Diagnóstico de DVB .....	27
2.5.1. Aislamiento viral.....	27
2.5.2. Inmunofluorescencia e inmunohistoquímica .....	27
2.5.3. Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).....	28
2.5.4. Pruebas de detección de ácidos nucleicos.....	28
2.5.5. Pruebas serológicas.....	28
2.5.6. PCR .....	28
2.6. Método molecular PCR.....	28
2.6.1. Parámetros para estandarizar una PCR.....	29
2.6.2. Pasos a seguir en PCR .....	30
2.6.2.1. Desnaturalización.....	30
2.6.2.2. Hibridación .....	30
2.6.2.3. Extensión .....	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	31
3.1. LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO .....	31
3.1.1. La localización de las fincas donde se realizó el muestreo.....	32
3.1.2. Localización del laboratorio de Agrocalidad – Tumbaco.....	33
3.2. Población y muestra .....	33
3.3. Materiales y equipos .....	34
3.3.1. Materiales para la toma de muestra .....	34
3.3.2. Materiales para trabajar en laboratorio .....	35

3.4. Variables.....	35
3.4.1. Medición de variables .....	35
3.5. Métodos.....	36
3.6. Análisis estadístico.....	36
3.7. Hipótesis.....	36
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	37
4.1. Determinación de la presencia del virus de la diarrea viral bovina en el cantón santa rosa.....	37
4.2. Determinación de acuerdo a las fincas muestreadas .....	38
4.3. Determinación del número de animales muestreados por edad en el cantón santa rosa.....	39
4.4. Determinación de acuerdo a las razas de animales muestreados .....	41
4.5. Determinación del estado de vacunación de los animales muestreados en el cantón santa rosa.....	42
4.6. Determinación de los animales muestreados de acuerdo el sexo en el cantón santa rosa.....	43
5. CONCLUSIONES.....	45
6. RECOMENDACIONES .....	46
7. BIBLIOGRAFÍA.....	47
8. ANEXOS.....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Esquema del virus de DVB con sus respectivas envolturas.....	21
<b>Figura 2.</b> Manifestaciones clínicas del Virus de la Diarrea Viral Bovina .....	27
<b>Figura 3.</b> Concentraciones recomendadas de reactivos para estandarizar una PCR.....	29
<b>Figura 4.</b> Pasos de un ciclo de la PCR.....	30
<b>Figura 5.</b> Mapa Satelital de Santa Rosa .....	31
<b>Figura 6.</b> Mapa satelital de la finca NICVANA .....	32
<b>Figura 7.</b> Mapa satelital de la finca Las Lomas .....	32
<b>Figura 8.</b> Mapa satelital de la finca KARFEL .....	32
<b>Figura 9.</b> Mapa satelital de laboratorio de Agrocalidad en Tumbaco.....	33

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1.</b> Resultados obtenidos mediante la técnica molecular PCR para DVB en animales muestreados en el Cantón Santa Rosa. ....	37
<b>Cuadro 2.</b> Número de animales muestreados por fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa. ....	38
<b>Cuadro 3.</b> Número de animales muestreados por edad en el Cantón Santa Rosa. ....	40
<b>Cuadro 4.</b> Número de animales muestreados de acuerdo a las razas encontradas en el Cantón Santa Rosa. ....	41
<b>Cuadro 5.</b> Estado de vacunación de los animales muestreados en el Cantón Santa Rosa. ....	42
<b>Cuadro 6.</b> Determinación de los animales muestreados de acuerdo al sexo en el Cantón Santa Rosa. ....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>Gráfico 1.</b> Resultados obtenidos mediante la técnica molecular PCR para DVB en animales muestreados en el Cantón Santa Rosa. ....	37
<b>Gráfico 2.</b> Número de animales muestreados por fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa. ....	39
<b>Gráfico 3.</b> Número de animales muestreados por edad en el Cantón Santa Rosa. ....	40
<b>Gráfico 4.</b> Número de animales muestreados de acuerdo a las razas encontradas en el Cantón Santa Rosa. ....	41
<b>Gráfico 5.</b> Estado de vacunación de los animales muestreados en el Cantón Santa Rosa. ....	42
<b>Gráfico 6.</b> Determinación de los animales muestreados de acuerdo al sexo en el Cantón Santa Rosa. ....	43



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1.</b> Materiales a utilizar.....	54
<b>Anexo 2.</b> Materiales a utilizar.....	54
<b>Anexo 3.</b> Materiales a utilizar.....	54
<b>Anexo 4.</b> Toma de muestras ganadería Nicvana .....	55
<b>Anexo 5.</b> Toma de muestras ganadería Nicvana .....	55
<b>Anexo 6.</b> Toma de muestras ganadería Nicvana .....	56
<b>Anexo 7.</b> Toma de muestras ganadería Las Lomas .....	56
<b>Anexo 8.</b> Toma de muestras ganadería Las Lomas .....	57
<b>Anexo 9.</b> Toma de muestras ganadería Las Lomas .....	57
<b>Anexo 10.</b> Toma de muestras ganadería Las Lomas .....	58
<b>Anexo 11.</b> Toma de muestras ganadería Las Lomas .....	58
<b>Anexo 12.</b> Toma de muestras ganadería Karfel .....	59
<b>Anexo 13.</b> Toma de muestras ganadería Karfel .....	59
<b>Anexo 14.</b> Realización de pools .....	60
<b>Anexo 15.</b> Realización de pools .....	60
<b>Anexo 16.</b> Realización de pools .....	61
<b>Anexo 17.</b> Pools para envío de laboratorio.....	61
<b>Anexo 18.</b> Orden de trabajo de Agrocalidad para envío de muestras. ....	62
<b>Anexo 19.</b> Orden de trabajo de Agrocalidad para envío de muestras. ....	63
<b>Anexo 20.</b> Orden de trabajo de Agrocalidad para envío de muestras. ....	64

<b>Anexo 21.</b> Resultados obtenidos del Laboratorio de Biología Molecular de Agrocalidad .....	65
<b>Anexo 22.</b> Registro de animales muestreados en las diferentes fincas del cantón santa Rosa .....	68

## 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad conocida como Diarrea Viral Bovina como su nombre lo indica es un virus que ataca la salud del ganado bovino, este es un virus RNA de cadena simple que pertenece al género Pestivirus afectando todos los rumiantes sin tener en cuenta edad, es una enfermedad a nivel mundial que afecta a muchos ganaderos con grandes pérdidas de sus animales como también en la parte económica, se requiere tener un control del hato ganadero realizando pruebas serológicas o moleculares para la detección a tiempo de esta enfermedad.

Se conoce esta enfermedad como una de las principales causas de pérdidas económicas en gatos ganaderos, como consecuencia de esta enfermedad se resalta perdidas 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(1).

El Virus de la Diarrea Viral Bovina pertenece al grupo de la familia Flaviviridae, este grupo tiene una amplitud de géneros, no solo el Pestivirus quien pertenece al virus DVB, también el género Flavivirus, Hepacivirus y Pegivirus(1). Este virus tiene aproximadamente un diámetro entre 40 – 60nm, el cual está envuelto por una proteína C, esta a su vez está envuelta por 3 glicoproteínas, las cuales se las conoce como Erns, E1 y E2, esta última glicoproteína es la más importante ya que se encuentra en mayor proporción, por lo tanto la más peligrosa(2).

La transmisión del virus puede darse por varias formas, ya sea por contacto directo con animales infectados, sino también por medio de fómites o material contaminado, por medio de semen infectado o en el caso de transferencia de embriones que se encuentren infectados con el virus(2).

Otros de los problemas que se puede destacar de esta enfermedad antes nombrada, es el desarrollo o existencia de los animales persistentemente infectados conocidos como animales PI, los cuales se producen por medio de una transmisión vertical, es decir,

cuando la madre está en el estadio de gestación entre 40 y 125 días se infecta del VDVB, este logra pasar por vía placentaria al feto y desarrollarse en él, estos animales PI llegan a ser perjudiciales en el hato ganadero, son muy silenciosos ya que no presentan síntomas de enfermedad y pueden infectar al resto del ganado sin que el ganadero se dé cuenta, se sabe que estos animales pueden llegar a permanecer con el virus de la DVB toda su vida sin presentar síntomas aparentes de la enfermedad y la única forma de diagnosticar la enfermedad en estos animales es realizando pruebas de laboratorio(3).

La técnica de Reacción de Cadena de Polimerasa conocida como PCR es una técnica de biología molecular cuyo objetivo es mediante procesos moleculares obtener un gran número de copias del fragmento de ADN de una muestra de interés y así lograr determinar la existencia o no del virus de la Diarrea Viral Bovina.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVOS GENERALES:**

Demostrar a través de técnicas moleculares la circulación del virus de la diarrea viral bovina en el Cantón Santa Rosa perteneciente a la Provincia de El Oro.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar la prevalencia de la diarrea viral bovina (DVB) en el Cantón Santa Rosa.
- Demostrar mediante la técnica de diagnóstico Molecular PCR la presencia del virus de la Diarrea Viral Bovina realizando muestreos en fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Virus de la diarrea viral bovina

#### 2.1.1. Aspectos generales

La Diarrea Viral Bovina se la conoce como una de las enfermedades enzooticas que más afectan y atacan al ganado bovino, es conocida por sus altos índices de mortalidad en hatos ganaderos que no se haya realizado un control sanitario adecuado por parte de los productores, tiene una gran distribución mundial, debido a la mortalidad de animales existe un incremento en pérdidas económicas muy elevadas(4)(5). Este virus de genero Pestivirus no solo afecta al ganado vacuno, también afecta a porcinos, ovinos, animales salvajes como venados, entre otros. (6)

El virus de la Diarrea Viral Bovina es una enfermedad de una amplia distribución mundial, la cual por su característica de presentar abortos en hatos ganaderos, se puede decir que más afecta a la hembra bovina, ya que afecta su etapa reproductiva, ocasionando pérdidas no solo reproductivas sino también económicas para el productor ganadero(7).

Si a una explotación lechera nos referimos, la diarrea viral bovina es una causa de perdidas muy grandes, ya que como esta enfermedad afecta con más frecuencia la etapa reproductiva, los índices de fertilidad disminuyen, haciendo que la productividad decaiga, los mismos problemas se observaran en una ganadería de carne(8).

Se conoce que una infección dada por el virus de la Diarrea Viral Bovina es de forma transitoria, la cual puede presentarse por una infección en la vaca durante su periodo de gestación, dando como resultado un ternero persistentemente infectado, estos animales se los conoce por ser inmunotolerantes al antígeno del virus de DVB, es muy importante conocer sobre lo que pueden ocasionar los PI en un rebaño, estos pueden llegar a descargar el virus en grandes cantidades y afectar al resto del ganado y ser un transmisor del virus, los PI son denominados como el principal responsable de difundir el virus(9).

El control principal está en erradicar los animales PI, quienes son los principales diseminadores de la enfermedad asegurando el bienestar del rebaño, evitando pérdidas económicas y de animales en la zona(10).



### 2.1.2. *Taxonomía*

La enfermedad es desarrollada por un virus con cadena de RNA, este virus proviene del género Pestivirus de la familia Flaviviridae, que se lo puede confundir por el antígeno similar con las enfermedades de la peste porcina clásica y el virus de la frontera(11).

### 2.1.3. *Clasificación*

De acuerdo a investigaciones, se ha demostrado la existencia de tres genotipos, de los cuales dos de ellos son los más comunes, el vDVB 1 y vDVB 2, también existe dos sub-genotipos BVDV 1a, el 1b y 2a, también dos biotipos, como es el caso del biotipo citopático y el no citopático. (12)(13).

En cuanto al genotipo vDVB 2 se sabe que posee cepas con una virulencia alta la cual presenta un cuadro de infección de forma aguda y severa, la cual se parece a la enfermedad de las mucosas que presentan los bovinos, la enfermedad presentada por esta cepa se la ha registrado a nivel mundial en varios países, como Gran Bretaña, Estados Unidos, Francia y Canadá, en Argentina se la registrado hace poco causando problemas graves en la salud de los animales, en especial en terneros mayores a los 6 meses(14).

En la clasificación de los biotipos de la VDVB, el biotipo no citopático NCP es considerado una cepa in-vitro la cual se caracteriza por no lisar la célula en el proceso de replicación, en cuanto al biotipo citopático CP en menor grupo se desarrolla a partir del biotipo NCP mediante un proceso molecular de una proteína N2/ 3 propia del virus, las dos cepas pueden infectar al ganado bovino proporcionándole un estado de gravedad dependiendo la vulnerabilidad del mismo; se debe tomar en cuenta que existen ciertos factores muy importantes que permiten una evolución de la enfermedad y la gravedad de la misma, por ejemplo gestación, las defensas del animal si están altas o bajas, entre otras(15).

La cepa no citopática CNP es la más peligrosa al momento de infectar al animal, es decir es la más patogénica, la cual reacciona en el animal atacándolo de forma directa causando un estado de salud clínico, según estudios en Estados Unidos se encontró animales con procesos hemorrágicos graves y cuadros de trombocitopenia(16).

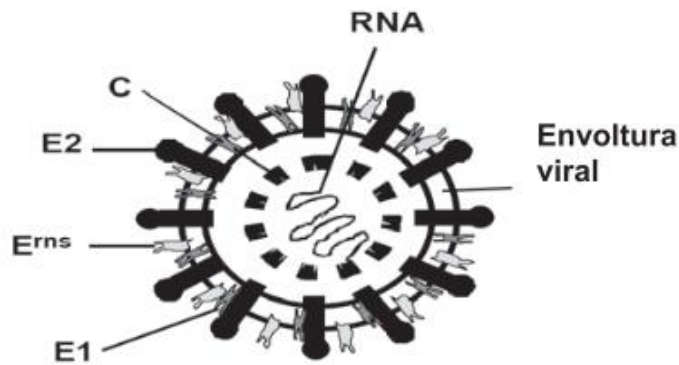
De acuerdo a lo detallado antes se sabe que entre los dos biotipos la cepa citopática puede llegar a matar células que son infectadas, en cambio la cepa no citopática no lo hace, de acuerdo a la infección persistente, la responsable es la cepa no citopática, la cepa citopática se desarrolla a partir de una cepa no citopática ya sea por secuencia de ARN o por una duplicación de la proteína NS3 propiamente(17).

#### 2.1.4. *Genoma*

De acuerdo a estudios revelados el genoma de este virus tiene una aproximación de 12.5kb de long., y una afinidad de lectura en 5'-UTR y 3'-UTR. Se conoce que las cepas de los genotipos del BVDV 2 se aíslan en el ganado que presenta una diarrea aguda, como también un cuadro de trombocitopenia en etapa mortal(6). Al tener un amplio codificador de lectura y único puede llegar a codificar entre 11 y 12 proteínas que son virales, las cuales están incluidas en una sola poliproteína la cual es viral, aquí se pueden observar las proteínas estructurales y 3 glicoproteínas, esta estructura de ARN es de característica monocatenaria y con una polaridad totalmente positiva(18,19).

El Pestivirus es un patógeno del virus de la diarrea Viral Bovina, al cual también se lo relaciona con otras enfermedades como la Peste porcina clásica y la enfermedad de la frontera(20).

Se conoce que la región 5'-UTR tiene más afinidad de virulencia, en la cepas genotipo 1 hay afinidad entre un 86 y 93%, en el genotipo 2 un 90% y en lo referente al virus tipo 1 y 2 una afinidad de 75%. Es muy importante para la traducción y estudios referentes a la epidemiología del virus de la Diarrea Viral Bovina(21).



**Figura 1.** Esquema del virus de DVB con sus respectivas envolturas(22).

2.1.4.1. *Proteínas virales.* 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(23).

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(23).

