

Detección de anticuerpos contra el virus de Diarrea Viral Bovina (VDVB) en tanques de leche en la Provincia de El Oro, Ecuador

Detection of antibodies against Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in milk tanks in the Province of El Oro, Ecuador

Nota Técnica

Fernando Aguilar-Gálvez^{1,2,3,5*} , Anthony Román-Olaya¹ , Robert Sánchez-Prado^{1,2} , Iván Ludeña-Jiménez^{1,2} ,
María José Dus-Santos⁴ , Gabriela Carruyo-Núñez⁵ 

¹Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador.

²Grupo de Investigación en Producción de Alimentos y Sanidad Animal (GIPASA).

³Laboratorio de diagnóstico ANIMAL LIFE, Machala, Ecuador.

⁴Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuarias (INTA). Buenos Aires, Argentina.