2.1.5. *Vulnerabilidad al virus.* La vulnerabilidad del ganado bovino ante esta enfermedad es muy alta si no existe un control sanitario y un registro específico de cada animal, por lo que los signos clínicos que estos animales presentan son los más comunes que se pueden observar a simple vista y que poco a poco van tomando cronicidad sino se actúa a tiempo, como por ejemplo los más comunes son: diarrea, problemas respiratorios, pérdidas a nivel reproductivas que son las más frecuentes en un proceso de VDVB(12).

2.1.6. *Causas que ocasiona la DVB.* Los principales causas que se pueden observar en el ganado con un cuadro de infección por virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) son los siguientes(24):

- ✓ Abortos
- ✓ Problemas de infertilidad
- ✓ Diarreas con sangre
- ✓ Inmunosupresión en los animales
- ✓ Enfermedad de las mucosas, entre otros.

La presencia de la diarrea viral bovina en un hato ganadero se lo puede identificar por las intensas diarreas que presentan los animales, depresión, incluso abortos espontáneos, se puede observar descargas nasales mucopurulentas y ulceraciones en la cavidad bucal, como también se observa la presencia de malformaciones congénitas debido a VDVB(5). La presencia de diarreas con sangre, Hipertermia elevada, epistaxis, mortalidad elevada, en exámenes realizados presencia de leucopenia y una trombocitopenia, son signos claros de una infección grave por el genotipo VDVB 2 presente en el ganado bovino(25)(26).

Cuando un animal está infectado del Virus de la Diarrea Viral Bovina este puede contraer otras enfermedades, ya que su sistema inmunológico se encuentra débil, ciertas enfermedades como la Salmonella, Herpesvirus bovino, coronavirus, entre otras, son las más frecuentes que se han observado en hatos ganaderos(25).

Los problemas a nivel reproductivo que se ocasionan debido a la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina son muy específicos, en el caso de vacas en etapa de gestación se pueden producir abortos, prolongación de partos, terneros con malformaciones, hasta infertilidad, como también desarrollar animales persistentemente infectados denominados PI(15). También se pueden presentar problemas como muerte embrionaria temprana, pantorrillas débiles, incluso defectos congénitos de los neonatos, se puede presentar el caso de nacimientos prematuros(27).

En lo que se refiere a problemas reproductivos como se a descrito anteriormente sin duda son uno de los principales efectos en contra de la ganadería, ya que como esta enfermedad

ataca al sistema inmune del animal, este puede ocasionar que el animal se vuelva susceptible a otras enfermedades que lo rodeen ya sea de origen viral o bacteriano(29).

*2.1.7. Modos de transmisión.* La transmisión del virus puede darse ya sea por inhalación, por ingestión o por contacto de material infectado, como por ejemplo agujas infectadas del virus, depende el sitio de ingreso del virus puede comenzar a presentar sintomatología, si es en el caso de una infección oral o nasal, la enfermedad comienza en ese sitio (orofaringe), la cual comienza a presentarse en el tejido linfoide y pasa al tracto digestivo, este es el resultado de la presencia de diarrea(28).

En lo referente al Virus de la Diarrea Viral Bovina se puede observar diferentes modos de transmisión de la enfermedad, como es la transmisión vertical y horizontal(13):

*2.1.7.1. Transmisión vertical.* Se refiere a una infección transplacentaria presentada en hembras gestantes, la cual demuestra que si existe una infección al feto antes del día 125 de gestación este se volverá persistentemente infectado (PI)(13).

*2.1.7.2. Transmisión horizontal.* Este en cambio se da de forma directa, estos al tener contacto directo pueden llegar infectarse, así exista una infección aguda puede transmitirse el virus. También se puede dar por transmisión aérea con animales PI cercanos(13).

Las hembras que son infectadas durante la etapa de gestación inicial con el virus de la Diarrea Viral Bovina biotipo no citopático, son las más propensas a obtener crías infectadas, lo que le llamamos animales persistentemente infectados (PI)(30).

Es muy importante tener en cuenta la existencia de estos animales PI, ya que ellos son los que afectan con mayor frecuencia en los rebaños, por eso se debe determinar los animales PI en las granjas y tomar medidas de seguridad rápidas antes que se propague el virus en todos los animales(30).

Otro modo de transmisión es mediante procesos como transferencia de embriones, exámenes rectales e incluso mediante inseminación artificial, también se puede transmitir cuando hay la presencia de fómites o material contaminado como agujas, pistolas, pinzas, entre otros. Estos materiales se consideran contaminados cuando se mezclan con sangre infectada del virus(31).

*2.1.8. Patogenia.* El virus de la Diarrea Viral Bovina tiene un periodo de incubación entre 3 – 10 días y un periodo de viremia corto entre 5 – 12 días, este virus tiene afinidad por las células Diana (monocito-macrófago, linfocitos, células dendríticas). También tienen afinidad a los órganos Diana, el periodo clínico del virus es corto, el vDVB tiene la facilidad de inmunosuprimir al animal lo que los hace más susceptibles a enfermarse por otros factores presentes en el medio(31).

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

Se denomina PI a los animales persistentemente infectados los cuales nacen a raíz de una vaca portadora del virus de Diarrea Viral bovina con cepa NCP, este proceso se presenta únicamente en el periodo de gestación entre los 80 y 125 días, en este corto tiempo el ternero se infecta y portará el virus y se lo denominará PI. De acuerdo a estudios la prevalencia de estos animales es muy baja ya que es difícil determinar si está infectado o no, ya que este no reacciona a anticuerpos en contra del virus de la Diarrea Viral Bovina, realizando pruebas de tejidos podemos encontrar el virus, como también en secreciones del animal y en muchos casos en las excreciones del mismo. Al tener un rebaño con estos animales PI, tenemos en riesgo la salud y bienestar del resto de animales ya que los PI son buenos propagadores del VDVB(15).

Los animales PI son conocidos por ser quienes representan una amenaza en el hato ganadero infectando y propagando el virus a todos los animales que se encuentren cerca, manteniendo un ciclo de infección constante sino se elimina a tiempo estos animales(32,33).

La importancia del diagnóstico de los animales conocidos como PI se basa en que estos son quienes transmiten el virus con frecuencia en el hato sin que sean detectados, estos

pertenecen en un porcentaje mínimo de 1 a 2% del hato ganadero, estos animales pasan desapercibidos porque no presentan un cuadro de síntomas visibles, los animales PI son capaces de descargar gran cantidad de virus sin presencia de anticuerpos ante pruebas de laboratorio, el cual evita determinar si están infectados o no, es recomendable realizar pruebas de antígeno y pruebas del genoma viral para ser más precisos en determinar la presencia del virus de la DVB(22,34).

En el caso de terneros PI pueden morir al año de nacidos, como también sobrevivir y criarse con normalidad, en este caso se pueden presentar síntomas como trombocitopenia, diarreas y úlceras, ocasionando una mortalidad elevada(35).

Para poder detectar la presencia del Virus de DVB en un rebaño y la existencia de posibles animales PI se recomienda realizar las pruebas de detección de anticuerpos preferiblemente en animales que no estén vacunados y con edades que oscilen entre los 8 y 12 meses, los resultados pueden llegar a tener un alto porcentaje de confiabilidad si está o no la enfermedad en ese rebaño; por lo que es recomendable eliminar los animales PI existentes, a pesar de que no son considerados importantes de propagar la infección a nivel de rebaño entre las primeras 2 semanas de infección igual se debe tomar medidas de bioseguridad(36).

### **2.3. Resistencia y patogenicidad**

El virus tiene una gran resistencia a temperaturas de  $-10^{\circ}\text{C}$ , pero es muy sensible a las altas temperaturas que estén sobre los  $56^{\circ}\text{C}$ , ahí es cuando pierde su virulencia, en cambio ya cuando su ambiente sobrepasa las altas temperaturas, es decir los  $75^{\circ}\text{C}$  el virus muere por completo. Puede llegar a sobrevivir en el ambiente fuera del hospedador, siempre y cuando este no alcance un pH4 o menos de este, es muy sensible a desinfectantes o compuestos químicos como el hipoclorito de sodio 1%, etanol, entre otros productos comerciales(31).

## 2.4. Tipos de infección

Existen dos tipos de infección: una infección aguda y una infección congénita, junto a estos también se ubican los animales persistentemente infectados(31).

*2.4.1. Infección aguda.* En esta etapa de infección se pueden presentar dos cuadros de infección, la forma subclínica, la cual se produce en un rango entre el 70 y 90% de casos en general, con una temperatura un poco elevada y la forma aguda, es la etapa donde se da ya el nombre de DVB debido a la presencia de síntomas aparentes como salivación descarga ocular y nasal en exceso, presencia de diarrea, anorexia, entre otros síntomas. En casos de una finca con producción de leche se puede observar a simple vista una disminución de leche(31).

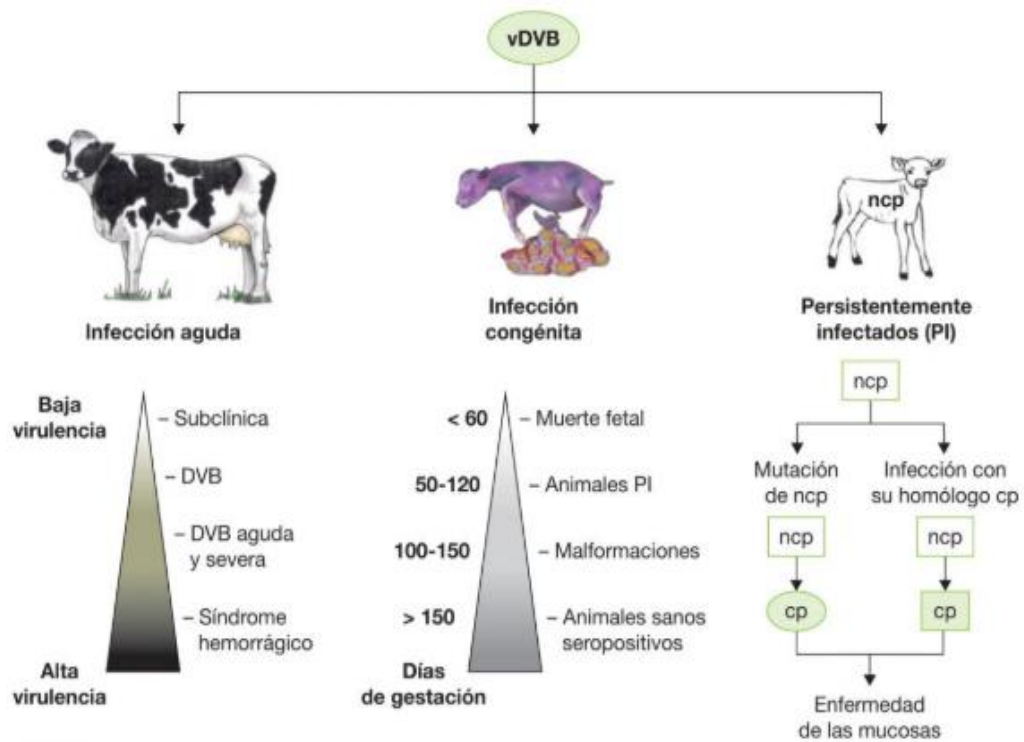
La forma aguda puede afectar a los terneros con una edad entre 6 y 24 meses, como también otros síntomas en el ámbito reproductivo como infertilidad tanto en hembras como en machos(31).

*2.4.2. Infección congénita.* La infección congénita se refiere específicamente al proceso de gestación en la que se encuentre el animal, en cada etapa hay un proceso diferente en el feto: antes de los 60 días de gestación se presenta un proceso de muerte, aborto o momificación fetal, durante los 50 y 120 días de gestación se presenta un proceso de muerte del ternero después del nacimiento, puede ocurrir en las 2 semanas o durar algunos meses y luego morir, en esta etapa el ternero nace pero pocas son las probabilidades que sobreviva, si sobrevive se convierten en animales PI, entre los 100 y 150 días de gestación nos encontramos con un proceso de malformaciones en el feto como microcefalia, hipoplasia, malformaciones de los huesos, también pueden presentarse abortos, entre otros; en cambio si pasa los 150 días de gestación los terneros casi no sobreviven, llegan a nacer débiles y por ese motivo mueren en los pocos días de nacidos(31).

Como se a dicho anteriormente depende de la etapa o tiempo de gestación que se encuentre el feto se presentara una infección fetal, al inicio de la gestación entre los 40 días puede producirse muerte fetal en cambio si ya hay un proceso de gestación de 150 días puede presentarse una infección transitoria la cual llega a eliminarse si existe una



respuesta inmune de parte del feto; a diferencia de las infecciones anteriores, la infección persistente solo se establece si el sistema inmune del feto no logra reconocer entre los antígenos que son propios y los que no lo son para su sistema inmunitario, la cual se produce entre el rango de 40 y 125 días de que se haya desarrollado la gestación(32).



**Figura 2.** Manifestaciones clínicas del Virus de la Diarrea Viral Bovina(31).

## 2.5. Diagnóstico de DVB

2.5.1. *Aislamiento viral.* Esta técnica se la realiza aislando cultivos celulares de los animales ya sea con muestras de riñón, pulmones, entre otros., es eficaz no solo para la detección del virus de la Diarrea Viral Bovina sino también detectan otros virus que pueden encontrarse en la muestra analizada(24).

2.5.2. *Inmunofluorescencia e inmunohistoquímica.* Esta técnica es directa, la cual favorece en la determinación de presencia de una enfermedad y así eliminar los animales que salieron positivos ante el análisis por esta técnica(24).

2.5.3. *Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)*. En esta técnica lo que se logra es la detección del antígeno del virus, tomando muestras de sangre de los animales y analizando el suero de la muestra, también se puede hacer mediante muestras de leche o biopsias de piel, en este caso de la zona de la oreja(24).

2.5.4. *Pruebas de detección de ácidos nucleicos*. Este tipo de técnica se la puede realizar para la detección del virus de la Diarrea Viral Bovina, pero no la aplican con mayor frecuencia por el incremento de costo que esta técnica demanda(24).

2.5.5. *Pruebas serológicas*. Lo que se refiere a pruebas serológicas es otra técnica muy importante y eficaz para la determinación del virus de DVB(24).

2.5.6. *PCR*. Uno de los métodos que se usa mucho para la detección del ARN del virus de la Diarrea Viral Bovina es el diagnóstico molecular, el cual nos sirve para encontrar el ARN en los glóbulos blancos en los animales persistentemente infectados (PI), este método es muy general, es decir no nos sirve para detectar cantidad de virus presente en las células, sino si está presente o no la enfermedad, encontrando ARN del virus, para ello se puede trabajar con los otros métodos descritos anteriormente(32).

En el caso de la presencia de problemas reproductivos, como abortos, infertilidad, etc., se requiere un diagnóstico mediante el cual están involucrados tanto el veterinario como también el laboratorio que brinde servicios veterinarios, ellos con la ayuda del veterinario de planta logran encontrar respuesta a la causa que ocasiona este tipo de alteraciones en los animales(37).

## **2.6. Método molecular PCR**

Realizar diagnósticos de enfermedades en hatos ganaderos es muy importante por varias razones, una de ellas es para encontrar el motivo de un foco infeccioso en el lugar y por consiguiente problemas de salud en los animales, así evitaremos una diseminación y controlar el problema presentado, otra de las razones es identificar que animales se

encuentras enfermos y como se está dando la diseminación en el hato, esto debido a la existencia de animales PI y así eliminar del hato inmediatamente(25).

Un método muy eficaz en determinar la presencia del virus de la Diarrea Viral Bovina es el PCR, un método de diagnóstico molecular que sin duda es muy complejo pero ayuda significativamente en caso de requerirlo. Este método lo que hace es identificar rasgos o parte genética de virus de DVB, consiste en extraer ARN del virus mediante un proceso de replicación(25).

El proceso se puede trabajar en pools de máximo hasta 50 muestras lo cual en el ámbito económico reduciría bastante, en el caso de encontrar positivos se procederá a trabajar la muestra de forma individual y así determinar cuál es la muestra positiva del animal infectado o si la muestra proviene de un animal PI, así emitir el resultado al ganadero o su veterinario para que realicen las medidas de control necesarias(25).

*2.6.1. Parámetros para estandarizar una PCR.* Para trabajar con PCR se necesita ciertos parámetros y condiciones de los reactivos que se necesita para este método de diagnóstico, no existe un parámetro específico para trabajar PCR, todo depende de las necesidades del técnico o de la persona que esté haciendo una investigación, los parámetros se los puede observar en el siguiente tabla(21).

<b>Reactivo</b>	<b>Concentración recomendada</b>
<b>dNTP'S</b>	0,2 mM de cada dNTP
<b>Mgcl2</b>	1-4 mM
<b>Cebador delantero</b>	0,1-1 uM
<b>Cebador reverso</b>	0,1-1 uM
<b>Enzima</b>	0,5-2,5 unidades por cada 50 µl de reacción, de acuerdo a las instrucciones del fabricante
<b>ADN molde</b>	<0,5 µg/50 µl
<b>Agua estéril</b>	La requerida para completar el volumen final de reacción necesitado.

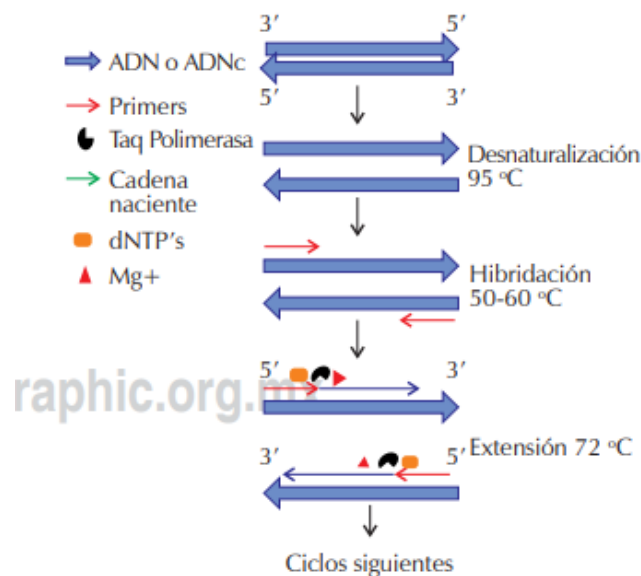
**Figura 3.** Concentraciones recomendadas de reactivos para estandarizar una PCR(21)

2.6.2. *Pasos a seguir en PCR.* Como se conoce que PCR se trabaja por ciclos, los cuales se manejan mediante tres etapas como es la desnaturalización, hibridación y extensión, estas tres etapas las detallamos de la siguiente manera(38):

2.6.2.1. *Desnaturalización.* Etapa en la cual se trabaja a una temperatura de 95°C en un tiempo de 20 – 30 seg., aquí es donde se produce el proceso de calentamiento y separación de las cadenas de ADN, el tiempo depende de la velocidad que el termociclador eleve la temperatura y la secuencia si es alta tardara de separarse las cadenas, se finaliza este proceso teniendo las cadenas separadas para proceder el siguiente proceso que es la hibridación(21,38).

2.6.2.2. *Hibridación.* Etapa llamada también como alineamiento en la cual toman función los primers, es decir estos llegan a alinearse al extremo 3´ de la cadena separada anteriormente y se hibrida a la secuencia que complemente, se requiere trabajar a una temperatura que oscile entre 50-60°C para que se produzca el complejo templado-primers(38).

2.6.2.3. *Extensión.* Etapa en la cual la Taq polimerasa toma su función principal junto con dNTP´s para así obtener como resultado final las cadenas completas de ADN (5´a 3´), en esta extensión se requiere trabajar a una temperatura de 72°C(38).



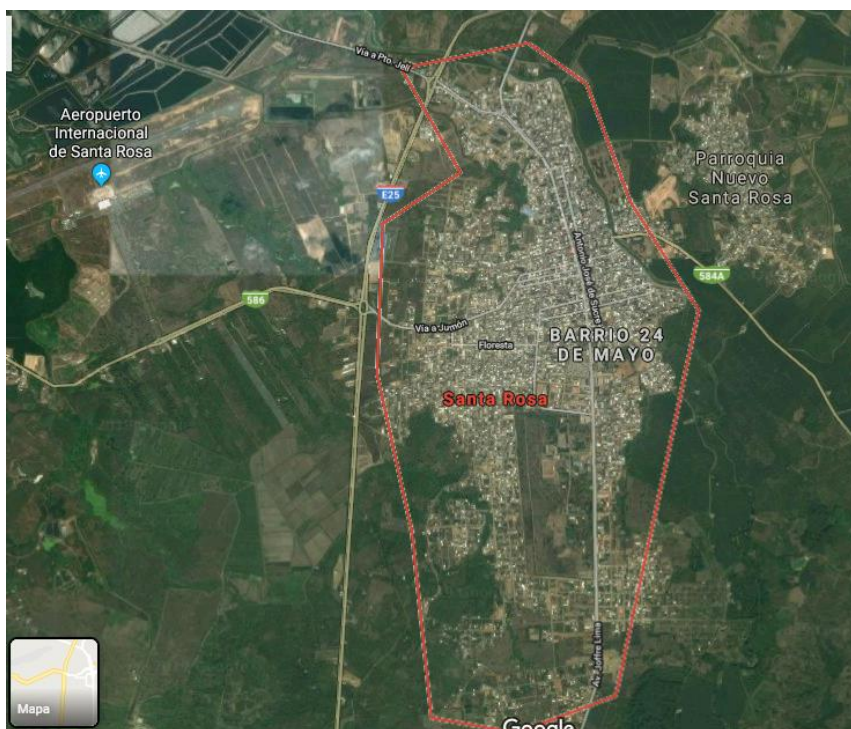
**Figura 4.** Pasos de un ciclo de la PCR(38).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Localización de la zona de estudio

La presente investigación se realizará en hatos ganaderos ubicados en los diferentes sitios del cantón Santa Rosa en la provincia de El Oro, en lo cual se determinará la existencia del virus de la Diarrea Viral Bovina mediante la técnica molecular como es la Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR) con la recolección de muestras de sangre. La zona de estudio se encuentra ubicada geográficamente en las siguientes coordenadas:

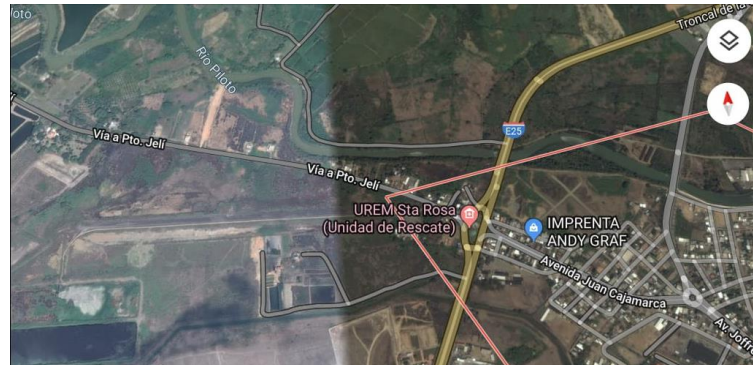
- ❖ **Latitud Sur:** 3°27'08"S
- ❖ **Longitud Oeste:** 79°57'42"O
- ❖ **Temperatura:** 22°C – 31°C
- ❖ **Humedad Relativa:** 90%



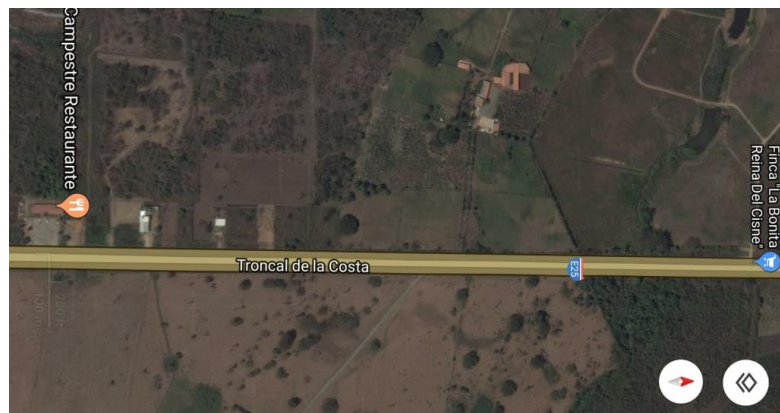
*Figura 5. Mapa Satelital de Santa Rosa. Fuente: <https://www.google.com/maps/place/Santa+Rosa>*

### 3.1.1. La localización de las fincas donde se realizó el muestreo

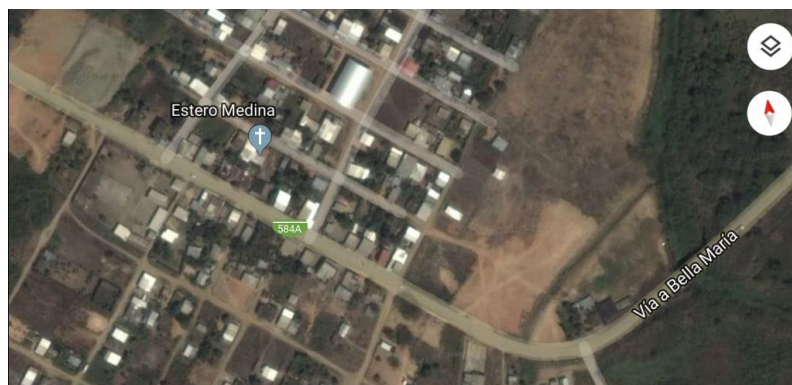
El sector donde se realizó el muestreo fue en tres fincas ubicadas en el cantón Santa Rosa perteneciente en la provincia de El Oro, tomando un total de 100 muestras.



**Figura 6.** Mapa satelital de la finca NICVANA. Fuente: <https://www.google.com/maps/place/Santa+Rosa>



**Figura 7.** Mapa satelital de la finca Las Lomas. Fuente: <https://www.google.com/maps/place/Santa+Rosa>



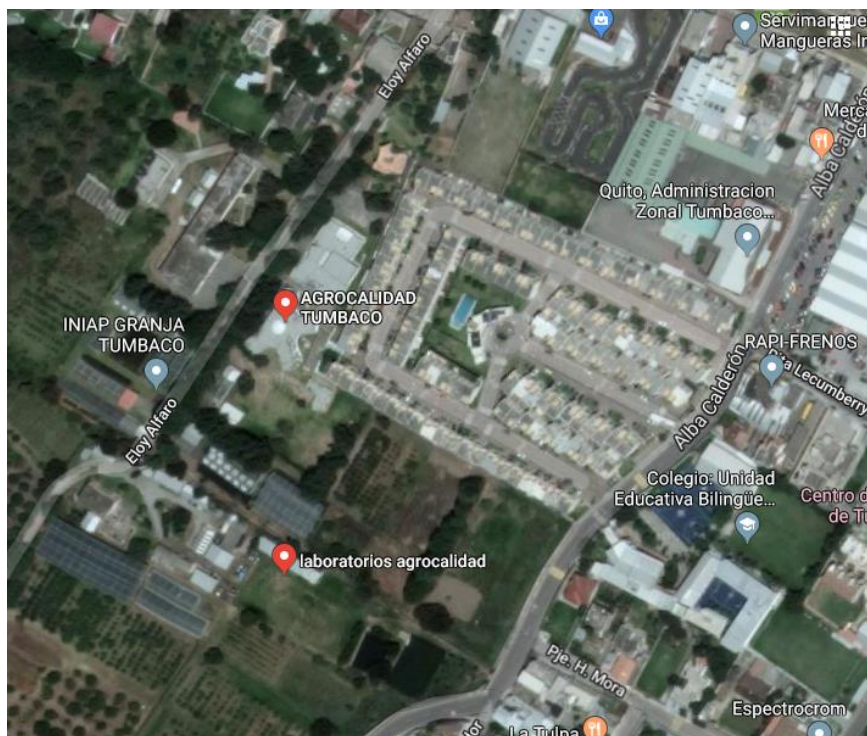
**Figura 8.** Mapa satelital de la finca KARFEL. Fuente: <https://www.google.com/maps/place/Santa+Rosa>



### 3.1.2. Localización del laboratorio de Agrocalidad – Tumbaco

El laboratorio de biología molecular de Agrocalidad se encuentra ubicada en Tumbaco – Quito en el sector La Granja, la cual se encuentra con una altitud de 2348 m.s.n.m. y con las siguientes coordenadas geográficas:

- ❖ **Latitud Sur:** 00°13'0"S
- ❖ **Longitud Oeste:** 78°24'0"O
- ❖ **Temperatura media anual:** 16,2 °C – 23 °C
- ❖ **Humedad Relativa:** 75,5%



**Figura 9.** Mapa satelital de laboratorio de Agrocalidad en Tumbaco.

Fuente: <https://www.google.com/maps/search/laboratorio+de+biologia+molecular+agrocalidad,+Quito/@-0.2151788,-78.4116645,391m/data=!3m1!1e3>

### 3.2. Población y muestra

El número de muestra fue calculado a partir de una población que oscila los 174 animales, los cuales pertenecen a las tres fincas muestreadas en el Cantón Santa Rosa, Provincia de El Oro. Se determinó trabajar en la investigación con una muestra de 100 animales para

estimar la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina, calculando con una formula con un intervalo de confianza de 95% y estimación de error del 5%.

Calculo del tamaño de la muestra:

$$n = \frac{N}{1 + \frac{e^2(N-1)}{z^2pq}}$$

**Donde:**

n= Tamaño de la muestra

z= Nivel de confianza deseado (95%)

p= Proporción de la población con la característica deseada (éxito) (0,80)

q= Proporción de la población sin la característica deseada (fracaso) (0,20)

e = Nivel de error dispuesto a cometer (5%)

N= Tamaño de la población (174)

$$n = \frac{174}{1 + \frac{0,05^2(174-1)}{1,96^2(0,16)}}$$

$$n = \frac{174}{1 + \frac{0,4325}{0,6146}}$$

$$n = \frac{174}{1,70}$$

$$n = 102$$

### **3.3. Materiales y equipos**

#### *3.3.1. Materiales para la toma de muestra*

- ❖ Guantes
- ❖ Algodón
- ❖ Alcohol
- ❖ Botas
- ❖ Overol



- ❖ Vacutainer con EDTA tapa lila
- ❖ Agujas calibre 21 para tubos al vacío
- ❖ Corcho o hielera
- ❖ Gradilla para tubos
- ❖ Geles para mantener las muestras en refrigeración
- ❖ Marcador permanente
- ❖ Recipiente para depósito de corto punzantes
- ❖ Cinta de embalaje

### 3.3.2. *Materiales para trabajar en laboratorio*

- ❖ Mandil
- ❖ Guantes
- ❖ Vacutainer con EDTA tapa lila
- ❖ Micropipetas de 100 a 1000 ul
- ❖ Gradilla
- ❖ Puntas azules para micropipeta
- ❖ Hipoclorito de sodio al 5%

## 3.4. **Variables**

1. Procedencia
2. Edad
3. Sexo
4. Raza
5. Estado de vacunación
6. Animales infectados

### 3.4.1. *Medición de variables*

La variable edad se la evaluó de la siguiente forma: de 0 – 1 año; 1,5 años a 5 años y de 5,5 años a 10 años.

La variable sexo se la evaluó en: Hembra y Macho

La variable raza se la evaluó: mestizas; pardo suizo, holstein.

La variable estado de vacunación se la evaluó: vacunado y no vacunado

Y, la variable animales enfermos se la evaluó: infectados y no infectados.

### **3.5. Métodos**

El método que se realizó para obtener resultados de la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina vDVB, fue muestrear 3 fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa de las cuales se obtuvo 100 muestras de sangre en tubos tapa lila de 4 ml (EDTA), luego como siguiente paso fue la realización de pools de 5 muestras de sangre de ganado bovino previamente etiquetado de cada finca, para luego ser debidamente procesadas y empaquetadas para el envío al laboratorio de Agrocalidad – Tumbaco, ubicado en el ala norte de Quito.

### **3.6. Análisis estadístico**

En esta investigación se realizó una estadística básica, ingresando los datos adquiridos a una base de datos en el programa Excel, realizando análisis de las variables propuestas en la investigación.

### **3.7. Hipótesis**

De acuerdo a la investigación realizada se plantea las siguientes hipótesis:

**H<sub>0</sub>:** El virus de la Diarrea Viral Bovina no tiene circulación epidemiológica en el Cantón Santa Rosa de la Provincia de El Oro.

**H<sub>a</sub>:** El virus de la Diarrea Viral Bovina si tiene circulación epidemiológica en el Cantón Santa Rosa de la Provincia de El Oro.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

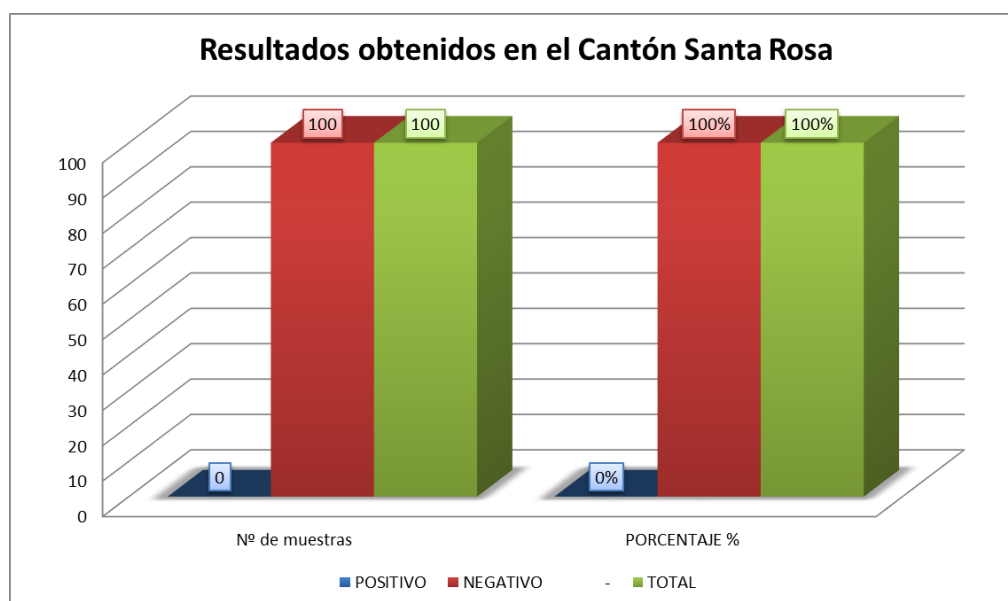
En la presente investigación realizada en el Cantón Santa Rosa, se obtuvo los siguientes resultados a la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina:

### 4.1. Determinación de la presencia del virus de la diarrea viral bovina en el cantón santa rosa

La población muestreada fue un total de 100 animales tomados de 3 fincas del Cantón Santa Rosa, cuyas muestras fueron trabajadas con la técnica molecular PCR y arrojaron un 100% de Negativos a la presencia del virus de DVB. Estos resultados se los puede observar en el cuadro 1 y el gráfico 1.

**Cuadro 1.** Resultados obtenidos mediante la técnica molecular PCR para DVB en animales muestreados en el Cantón Santa Rosa.

	RESULTADOS OBTENIDOS		
RESULTADOS	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
N° DE MUESTRAS	0	100	100
PORCENTAJE	0	100	100



**Gráfico 1.** Resultados obtenidos mediante la técnica molecular PCR para DVB en animales muestreados en el Cantón Santa Rosa.

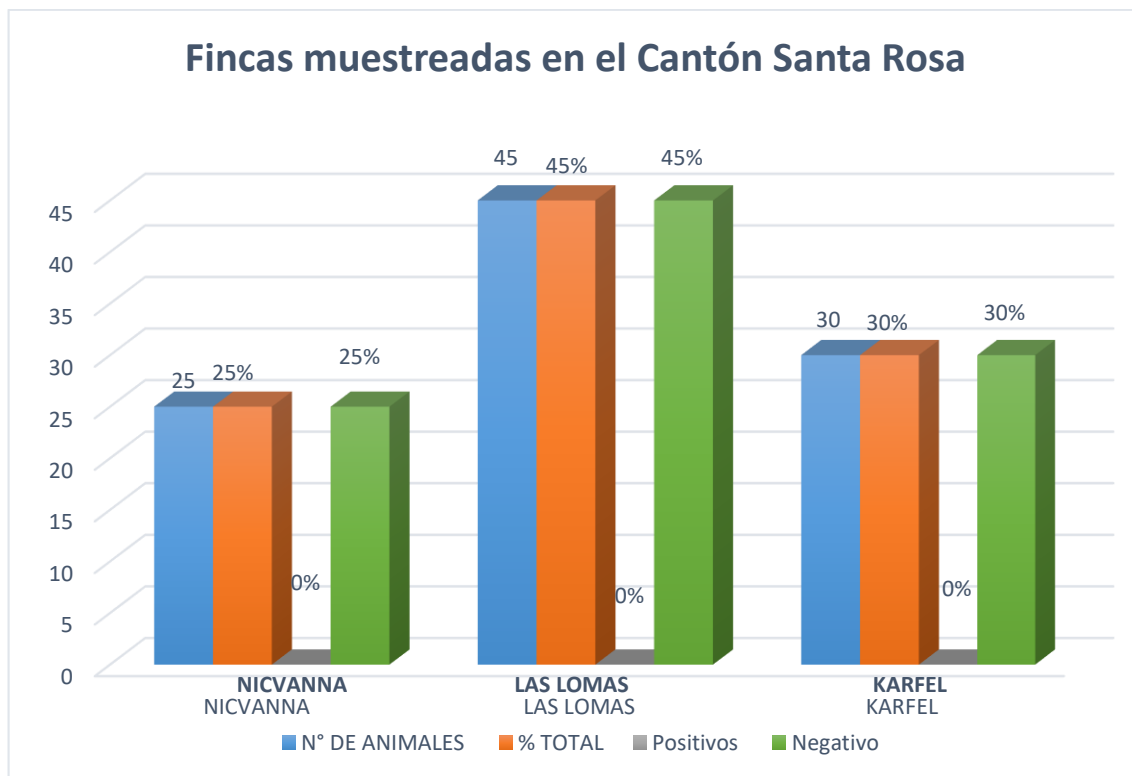
Los resultados obtenidos en la investigación demuestran un 0% de la presencia de la Diarrea Viral Bovina en el Cantón Santa Rosa, mostrando que del total de las muestras el 100% son negativos a la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina. Tomando en cuenta que anteriormente no se a realizado este tipo de investigaciones no se a podido detallar una comparación en la provincia. Sin embargo, de acuerdo a una investigación realizada en la provincia de Loja por González (2016), se encontró un 27,92% de animales que presentan la enfermedad DVB por medio del método de ELISA Indirecto(39). Otras investigaciones en el Cantón Chone provincia de Manabi se encontró un 14.97% de prevalencia de DVB trabajadas con el método de ELISA Indirecto(40). En Colombia se a encontrado la presencia de Diarrea Viral Bovina trabajando con RT-PCR, teniendo como resultados 7,69 % de animales positivos al pestivirus en una de las fincas muestreadas, mientras que en la otra finca se encontró un 7, 92% de animales positivos(16).

#### 4.2. Determinación de acuerdo a las fincas muestreadas

Se realizó tres muestreos en fincas diferentes ubicadas en el Cantón Santa Rosa, en el cuadro 2 podemos observar la cantidad de animales muestreados por finca y así mismo la representación en el grafico 2.

**Cuadro 2.** Número de animales muestreados por fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa.

FINCAS	N° DE ANIMALES	% TOTAL	Resultados	
			Positivos	Negativo
NICVANNA	25	25%	0%	25%
LAS LOMAS	45	45%	0%	45%
KARFEL	30	30%	0%	30%
<b>TOTAL</b>	100	100%	0%	100%



**Gráfico 2.** Número de animales muestreados por fincas ubicadas en el Cantón Santa Rosa.

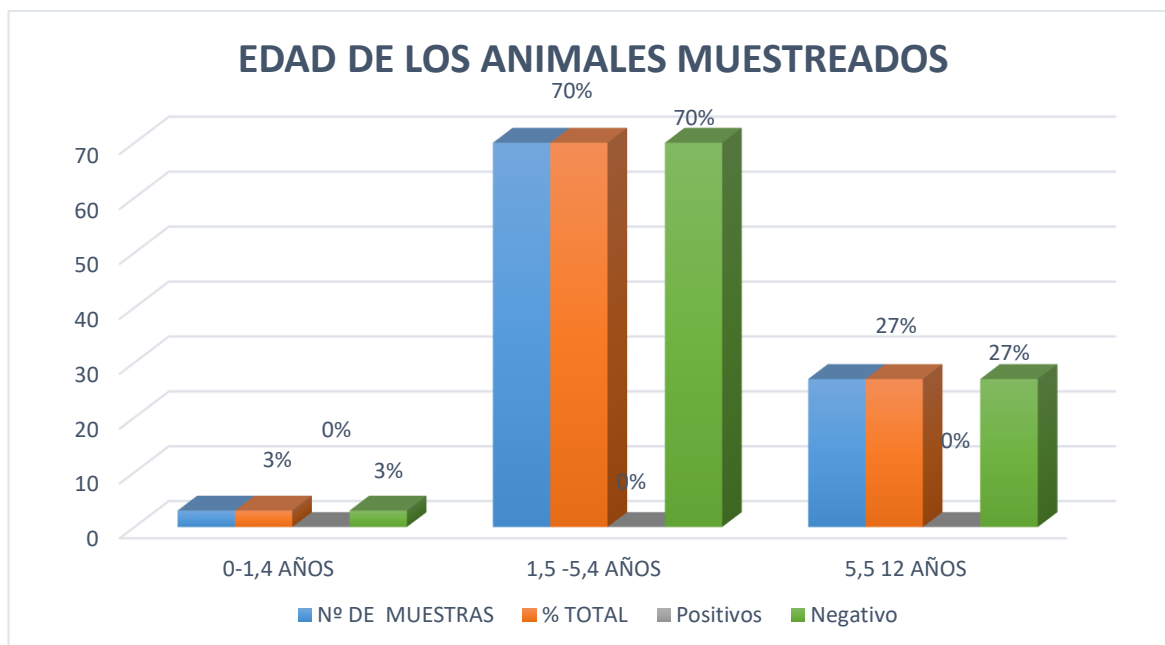
Las fincas muestreadas en el Cantón Santa Rosa se encuentran ubicadas a las afueras del Cantón, de las cuales se obtuvo un 25% de muestras en la finca Nicvana, 45% de las Lomas y 30% de Karfel, muestras que salieron negativas a la presencia del Virus de la Diarrea Viral Bovina, en comparación con una investigación realizada en Loja por Labanda (2015), donde obtuvo un 29% de animales positivos y un 71% negativos de un total de 394 animales muestreados en el Cantón en sus principales parroquias(41).

#### **4.3. Determinación del número de animales muestreados por edad en el cantón santa rosa.**

Para determinar el número de animales muestreados por edad se realizó por grupos: grupo 1 de 0 a 1,4 años obteniendo un porcentaje de 3 %, grupo % 2 de 1,5 a 5,4 años con un porcentaje de 70% y grupo 3 de 5,5 a 12 años con un porcentaje de 27% de animales, estos datos se puede observar a continuación el cuadro 3 y así mismo en el grafico 3 representado en barras con porcentaje.

**Cuadro 3.** Número de animales muestreados por edad en el Cantón Santa Rosa

EDAD	N° DE MUESTRAS	% TOTAL	Resultados	
			Positivos	Negativo
<b>0-1,4 AÑOS</b>	3	3%	0%	3%
<b>1,5 -5,4 AÑOS</b>	70	70%	0%	70%
<b>5,5 12 AÑOS</b>	27	27%	0%	27%
<b>TOTAL</b>	100	100%	0%	100%



**Gráfico 3.** Número de animales muestreados por edad en el Cantón Santa Rosa.

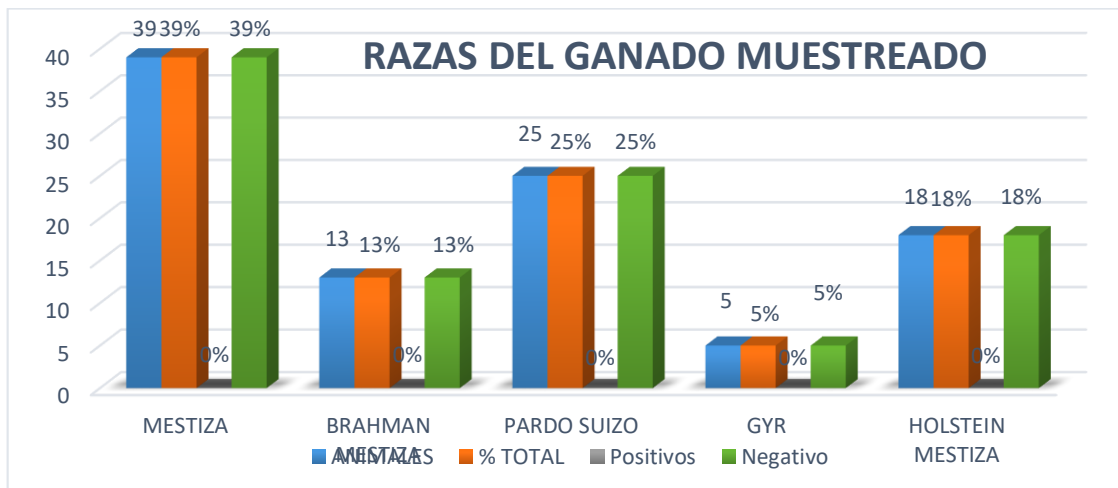
De acuerdo a las edades de los animales muestreados se puede observar en el cuadro que se muestreó una mayor cantidad de animales entre 1,5 a 5,4 años de edad, resultados que salieron negativos a la presencia del virus de la Diarrea Viral Bovina. Sin embargo en una investigación de González (2016) obtuvo un 35,71 de positivos a DVB en edades de 8 años en adelante en un total de 154 animales muestreados(39), coincidiendo con otra investigación en Manabí que los resultados obtenidos se dieron con mayor porcentaje de positividad en animales mayores a los 8 años de edad con un 17,14% y en el segundo muestreo realizado el porcentaje aumenta a un 25% de animales positivos(40).

#### 4.4. Determinación de acuerdo a las razas de animales muestreados

De acuerdo al muestreo realizado en las fincas del Cantón Santa Rosa se encontró 5 razas diferentes de las cuales se obtuvo mayor cantidad de porcentaje de animales mestizos con un 39%, seguida de la raza Pardo Suizo con un 25%, raza Holstein mestiza con un 18% y la raza Gyr un 8% y Brahman mestiza con un 13%. Resultados que se pueden observar en el cuadro 4 y representado en el gráfico 4.

**Cuadro 4.** Número de animales muestreados de acuerdo a las razas encontradas en el Cantón Santa Rosa.

RAZAS	ANIMALES	% TOTAL	Resultados	
			Positivos	Negativo
<b>MESTIZA</b>	39	39%	0%	39%
<b>BRAHMAN MESTIZA</b>	13	13%	0%	13%
<b>PARDO SUIZO</b>	25	25%	0%	25%
<b>GYR</b>	5	5%	0%	5%
<b>HOLSTEIN MESTIZA</b>	18	18%	0%	18%
<b>TOTAL</b>	100	100%	0%	100%



**Gráfico 4.** Número de animales muestreados de acuerdo a las razas encontradas en el Cantón Santa Rosa.

De acuerdo al muestreo realizado de 100 animales se encontró 5 razas de ganado lechero de las cuales el 0% salieron negativos a la presencia del virus de DVB, en el cuadro 4 se observa que el mayor porcentaje de animales muestreados son la mestiza con un 39% seguida de la Pardo Suizo con un 25% tomando en cuenta que el clima es apto para la

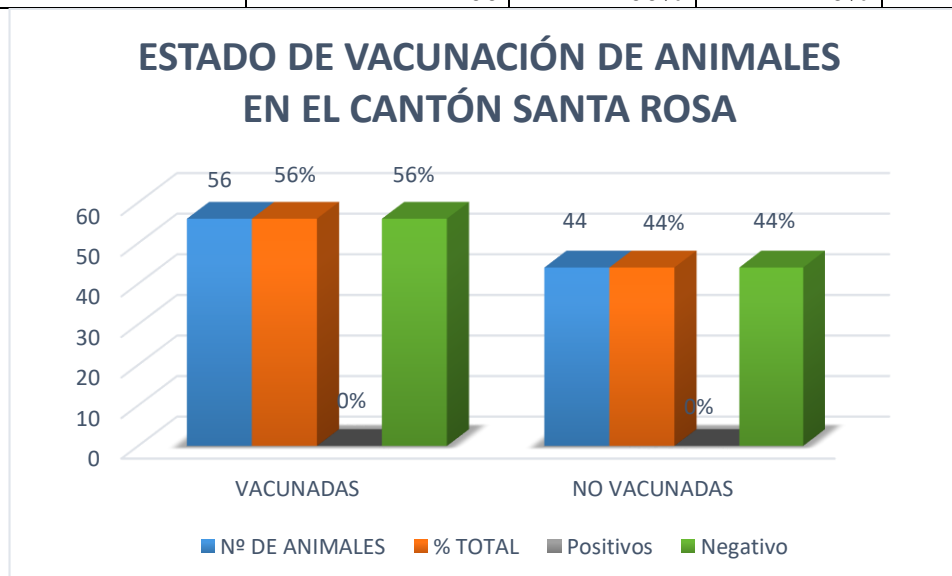
producción láctea igual es recomendable realizar cruces del ganado lechero con el de carne para obtener mejor adaptación del ganado al clima. En una investigación realizada por Arauco y Lozano (2018), realizó muestreos en hatos ganaderos con razas Holstein, Pardo Suizo, cruzadas y razas criollas de las cuales obtuvieron un 64,8% de animales positivos a DVB(11).

#### 4.5. Determinación del estado de vacunación de los animales muestreados en el cantón santa rosa

El estado de vacunación se lo determinó en si están o no vacunados los animales de las distintas fincas muestreadas, lo cual se logró determinar que de los 100 animales el 56% están vacunados y el 44% no están vacunados, es decir no siguen un protocolo de vacunación para lo que es la Diarrea Viral Bovina. Estos datos están detallados en el cuadro 5 y representados en el grafico 5.

**Cuadro 5.** Estado de vacunación de los animales muestreados en el Cantón Santa Rosa.

VACUNACIÓN	N° DE ANIMALES	% TOTAL	Resultados	
			Positivos	Negativo
VACUNADAS	56	56%	0%	44%
NO VACUNADAS	44	44%	0%	56%
TOTAL	100	100%	0%	100%



**Gráfico 5.** Estado de vacunación de los animales muestreados en el Cantón Santa Rosa.



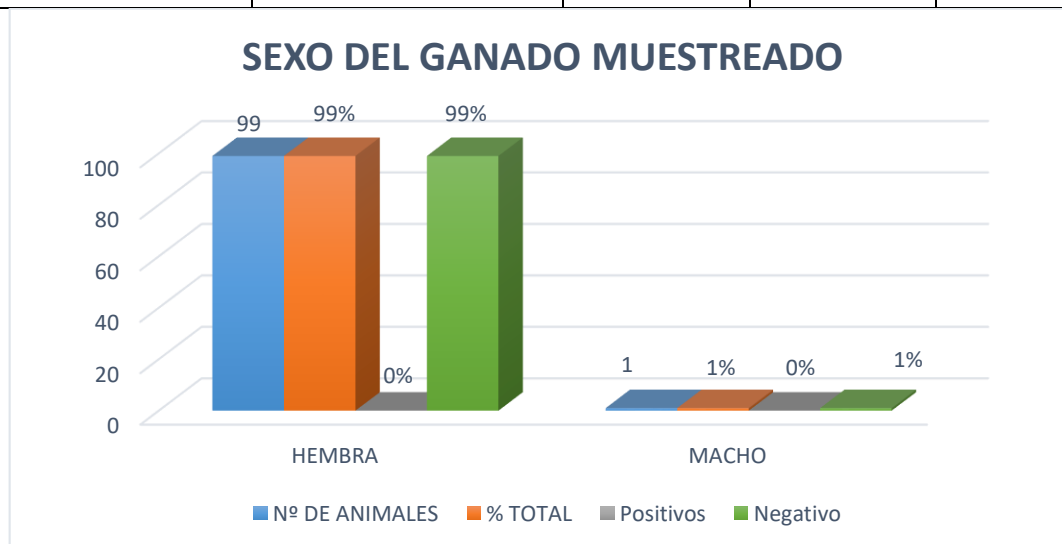
En la investigación realizada en el Cantón Santa Rosa de las tres fincas muestreadas se encontró que de las 100 muestras tomadas existe un alto porcentaje de animales que no fueron vacunados 44% y un 56% que si son vacunados, en una investigación realizada por Buitrago, Jimenez y Zambrano (2018), el 77,4% de animales muestreados estaban vacunados contra VDVB de los cuales el 67,7% vacunados con virus muerto y 9,7% con virus vivo modificado, detectando un 27,1% de animales que presentan DVB(12).

#### 4.6. Determinación de los animales muestreados de acuerdo el sexo en el cantón santa rosa

De tos datos obtenidos del muestreo de los animales en el Cantón Santa Rosa se determinó que la mayor población muestreada son hembras obteniendo un 98% y machos un 2%, esto se basa en que la mayoría son hembras porque las fincas muestreadas se dedican a la producción de leche y por ende no tienen machos solo tienen como reproductores.

**Cuadro 6.** Determinación de los animales muestreados de acuerdo al sexo en el Cantón Santa Rosa.

SEXO	Nº DE ANIMALES	% TOTAL	Resultados	
			Positivos	Negativo
<b>HEMBRA</b>	99	99%	0%	99%
<b>MACHO</b>	1	1%	0%	1%
<b>TOTAL</b>	100	100%	0%	100%



**Gráfico 6.** Determinación de los animales muestreados de acuerdo al sexo en el Cantón Santa Rosa.

En el estudio de Diarrea Viral Bovina por método molecular PCR realizado en el Cantón Santa Rosa, se obtuvo que de 100 bovinos muestreados todos fueron negativos, se encontró mayor población de hembras con un 99% y un 1% de machos, debido a que las fincas muestreadas son de explotación lechera y mantener machos sería un cargo adicional a la finca, por lo que algunos solo tienen un macho reproductor, de acuerdo a una investigación en Cantón Chone provincia de Manabí realizada por Escudero y Morales (2013), trabajó con fincas productoras de leche por lo que obtuvo mayor número de hembras muestreadas con un 13,65% positivas a DVB(40).

## **5. CONCLUSIONES**

De un total de 100 animales muestreados al estudio molecular del virus de la Diarrea Viral Bovina se obtuvo un 100% de animales negativos y el 0% de animales positivos, por lo tanto a los resultados se determina que no está circulando el virus de la Diarrea Viral Bovina en el cantón Santa Rosa.

No se puede validar la técnica molecular debido a que no se tuvo libertad para determinar la metodología específica, así como también el desconocimiento de controles positivos que el laboratorio estableció con las muestras trabajadas.

## 6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la investigación de la Diarrea Viral Bovina en la Provincia de El Oro, tomando en cuenta factores como el estado de salud de los bovinos, para poder capturar los animales infectados, es necesario inclinarse por animales que estén presentando alguna patología que indique la presencia de la enfermedad.
- Realizar investigaciones considerando más sitios de muestreo de acuerdo a la población de estudio, amplificando la investigación a nivel de la provincia de El Oro.
- Se recomienda realizar una prueba de PCR más estricta con protocolos validados a través de controles positivos y en lo posible trabajar en el laboratorio de la Universidad Técnica de Machala, para poder controlar las variables ligadas al control positivo, trabajar mejor la muestra y en lo posible corregir errores como la desnaturalización del virus y controlar los tiempos que se utilizan en el envío al laboratorio y así tener más garantía en obtener resultados confiables.
- Realizar campañas de bioseguridad a productores para determinar la importancia de la enfermedad y el daño que genera la presencia en un hato ganadero. Tomando en cuenta la necesidad de realizar vacunaciones a los animales para evitar que ingrese la enfermedad DVB.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Moennig V, Becher P. Control of bovine viral diarrhoea. *Pathogens* [Internet]. 2018;7(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5874755/>
2. Retamal P, Abalos P, Fredes F. Enfermedades animales producidas por agentes biológicos [Internet]. Primera ed. Chile; 2010. 260 p. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=f9NqDwAAQBAJ&pg=PA156&dq=diarrea+viral+bovina&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEWjiq-Wo1oPkAhULnlkKHY73BSsQ6AEILDAB#v=onepage&q=diarrea+viral+bovina&f=false>
3. Valdez G. E, Pacheco P. I, Vergara A. W, Pinto L. J, Fernández B. F, Guzmán F. F, et al. Detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral en bovinos de la provincia de Anta, Cusco, Perú. *Rev Investig Vet del Perú* [Internet]. 2018 Nov 25;29(4):1500. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172018000400047&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000400047&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
4. Flores C, Gonzalez E, Odeón A, Lischinsky L, Llada I, Cora J, et al. Defectos congénitos asociados a infección con el virus de la diarrea viral bovina: Presentación de un caso. 2016;46(June). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/303939402\\_Defectos\\_congenitos\\_asociados\\_a\\_infeccion\\_con\\_el\\_virus\\_de\\_la\\_diarrea\\_viral\\_bovina\\_Presentacion\\_de\\_un\\_caso](https://www.researchgate.net/publication/303939402_Defectos_congenitos_asociados_a_infeccion_con_el_virus_de_la_diarrea_viral_bovina_Presentacion_de_un_caso)
5. Corro A, Escalona J, Mosquera O, Vargas F. Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina en vacas y novillas no vacunadas en el Municipio Bolívar del estado Yaracuy , Venezuela. 2017;22:27–32. Available from: <https://revistas.ucla.edu.ve/index.php/gcv/article/view/551>
6. Zhu L, Lu H, Cao Y, Gai X, Guo C, Liu Y, et al. Molecular characterization of a novel bovine viral diarrhoea virus isolate SD-15. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(10):1–18. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0165044&type=printable>
7. Rosete J, Ríos Á, Zárate J, Olazarán S, Granados L, Fragosó A, et al. Prevalencia

- de anticuerpos contra diarrea viral bovina en vacas no vacunadas en los estados de Puebla , Tabasco y Veracruz , México. *Rev Mex Ciencias Pecu* [Internet]. 2018;Volumen 9:556. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v9n3/2448-6698-rmcp-9-03-555.pdf>
8. Arauco V F, Rosadio A R. Seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina y Neosporosis en Vacas de de la Región Junín, Perú TT - Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea and Neosporosis in Cows in the Region of Junín, Peru. *Rev Investig Vet del Perú* [Internet]. 2015;26(3):543–7. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172015000300023&lang=pt](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172015000300023&lang=pt)
  9. Marschik T, Obritzhauser W, Wagner P, Richter V, Mayerhofer M, Egger-Danner C, et al. A cost-benefit analysis and the potential trade effects of the bovine viral diarrhoea eradication programme in Styria, Austria. *Vet J* [Internet]. 2018;19–29. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023317302289>
  10. Sayers R, Sayers G, Graham D, Arkins S. Impact of three inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines on bulk milk p80 (NS3) ELISA test results in dairy herds. *Vet J* [Internet]. 2015; Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1090023315001227?token=33CCF6FD12ED15CFD6EC079DC79E04A62C0BBE9AE05ABE2FA5E82368175E7FCD E5E9F6D16465D7D5CD1ABA228F3474E2>
  11. Arauco F, Lozano E. Seroprevalencia de diarrea viral bovina en hatos lecheros del Valle del Mantaro, Región Junín, Perú. *Rev Investig Vet del Perú* [Internet]. 2018;29(4):1515. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a49v29n4.pdf>
  12. Buitrago E, Jiménez C, Zambrano J. 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 (Bogota)* [Internet]. 2018;(36):63–73. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n36/0122-9354-rmv-36-00063.pdf>
  13. Dow N, Chernick A, Orsel K, Van Marle G, Van Der Meer F. Genetic variability of bovine viral diarrhoea virus and evidence for a possible genetic bottleneck during vertical transmission in persistently infected cattle. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(7):1–18. Available from:

<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0131972&type=printable>

14. Ronchi JI, Estela E., Leunda MR, Odeón AC. Infección experimental con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) genotipo 2 en terneros con anticuerpos neutralizantes al VDVB genotipo 1. Arch Med Vet [Internet]. 2001 [cited 2019 Aug 21];33(2):185–92. Available from: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2001000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2001000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
15. Valdez G. E, Pacheco P. I, Vergara A. W, Pinto L. J, Fernández B. F, Guzmán F. F, et al. Identificación de bovinos persistentemente infectados y genotipo del virus de la diarrea viral en bovinos de Anta, Cusco, Perú. Rev Investig Vet del Perú [Internet]. 2018;29(4):1527. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a50v29n4.pdf>
16. Villamil V V, Ramírez GC, Vera VJ, Jaime JA. Primera evidencia del Virus de Diarrea Viral Bovina ( VDVB ) genotipo 2 en Colombia. 2018;65(1):11–26. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v65n1/0120-2952-rfmvz-65-01-00011.pdf>
17. Neill JD, Workman AM, Hesse R, Bai J, Porter EP, Meadors B, et al. Identification of BVDV2b and 2c subgenotypes in the United States: Genetic and antigenic characterization. Virology [Internet]. 2019; Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0042682218303660?token=740C29509B67EBFA30FBCAEC9DE365E67BF9A134530CEE036CA6363D9EC6D6CA4E53E256A4744324430E8C8E40EDBA2C>
18. Donoso A, Inostroza F, Celedón M, Pizarro-Lucero J. Genetic diversity of Bovine Viral Diarrhea Virus from cattle in Chile between 2003 and 2007. BMC Vet Res [Internet]. 2018;14(1):1–11. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/328391245\\_Genetic\\_diversity\\_of\\_Bovine\\_Viral\\_Diarrhea\\_Virus\\_from\\_cattle\\_in\\_Chile\\_between\\_2003\\_and\\_2007](https://www.researchgate.net/publication/328391245_Genetic_diversity_of_Bovine_Viral_Diarrhea_Virus_from_cattle_in_Chile_between_2003_and_2007)
19. Falkenberg S, Dassanayake R, Neill J, Ridpath J. Improved detection of bovine viral diarrhoea virus in bovine lymphoid cell lines using PrimeFlow RNA assay. Virology [Internet]. 2017; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004268221730209X?via%3DiHub>
20. Callens N, Brügger B, Bonnafous P, Drobecq H, Gerl MJ, Krey T, et al.

- Morphology and Molecular Composition of Purified Bovine Viral Diarrhea Virus Envelope. *PLoS Pathog* [Internet]. 2016;12(3). Available from: <https://journals.plos.org/plospathogens/article/file?id=10.1371/journal.ppat.1005476&type=printable>
21. Martínez V. Establecimiento de un método de diagnóstico para la detección del virus de la diarrea viral bovina mediante la reacción en cadena de polimerasa. *Tesis Vet* [Internet]. 2017;59. Available from: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/13373/1/T-ESPE-057328.pdf>
  22. Vargas D, Jaime J, Vera V. Perspectivas para el control del Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV). *Rev Colomb Ciencias Pecu* ISSN-e 0120-0690, Vol 22, N° 4, 2009, págs 677-688 [Internet]. 2009;22(4):677–88. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3165824>
  23. Chernick A, van der Meer F. Evolution of Bovine viral diarrhea virus in Canada from 1997 to 2013. *Virology* [Internet]. 2017;7. Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0042682217302015?token=B4A10856635ED983D6C3D6F2FBA375904A2CF06E3902463B237531EC009E66F574211DCCFD9450B248FF8997443A3152>
  24. Perera I. Manejo de hembras durante la gestación, el parto y la lactancia de crías. [Internet]. Primera ed. España: Editorial Elearning S.L; 2015. 400 p. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=QGFWDwAAQBAJ&pg=PA80&dq=DIARREA+VIRAL+BOVINA&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjJ9pDC6fHjAhVFwlkKHYYMDHsQ6AEIMjAC#v=onepage&q=DIARREA VIRAL BOVINA&f=false>
  25. Pecora A, Pérez M. Actualización en diarrea viral bovina , herramientas diagnósticas y estrategias de prevención. In: *Revista Veterinaria* [Internet]. Primera ED. Buenos Aires; 2017. p. 28. Available from: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-actualizacion\\_en\\_diarrea\\_viral\\_bovina.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-actualizacion_en_diarrea_viral_bovina.pdf)
  26. Morrell E, González E, Odeón A, Odriozola E, García J. Diarrea viral bovina : presentación de casos clínicos y evaluación de diversas técnicas para el diagnóstico . *Rev Vet Res* [Internet]. 2014;(June). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/318406893\\_Diarrea\\_viral\\_bovina\\_presentacion\\_de\\_casos\\_clinicos\\_y\\_evaluacion\\_de\\_diversas\\_tecnicas\\_para\\_el\\_diagno](https://www.researchgate.net/publication/318406893_Diarrea_viral_bovina_presentacion_de_casos_clinicos_y_evaluacion_de_diversas_tecnicas_para_el_diagno)



stico

27. Walz PH, Riddell KP, Newcomer BW, Neill JD, Falkenberg SM, Cortese VS, et al. Comparison of reproductive protection against bovine viral diarrhoea virus provided by multivalent viral vaccines containing inactivated fractions of bovine viral diarrhoea virus 1 and 2. Elsevier - Vaccine [Internet]. 2018; Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0264410X18304730?token=8B97634277A6B7E51741E536E596CE3189471C01B4AFF30F36564FE180BAD5BD9D789C7822D0B524A0A3F4BF7A751064>
28. Díaz M, Molina C, Molina J, Macías E, Sanatnder E. Manual de enfermedades infecciosas en ganado bovino de la zona central del litoral ecuatoriano [Internet]. Los Ríos; 2003. 50 p. Available from: [https://books.google.com.ec/books?id=xoYzAQAAMAAJ&pg=PA36&dq=Enfermedades+infectocontagiosas+en+Rumiantes.+Manuales+Clínicos+de+Veterinaria.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3w9Dn\\_pLkAhXrpVvKkKHQShCeoQ6AEINDAD#v=onepage&q=Enfermedades infectocontagiosas en Rumiantes.](https://books.google.com.ec/books?id=xoYzAQAAMAAJ&pg=PA36&dq=Enfermedades+infectocontagiosas+en+Rumiantes.+Manuales+Clínicos+de+Veterinaria.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3w9Dn_pLkAhXrpVvKkKHQShCeoQ6AEINDAD#v=onepage&q=Enfermedades infectocontagiosas en Rumiantes)
29. Cárdenas AC, Rivera GH, Araínga RM, Ramírez VM, De Paz MJ. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y de animales portadores del virus en bovinos en la provincia de espinar, Cusco. Rev Investig Vet del Peru [Internet]. 2011;22(3):261–7. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v22n3/a12v22n3.pdf>
30. Deng M, Ji S, Fei W, Raza S, He C, Chen Y, et al. Prevalence study and genetic typing of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in four bovine species in China. PLoS One [Internet]. 2015;10(4):1–16. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0121718&type=printable>
31. García I, Zafra R, Morgaz J, Muñoz P, Galan A. Enfermedades infectocontagiosas en Rumiantes. Manuales Clínicos de Veterinaria. [Internet]. Primera ed. Morgaz J, Muñoz P, Galan A, editors. España: Elsevier; 2019. 500 p. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=NjyjDwAAQBAJ&pg=PA21&dq=DIARREA+VIRAL+BOVINA&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjJ9pDC6fHjAhVFwlkKHYYMDHsQ6AEIPTAE#v=onepage&q=DIARREA VIRAL BOVINA&f=false>
32. Falkenberg SM, Dassanayake RP, Walz P, Casas E, Neill JD, Ridpath JF. Frequency of bovine viral diarrhoea virus detected in subpopulations of peripheral blood mononuclear cells in persistently infected animals and health outcome. Vet Immunol Immunopathol [Internet]. 2019;207:46–52. Available from:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242718303684>
33. Richter V, Lebl K, Baumgartner W, Obritzhauser W, Käsbohrer A, Pinior B. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. *Vet J* [Internet]. 2017; Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1090023317300102?token=07450DF3D14489CFDF79517C92CDD8193DE6BD8266591F0BE6420130374B5F381BA725512E1F7E52D25F2239E927CB9A>
  34. Pinior B, Firth CL, Richter V, Lebl K, Trauffler M, Dzieciol M, et al. A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevention and mitigation activities worldwide [Internet]. *Preventive Veterinary Medicine*. 2017. p. 16. Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0167587716307097?token=54B42685972CC23C73D9F5B98051564506FE00F54850EBED2258FCE45175712ED390E873FA9B93108D80686024DB30C7>
  35. Quintero J, Corredor A, Salas S, Camargo H, Sánchez A, Tobón J, et al. High prevalence of persistently infected animals from bovine viral diarrhoea in Colombian cattle. *BMC Vet Res* [Internet]. 2019;15(1):1–8. Available from: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12917-018-1769-5>
  36. Ramirez N, Villar D, Fernandez J, Londoño J, Jenny C, Olivera M. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros , Antioquia , Colombia. *CES Med Vet y Zootec* [Internet]. 2016;11(1):15–25. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5716509>
  37. Moreno G, Benavides E, Guerrero B, Cruz A. Asociación entre Seropositividad al Virus de la Diarrea Viral Bovina, *Leptospira interrogans* y *Neospora caninum*, y la Ocurrencia de Abortos en Fincas de Pequeños Productores del Cordón Lechero de Boyacá, Colombia. *Rev Investig Vet del Perú* [Internet]. 2017;28(4):1002. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/12850/12438>
  38. Tamay L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Medigraphic* [Internet]. 2013;Volumen 2:9. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdis/ir-2013/ir132d.pdf>

39. González K. Estudio de la prevalencia de Diarrea Viral Bovina en ganaderías del Cantón Saraguro, Provincia de Loja. [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2016. Available from: <http://dspace.unl.edu.ec:9001/jspui/bitstream/123456789/11259/1/tesis%20final%20ESTUDIO%20DE%20LA%20PREVALENCIA%20DE%20DIARREA%20VIRAL%20BOVINA%20EN%20GANADER%20C3%8DAS%20DEL%20CANT%20C3%93N%20SARAGURO%20C%20PROVINCIA%20DE%20LOJA%20E2%80%9D.pdf>
40. Escudero L, Morales N. Determinación De La Prevalencia E Incidencia De Diarrea Viral Bovina De Seis Hatos Ganaderos De La Parroquia Canuto, Cantón Chone En La Provincia De Manbí. 2013. Available from: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2894>
41. Labanda J. Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en vacas lecheras de las ganaderías del cantón Loja [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2015. Available from: [http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10258/1/tesis Jorge Amable Labanda González.pdf](http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10258/1/tesis%20Jorge%20Amable%20Labanda%20Gonz%C3%A1lez.pdf)

## 8. ANEXOS



**Anexo 1. Materiales a utilizar**



**Anexo 2. Materiales a utilizar**



**Anexo 3. Materiales a utilizar**

**Finca #1**



**Anexo 4.** Toma de muestras ganadería Nicvana



**Anexo 5.** Toma de muestras ganadería Nicvana



**Anexo 6.** Toma de muestras ganadería Nicvana

**Finca #2**



**Anexo 7.** Toma de muestras ganadería Las Lomas





**Anexo 8.** Toma de muestras ganadería Las Lomas



**Anexo 9.** Toma de muestras ganadería Las Lomas



**Anexo 10.** Toma de muestras ganadería Las Lomas



**Anexo 11.** Toma de muestras ganadería Las Lomas



**Finca 3**



**Anexo 12.** Toma de muestras ganadería Karfel

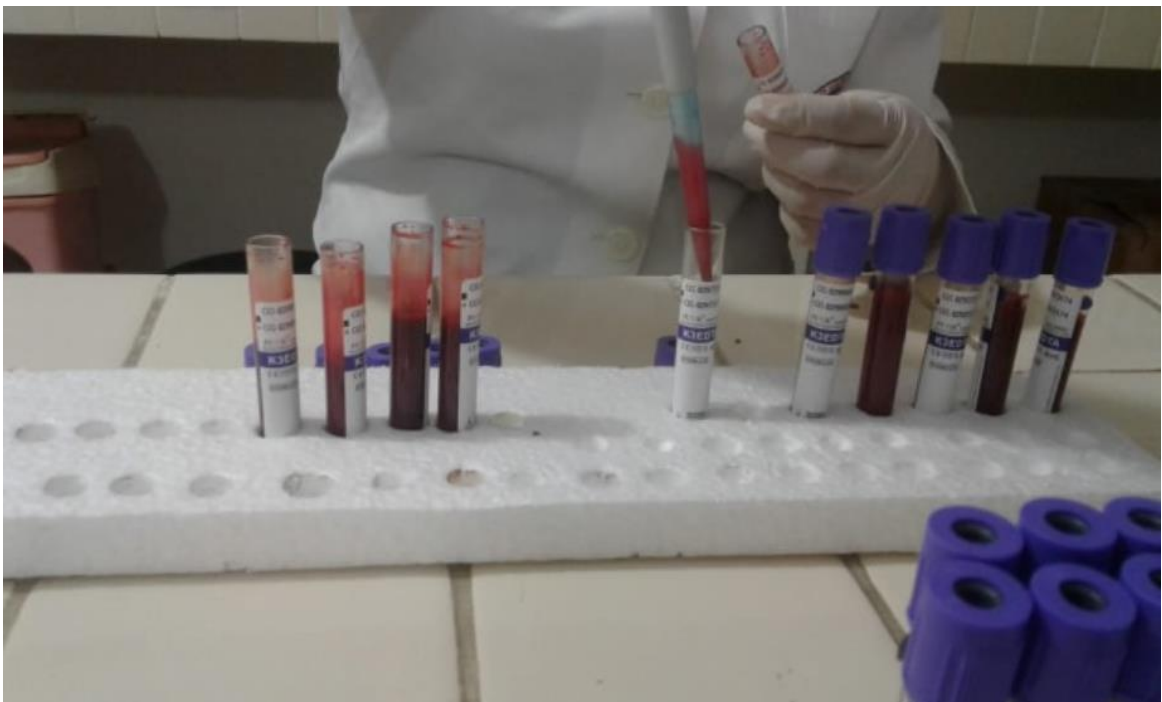


**Anexo 13.** Toma de muestras ganadería Karfel

## Laboratorio



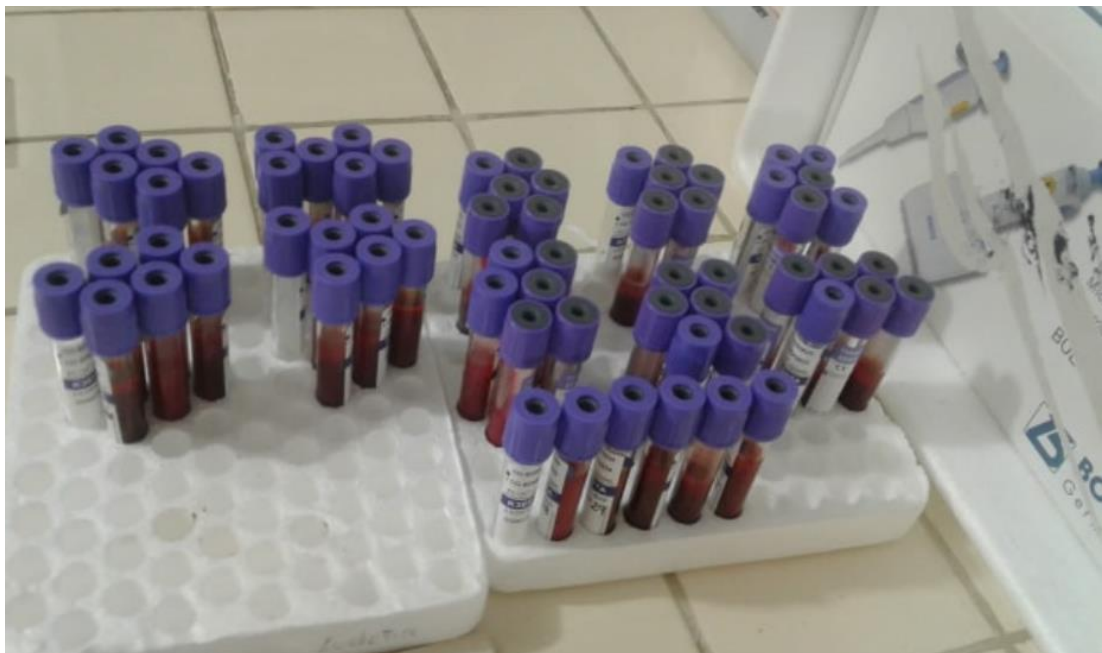
**Anexo 14.** Realización de pooles



**Anexo 15.** Realización de pooles




**Anexo 16.** Realización de pooles



**Anexo 17.** Pooles para envío de laboratorio



Anexo 18. Orden de trabajo de Agrocalidad para envío de muestras.

 <p><b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO</p>	<b>LABORATORIOS DE LA DIRECCIÓN DE DIAGNÓSTICO ANIMAL</b> <b>*ORDEN DE TRABAJO</b> No. Secuencial: 07-2019-65		PGC/LA/03-FO06	
			Rev. 8	
			Hoja N° __	

<b>1. DATOS DEL REMITENTE</b>				
EMPRESA/INSTITUCIÓN: <i>Universidad Técnica de Machala</i>		TELÉFONOS: <i>0991965947</i>		DIRECCIÓN: <i>11<sup>a</sup> Norte entre Santa Rosa y Ulela</i>
NOMBRE DE QUIÉN ENVÍA: <i>Lesly Michelle Carrillo</i>		CORREO ELECTRÓNICO: <i>michelle_9434@hotmail.com</i>		

<b>2. DATOS DE LA(S) MUESTRA(S)</b>				
PROPIETARIO: <i>Dr. Iván Ludeña</i>		TELÉFONO: <i>0969701218</i>		
No. CÉDULA/RUC: <i>0702604760</i>		CORREO ELECTRÓNICO: <i>ludeña@utmachala.edu.ec</i>		
NOMBRE DEL PREDIO: <i>PICUANA</i>		GEOREFERENCIA	MSNM:	X: Y:
PROVINCIA: <i>EL ORO</i>	CANTÓN: <i>Santa Rosa</i>	PARROQUIA:		
LOCALIDAD/ DIRECCIÓN: <i>Km 1 Vía Puerto Jeli</i>				
No. TOTAL DE ANIMALES:	No. DE ANIMALES ENFERMOS:	No. DE ANIMALES MUERTOS:	FECHA DE MUESTREO: <i>25/08/2019</i>	
MUESTREADO POR: <i>Lesly Michelle Carrillo Corea</i>		FECHA DE ENVÍO: <i>27/08/2019</i>		
DIAGNÓSTICO SOLICITADO (ENFERMEDAD/TÉCNICA): <i>Diagnóstico Viral Bovina mediante PCR</i>		MÉTODO/S: <i>PEE/18/19</i>		

<b>3. DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN A LA(S) MUESTRA(S)</b>				
No. FACTURA: <i>016-001-000001560</i>	No. Evento SIZSE: _____	HOJA DE FILIACIÓN: <input type="checkbox"/>		
No. MEMORANDO: _____	OTROS (especifique): _____			

<b>4. TIPO DE CLIENTE</b>				
CLIENTE INTERNO:	VIGILANCIA PASIVA: <input type="checkbox"/>	VIGILANCIA ACTIVA: <input type="checkbox"/>	CUARENTENA: <input type="checkbox"/>	OTRO: <input type="checkbox"/> (especifique): _____
				CLIENTE EXTERNO: <input checked="" type="checkbox"/>

<b>5. PRESERVACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S)</b>				
NINGUNA: <input type="checkbox"/>	REFRIGERACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>	CONGELACIÓN: <input type="checkbox"/>	FORMOL: <input type="checkbox"/>	ALCOHOL: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique): _____

<b>6. TIPO DE MUESTRAS ENVIADAS</b>				7. No. MUESTRAS REMITIDAS
SUERO SANGUÍNEO: <input type="checkbox"/>	SANGRE (+EDTA): <input checked="" type="checkbox"/>	TEJIDO: <input type="checkbox"/>	HISÓPOS: <input type="checkbox"/>	VACUNAS: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique): _____
				5

<b>8. ESPECIE MUESTREADA</b>				
PORCINO: <input type="checkbox"/>	EQUINO: <input type="checkbox"/>	BOVINO: <input checked="" type="checkbox"/>	AVES: <input type="checkbox"/>	OTROS (especifique): _____
				5

**10. DATOS ADICIONALES** (Historia, signos clínicos, hallazgos post mortem, comentarios, diagnóstico presuntivo, vacunas (especialmente fecha de aplicación de vacuna Cepa 19 para brucelosis; Laringotraqueitis Infecciosa Aviar, Bronquitis Infecciosa Aviar, Mycoplasma y Newcastle), etc. Usar hojas adicionales si es necesario).

**\*\*11. IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS** (No: número secuencial de las muestras/ID muestras: nombre, arete, lote/raza: holstein, polanchino, pietrain etc. / edad: días=d; semanas=s; meses=m; años=a; ej: 21d, 4s, 3m, 4a3m / sexo: macho=M; hembra=H).

No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C	No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C
1	Pool 1										
2	Pool 2										
3	Pool 3										
4	Pool 4										
5	Pool 5										

<b>12. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DEL REMITENTE DE LA(S) MUESTRA(S):</b>			<b>13. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DE QUIÉN RECIBE LA(S) MUESTRA(S):</b>		
NOMBRES: <i>Lesly Michelle Carrillo</i>		FECHA: <i>27/08/19</i>	NOMBRES:		FECHA:
FIRMA: <i>[Firma]</i>			FIRMA:		


<b>14. PARA USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO (Área Técnica del laboratorio)</b>					
MUESTRA(S) ACEPTADA(S) # (si/no)	Fecha:	HORA:	PLAZO DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS (días)	RECIBIDO POR (nombres y apellidos):	FIRMA:

**15. OBSERVACIONES:**




## Anexo 19. Orden de trabajo de Agrocalidad para envío de muestras.

 <b>AGROCALIDAD</b> <small>AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO</small>	<b>LABORATORIOS DE LA DIRECCIÓN DE DIAGNÓSTICO ANIMAL</b> <b>*ORDEN DE TRABAJO</b> No. Secuencial: 07-2019-66	PGC/LA/03-FO06 Rev. 8 Hoja N° __																																																																							
	<b>1. DATOS DEL REMITENTE</b>																																																																								
	EMPRESA/INSTITUCIÓN: <i>Universidad Técnica de Machala</i> TELÉFONOS: <i>099765947</i> DIRECCIÓN: <i>Machala, 11<sup>da</sup> Norte/Santa Rosa y Vela</i> NOMBRE DE QUIÉN ENVÍA: <i>Lesly Michelle Carrillo Correa</i> CORREO ELECTRÓNICO: <i>michelle_9434@hotmail.com</i>																																																																								
<b>2. DATOS DE LA(S) MUESTRA(S)</b>																																																																									
PROPIETARIO: <i>Shubert Jaime Huñor Durón</i> TELÉFONO: <i>0990871856</i> No. CÉDULA/RUC: <i>0701935082</i> CORREO ELECTRÓNICO: <i>Pincalomas70@gmail.com</i> NOMBRE DEL PREDIO: <i>Las Lomas</i> GEOREFERENCIA MSNM: X: Y: PROVINCIA: <i>El Oro</i> CANTÓN: <i>Santa Rosa</i> PARROQUIA: LOCALIDAD/ DIRECCIÓN: <i>Via a la avanzada, 2 Km del restaurant El Campestre</i>																																																																									
No. TOTAL DE ANIMALES: No. DE ANIMALES ENFERMOS: <i>0</i> No. DE ANIMALES MUERTOS: <i>0</i> FECHA DE MUESTREO: <i>28/08/2019</i> MUESTREADO POR: <i>Lesly Michelle Carrillo Correa</i> FECHA DE ENVÍO: <i>27/08/2019</i> DIAGNÓSTICO SOLICITADO (ENFERMEDAD/TÉCNICA): <i>Viremia Viral Bovina mediante PCR</i> MÉTODO/S: <i>Ice/BAH/19</i>																																																																									
<b>3. DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN A LA(S) MUESTRA(S)</b>																																																																									
No. FACTURA: <i>016-001-000001560</i> No. Evento SIZE.: HOJA DE FILIACIÓN: <input type="checkbox"/> No. MEMORANDO: OTROS (especifique):																																																																									
<b>4. TIPO DE CLIENTE</b>																																																																									
CLIENTE INTERNO: VIGILANCIA PASIVA: <input type="checkbox"/> VIGILANCIA ACTIVA: <input type="checkbox"/> CUARENTENA: <input type="checkbox"/> OTRO: <input type="checkbox"/> (especifique): CLIENTE EXTERNO: <input checked="" type="checkbox"/>																																																																									
<b>5. PRESERVACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S)</b>																																																																									
NINGUNA: <input type="checkbox"/> REFRIGERACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/> CONGELACIÓN: <input type="checkbox"/> FORMOL: <input type="checkbox"/> ALCOHOL: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique):																																																																									
<b>6. TIPO DE MUESTRAS ENVIADAS</b>																																																																									
SUERO SANGUÍNEO: <input type="checkbox"/> SANGRE (+EDTA): <input checked="" type="checkbox"/> TEJIDO: <input type="checkbox"/> HISÓPOS: <input type="checkbox"/> VACUNAS: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique):																																																																									
<b>8. ESPECIE MUESTREADA</b>																																																																									
PORCINO: <input type="checkbox"/> EQUINO: <input type="checkbox"/> BOVINO: <input checked="" type="checkbox"/> AVES: <input type="checkbox"/> OTROS (especifique):																																																																									
<b>10. DATOS ADICIONALES (Historia, signos clínicos, hallazgos post mortem, comentarios, diagnóstico presuntivo, vacunas (especialmente fecha de aplicación de vacuna Cepa 19 para brucelosis; Laringotraqueítis Infecciosa Aviar, Bronquitis Infecciosa Aviar, Mycoplasma y Newcastle), etc. Usar hojas adicionales si es necesario).</b>																																																																									
<b>**11. IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS (No: número secuencial de las muestras/ID muestras: nombre, arete, lote/raza: holstein, polanchino, pietrain etc. / edad: días=d; semanas=s; meses=m; años=a; ej: 21d, 4s, 3m, 4a3m / sexo: macho=M; hembra=H).</b>																																																																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>ID MUESTRA/RAZA</th> <th>EDAD</th> <th>SEXO</th> <th>SINTOMAS (SI/NO)</th> <th>TEMP. °C</th> <th>No.</th> <th>ID MUESTRA/RAZA</th> <th>EDAD</th> <th>SEXO</th> <th>SINTOMAS (SI/NO)</th> <th>TEMP. °C</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Pool 6</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>6</td> <td>Pool 11</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Pool 7</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>7</td> <td>Pool 12</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Pool 8</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>8</td> <td>Pool 13</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Pool 9</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>9</td> <td>Pool 14</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>Pool 10</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C	No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C	1	Pool 6					6	Pool 11					2	Pool 7					7	Pool 12					3	Pool 8					8	Pool 13					4	Pool 9					9	Pool 14					5	Pool 10										
No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C	No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C																																																														
1	Pool 6					6	Pool 11																																																																		
2	Pool 7					7	Pool 12																																																																		
3	Pool 8					8	Pool 13																																																																		
4	Pool 9					9	Pool 14																																																																		
5	Pool 10																																																																								
<b>12. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DEL REMITENTE DE LA(S) MUESTRA(S):</b>																																																																									
NOMBRES: <i>Lesly Michelle Carrillo Correa</i> FECHA: <i>27/08/2019</i> FIRMA: <i>[Firma]</i>																																																																									
<b>13. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DE QUIÉN RECIBE LA(S) MUESTRA(S):</b>																																																																									
NOMBRES: FECHA: FIRMA:																																																																									
<b>14. PARA USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO (Área Técnica del laboratorio)</b>																																																																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>MUESTRA(S) ACEPTADA(S) # (si/no)</th> <th>Fecha:</th> <th>HORA:</th> <th>PLAZO DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS (días)</th> <th>RECIBIDO POR (nombres y apellidos):</th> <th>FIRMA:</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>		MUESTRA(S) ACEPTADA(S) # (si/no)	Fecha:	HORA:	PLAZO DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS (días)	RECIBIDO POR (nombres y apellidos):	FIRMA:																																																																		
MUESTRA(S) ACEPTADA(S) # (si/no)	Fecha:	HORA:	PLAZO DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS (días)	RECIBIDO POR (nombres y apellidos):	FIRMA:																																																																				
<b>15. OBSERVACIONES:</b>																																																																									



Anexo 20. Orden de trabajo de Agrocalidad para envío de muestras.

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>LABORATORIOS DE LA DIRECCIÓN DE DIAGNÓSTICO ANIMAL</b> <b>*ORDEN DE TRABAJO</b> No. Secuencial: 07-2019-67		PGC/LA/03-FO06	
			Rev. 8	
			Hoja N° __	

<b>1. DATOS DEL REMITENTE</b>											
EMPRESA/INSTITUCIÓN: <i>Universidad Técnica de Machala</i>		TELÉFONOS: <i>0991965947</i>	DIRECCIÓN: <i>Machala, 11<sup>a</sup> Parte / Santa Rosa y Ulla</i>								
NOMBRE DE QUIÉN ENVÍA: <i>Lesly Michelle Carrillo Correa</i>		CORREO ELECTRÓNICO: <i>michelle_9434@hotmail.com</i>									
<b>2. DATOS DE LA(S) MUESTRA(S)</b>											
PROPIETARIO: <i>Ma. Fernanda Noblecilla</i>		TELÉFONO: _____									
No. CÉDULA/RUC: _____		CORREO ELECTRÓNICO: _____									
NOMBRE DEL PREDIO: <i>Karfel</i>		GEOREFERENCIA MSNM: X: _____ Y: _____									
PROVINCIA: <i>El Oro</i>	CANTÓN: <i>Santa Rosa</i>	PARROQUIA: _____									
LOCALIDAD/ DIRECCIÓN: <i>Via Bella Maria, cerca del Estero Medina</i>											
No. TOTAL DE ANIMALES: _____	No. DE ANIMALES ENFERMOS: <i>0</i>	No. DE ANIMALES MUERTOS: <i>0</i>	FECHA DE MUESTREO: <i>27/08/2019</i>								
MUESTREADO POR: <i>Lesly Michelle Carrillo Correa</i>		FECHA DE ENVÍO: <i>27/08/2019</i>									
DIAGNÓSTICO SOLICITADO (ENFERMEDAD/TÉCNICA): <i>Diarrea Viral Bovina mediante PCR</i>		MÉTODOS: <i>PEE / BH/19</i>									
<b>3. DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN A LA(S) MUESTRA(S)</b>											
No. FACTURA: <i>016-001-000001560</i>	No. Evento SIZSE.: _____	HOJA DE FILIACIÓN: <input type="checkbox"/>									
No. MEMORANDO: _____	OTROS (especifique): _____										
<b>4. TIPO DE CLIENTE</b>											
CLIENTE INTERNO: <input type="checkbox"/>	VIGILANCIA PASIVA: <input type="checkbox"/>	VIGILANCIA ACTIVA: <input type="checkbox"/>	CUARENTENA: <input type="checkbox"/>	OTRO: <input type="checkbox"/> (especifique): _____							
				CLIENTE EXTERNO: <input checked="" type="checkbox"/>							
<b>5. PRESERVACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S)</b>											
NINGUNA: <input type="checkbox"/>	REFRIGERACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>	CONGELACIÓN: <input type="checkbox"/>	FORMOL: <input type="checkbox"/>	ALCOHOL: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique): _____							
<b>6. TIPO DE MUESTRAS ENVIADAS</b>				7. No. MUESTRAS REMITIDAS							
SUERO SANGUÍNEO: <input type="checkbox"/>	SANGRE (+EDTA): <input checked="" type="checkbox"/>	TEJIDO: <input type="checkbox"/>	HISÓPOS: <input type="checkbox"/>	VACUNAS: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique): _____							
<b>8. ESPECIE MUESTREADA</b>				9. No. ANIMALES MUESTREADOS							
PORCINO: <input type="checkbox"/>	EQUINO: <input type="checkbox"/>	BOVINO: <input checked="" type="checkbox"/>	AVES: <input type="checkbox"/>	OTROS (especifique): _____							
10. DATOS ADICIONALES (Historia, signos clínicos, hallazgos post mortem, comentarios, diagnóstico presuntivo, vacunas (especialmente fecha de aplicación de vacuna Cepa 19 para brucelosis; Laringotraqueitis Infecciosa Aviar, Bronquitis Infecciosa Aviar, Mycoplasma y Newcastle), etc. Usar hojas adicionales si es necesario).											
**11. IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS (No: número secuencial de las muestras/ID muestras: nombre, arete, lote/raza: holstein, polanchino, pietrain etc. / edad: días=d; semanas=s; meses=m; años=a; ej: 21d, 4s, 3m, 4a3m / sexo: macho=M; hembra=H).											
No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C	No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C
1	<i>Pool 15</i>					6	<i>Pool 20</i>				
2	<i>Pool 16</i>										
3	<i>Pool 17</i>										
4	<i>Pool 18</i>										
5	<i>Pool 19</i>										
12. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DEL REMITENTE DE LA(S) MUESTRA(S):						13. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DE QUIÉN RECIBE LA(S) MUESTRA(S):					
NOMBRES: <i>Lesly Michelle Carrillo</i>			FECHA: <i>27/08/19</i>			NOMBRES: _____			FECHA: _____		
FIRMA: <i>[Firma]</i>						FIRMA: _____					
<b>14. PARA USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO (Área Técnica del laboratorio)</b>											
MUESTRA(S) ACEPTADA(S) # (s/no)	Fecha:	HORA:	PLAZO DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS (días)	RECIBIDO POR (nombres y apellidos):	FIRMA:						
15. OBSERVACIONES:											

Anexo 21. Resultados obtenidos del Laboratorio de Biología Molecular de Agrocalidad

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOOSENIARIO	<b>LABORATORIO DE BIOLOGIA MOLECULAR</b> Vía Interceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAG, Tumbaco - Quito Teléf.: (02) 3828860 ext. 2030	<b>PGT/BM/09-FO01</b>
	<b>INFORME DE ANÁLISIS</b>	<b>Rev. 7</b>
		<b>Hoja 1 de 1</b>

Informe N°: LN-BM-E19-0593  
 Fecha emisión Informe: 05/09/2019

**DATOS GENERALES**

<b>Cliente<sup>1</sup>:</b> Universidad Técnica de Machala	<b>Dirección<sup>1</sup>:</b> Machala 11 <sup>ta</sup> Norte/Santa Rosa y Vela
<b>Propietario<sup>2</sup>:</b> Dr. Iván Ludeña	<b>N° de Orden de Trabajo:</b> 07-2019-65
<b>Nombre del predio<sup>1</sup>:</b> NO INFORMA	<b>Quilpox o Factura:</b> 016-001-000001560
<b>Provincia<sup>1</sup>:</b> El Oro	<b>Dirección Predio<sup>1</sup>:</b> Km 1 Vía Puerto Jeli
<b>Parroquia<sup>1</sup>:</b> NO INFORMA	<b>Cantón<sup>1</sup>:</b> Santa Rosa
<b>Motivo del Análisis:</b> Cliente Externo	<b>Especie<sup>2</sup>:</b> Bovino
<b>Fecha de recepción de la muestra:</b> 30/08/2019	<b>N° y Tipo de muestra<sup>1</sup>:</b> 5 muestras de sangre + EDTA
<b>Fecha de muestreo<sup>1</sup>:</b> 25/08/2019	<b>Muestreado por<sup>1</sup>:</b> Lesly Michelle Carrillo Correa
<b>Fecha de inicio del análisis:</b> 02/09/2019	<b>Diagnóstico solicitado<sup>1</sup>:</b> DVB-PCR
	<b>Fecha finalización del análisis:</b> 05/09/2019

Identificación del Animal<sup>1</sup> (si aplica): NA

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS**

Código o Identificación de la muestra/Método/Técnica/Resultados/Unidades (si aplica):

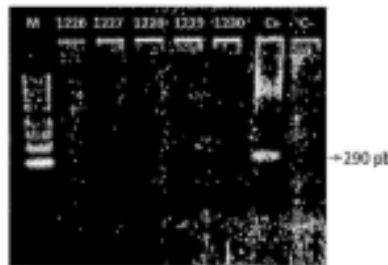
CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA <sup>1</sup>	TIPO DE MUESTRA <sup>1</sup>	MÉTODO	PARÁMETROS ANALIZADOS	RESULTADOS
BM-19-1226	Pool 1	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1227	Pool 2	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1228	Pool 3	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1229	Pool 4	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1230	Pool 5	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO

Límites de referencia (si aplica): NA

Analizado por: Ing. María Sol Vaca

Observaciones: NA

Anexo Gráficos o Anexo Documentos (si aplica):



AGROCALIDAD  
 05 SEP 2019

AGROCALIDAD  
 AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOOSENIARIO  
**RECIBIDO**  
 TUMBACO - ECUADOR

*David Jarrín*  
 Ing. David Jarrín  
 Responsable Técnico  
 Laboratorio de Biología Molecular

AGROCALIDAD  
 AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOOSENIARIO  
 LABORATORIO DE BIOLOGIA MOLECULAR  
 TUMBACO - ECUADOR

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.

Anexo 22. Resultados obtenidos del Laboratorio de Biología Molecular de Agrocalidad

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FID Y ZOOSANITARIO	<b>LABORATORIO DE BIOLOGIA MOLECULAR</b> Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAG, Tumbaco - Quito Teléf.: (02) 3828860 ext. 2030	<b>PGT/BM/09-FO01</b>
	<b>INFORME DE ANÁLISIS</b>	<b>Rev. 7</b>
		<b>Hoja 1 de 1</b>

Informe N°: LN-BM-E19-0595  
 Fecha emisión Informe: 05/09/2019

**DATOS GENERALES**

Cliente <sup>1</sup> : Universidad Técnica de Machala	Dirección <sup>1</sup> : Machala 11 <sup>ta</sup> Norte/Santa Rosa y Vela
Propietario <sup>1</sup> : Shubert Jalro Muñoz Durán	N° de Orden de Trabajo: 07-2019-67
	Quipux o Factura: 016-001-000001560
Nombre del predio <sup>1</sup> : Las Lomas	Dirección Predio <sup>1</sup> : Vía a la avanzada, 2 Km del Restaurant "El Campesino"
Provincia <sup>1</sup> : El Oro	Cantón <sup>1</sup> : Santa Rosa
Parroquia <sup>1</sup> : NO INFORMA	Especie <sup>1</sup> : Bovino
Motivo del Análisis: Cliente Externo	N° y Tipo de muestra <sup>1</sup> : 6 muestras de sangre + EDTA
Fecha de recepción de la muestra: 30/08/2019	Muestreado por <sup>1</sup> : Ledy Michelle Carrillo Correa
Fecha de muestreo <sup>1</sup> : 26/08/2019	Diagnóstico solicitado <sup>1</sup> : DVB-PCR
Fecha de inicio del análisis: 02/09/2019	Fecha finalización del análisis: 05/09/2019


Identificación del Animal<sup>1</sup> (si aplica): NA

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS**


Código o identificación de la muestra/Método/Técnica/Resultados/Unidades (si aplica):

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA <sup>1</sup>	TIPO DE MUESTRA <sup>1</sup>	MÉTODO	PARÁMETROS ANALIZADOS	RESULTADOS
BM-19-1240	Pool 15	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1241	Pool 16	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1242	Pool 17	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1243	Pool 18	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1244	Pool 19	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1245	Pool 20	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO


Límites de referencia (si aplica): NA  
 Analizado por: Ing. María Sol Vaca  
 Observaciones: NA  
 Anexo Gráficos o Anexo Documentos (si aplica):




**RECIBIDO**  
TUMBAO - ECUADOR  
05 SEP 2019




+200 pb



16 6 SEP 2019



**Ing. David Jarrin**  
Responsable Técnico  
Laboratorio de Biología Molecular



**AGROCALIDAD**  
AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FID Y ZOOSANITARIO  
LABORATORIO DE BIOLOGIA MOLECULAR  
TUMBAO - ECUADOR

**Nota:** El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.  
<sup>1</sup> Datos suministrados por el cliente. El laboratorio no se responsabiliza por esta información.



Anexo 23. Resultados obtenidos del Laboratorio de Biología Molecular de Agrocalidad

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>LABORATORIO DE BIOLOGIA MOLECULAR</b> Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAG, Tumbaco - Quito Teléf.: (02) 3828860 ext. 2030	<b>PGT/BM/09-FO01</b>
	<b>INFORME DE ANÁLISIS</b>	<b>Rev. 7</b>
		<b>Hoja 1 de 1</b>

Informe N°: LN-BM-E19-0594  
 Fecha emisión Informe: 05/09/2019

**DATOS GENERALES**

<b>Cliente<sup>1</sup>:</b> Universidad Técnica de Machala	<b>Dirección<sup>1</sup>:</b> Machala 11 <sup>va</sup> Norte/Santa Rosa y Vela
<b>Propietario<sup>1</sup>:</b> Ma. Fernanda Noblecilla	<b>N° de Orden de Trabajo:</b> 07-2019-66
	<b>Quipux o Factura:</b> 016-001-000001560
<b>Nombre del predio<sup>1</sup>:</b> Karfel	<b>Dirección Predio<sup>1</sup>:</b> Vía Bella María, cerca del Estero Medina
<b>Provincia<sup>1</sup>:</b> El Oro	<b>Cantón<sup>1</sup>:</b> Santa Rosa
<b>Parroquia<sup>1</sup>:</b>	<b>Especie<sup>2</sup>:</b> Bovino
<b>Motivo del Análisis:</b> Cliente Externo	<b>N° y Tipo de muestra<sup>2</sup>:</b> 9 muestras de sangre + EDTA
<b>Fecha de recepción de la muestra:</b> 30/08/2019	<b>Muestreado por<sup>2</sup>:</b> Lesly Michelle Carrillo Correa
<b>Fecha de muestreo<sup>1</sup>:</b> 25/08/2019	<b>Diagnóstico solicitado<sup>1</sup>:</b> DVB-PCR
<b>Fecha de inicio del análisis:</b> 02/09/2019	<b>Fecha finalización del análisis:</b> 05/09/2019

Identificación del Animal<sup>3</sup> (si aplica): NA

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS**

Código o identificación de la muestra/Método/Técnica/Resultados/Unidades (si aplica):

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA <sup>1</sup>	TIPO DE MUESTRA <sup>1</sup>	MÉTODO	PARÁMETROS ANALIZADOS	RESULTADOS
BM-19-1240	Pool 15	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1241	Pool 16	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1242	Pool 17	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1243	Pool 18	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1244	Pool 19	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO
BM-19-1245	Pool 20	Sangre + EDTA	PEE/BM/19	Diarrea viral bovina	NEGATIVO

Límites de referencia (si aplica): NA

Analizado por: Ing. María Sol Vaca

Observaciones: NA

Anexo Gráficos o Anexo Documentos (si aplica):



200 pb



05 SEP 2019





**Ing. David Jarrin**  
Responsable Técnico  
Laboratorio de Biología Molecular



**AGROCALIDAD**  
AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO  
LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR  
TUMBACO - ECUADOR

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.

<sup>1</sup> Datos suministrados por el cliente. El laboratorio no se responsabiliza por esta información.

**Anexo 22.** Registro de animales muestreados en las diferentes fincas del cantón santa Rosa

Nº	GANADERIA	ANIMALES	VACUNACIN	EDAD	SEXO	RAZA	ANIMALES ENFERMOS
1	NICVANA	UBRE RAJADA	NO VACUNADO	4	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
2		PINTADA1	NO VACUNADO	3	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
3		6008 NEGRA	NO VACUNADO	6	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
4		MIA	NO VACUNADO	5	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
5		BORREGA 3965	NO VACUNADO	3	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
6		BLANCA	NO VACUNADO	6	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
7		VACA AMARILLA	NO VACUNADO	3	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
8		NEGRA PINTADA	NO VACUNADO	5	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
9		153	NO VACUNADO	6	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
10		VACONA PINTADA AMARILLA	NO VACUNADO	2	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
11		FRENTE BLANCA	NO VACUNADO	4	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
12		NEGRA RABO MOCHO	NO VACUNADO	3	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
13		LA DURA	NO VACUNADO	3	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
14		CACHO BLANCO	NO VACUNADO	3	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
15		BARBY 1	NO VACUNADO	4	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
16		PANDA	NO VACUNADO	4	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
17		COLORADA	NO VACUNADO	5	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
18		COLORADA CADIONA	NO VACUNADO	3	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
19		PINTADA GRANDE	NO VACUNADO	6	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
20		PINTADA 2	NO VACUNADO	4	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
21		CACHUDA GOLPEADA	NO VACUNADO	4	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
22		ROSA 1248	NO VACUNADO	5	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO

23		LA TUERTA	NO VACUNADO	5	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
24		OSA PANDA	NO VACUNADO	4	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
25		CHIQUITIN	NO VACUNADO	3	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
1	LAS LOMAS	COLORADA GRANDE 894	VACUNADAS	12	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
2		ROJA 1224	VACUNADAS	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
3		548 DIANA	VACUNADAS	12	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
4		COLORADA 1219	VACUNADAS	5	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
5		1406	VACUNADAS	2	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
6		1079	VACUNADAS	8	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
7		AMARILLA	VACUNADAS	3	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
8		NEGRA PUNTO EN LA FRENTE 6	VACUNADAS	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
9		ANTONIA	VACUNADAS	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
10		139	VACUNADAS	5,1	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
11		SONIA 91	VACUNADAS	4,9	HEMBRA	GYR	NEGATIVO
12		DOMENICA	VACUNADAS	4,1	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
13		PALOMILLA 135	VACUNADAS	5,4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
14		NEGRA DOS AGUJEROS/OREJA	VACUNADAS	3,2	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
15		143	VACUNADAS	3,2	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
16		LUISA C63	VACUNADAS	3,9	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
17		LUKITA 109	VACUNADAS	4,2	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
18		133	VACUNADAS	5,4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
19		PARDA C73	VACUNADAS	3,1	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
20		BURRA 284	VACUNADAS	6,1	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
21		VACONA 1248	VACUNADAS	1,4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
22		CELENA GUAYAS 02	VACUNADAS	7,1	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
23		C3	VACUNADAS	7,6	HEMBRA	GYR	NEGATIVO
24		HIJA ROMERO 91	VACUNADAS	3,7	HEMBRA	GYR	NEGATIVO
25		ARIANNA	VACUNADAS	4,9	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
26		MISTERIOSA	NO VACUNADO	1,5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
27		ATILIO	VACUNADAS	1,8	MACHO	GYR	NEGATIVO
28		303	VACUNADAS	1,3	HEMBRA	GYR	NEGATIVO
29	PALOMILLA	VACUNADAS	4,1	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO	
30	LIDERESA	VACUNADAS	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO	

31		COLORADA 1387	VACUNADAS	2	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
32		AMARILLA CARA BLANCA 1398	VACUNADAS	2	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
33		NEGRA CARA BLANCA 1369	VACUNADAS	2	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
34		ROSALIA 1351	VACUNADAS	3	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
35		COLORADA AMARILLA 1140	VACUNADAS	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
36		ROJA 1383	VACUNADAS	2	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
37		COLORADA	VACUNADAS	3	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
38		NEGRA 21	VACUNADAS	6	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
39		VACONA	VACUNADAS	0,9	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
40		AMARILLA 1304	VACUNADAS	6	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
41		VACONA AMARILLA	VACUNADAS	2	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
42		AMARILLA CABEZA BLANCA 66	VACUNADAS	5	HEMBRA	BRAHMAN MESTIZA	NEGATIVO
43		PINTADA 704	VACUNADAS	12	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
44		ENCERADA 1148	VACUNADAS	7	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
45		ENCERADA CON BLANCO 713	VACUNADAS	4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
1	KARFEL	1242	NO VACUNADO	5	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
2		VACONA AMARILLA	NO VACUNADO	2	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
3		VACA BLANCA 1360	NO VACUNADO	3	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
4		1053	NO VACUNADO	8	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
5		1348	NO VACUNADO	3	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
6		755	NO VACUNADO	12	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
7		1149	NO VACUNADO	7	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
8		1287	NO VACUNADO	4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
9		1135	NO VACUNADO	7	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
10		NEGRA	NO VACUNADO	7	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
11		1272	NO VACUNADO	8	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO

12	1027	NO VACUNADO	9	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
13	1268	NO VACUNADO	4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
14	AMARILLA	NO VACUNADO	7	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
15	1180	NO VACUNADO	6	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
16	119	NO VACUNADO	4,5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
17	103	NO VACUNADO	4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
18	1107	NO VACUNADO	7	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
19	1220	NO VACUNADO	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
20	1271	NO VACUNADO	4	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
21	1083	NO VACUNADO	8	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
22	1221	NO VACUNADO	5	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
23	825 NARANJA	NO VACUNADO	6	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
24	133	NO VACUNADO	5	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
25	104	NO VACUNADO	4	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
26	111 MARILIN	NO VACUNADO	3	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
27	211	NO VACUNADO	5	HEMBRA	MESTIZA	NEGATIVO
28	109	NO VACUNADO	4	HEMBRA	PARDO SUIZO	NEGATIVO
29	9165	NO VACUNADO	8	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO
30	155 MANCHITA	NO VACUNADO	4	HEMBRA	HOLSTEIN MESTIZA	NEGATIVO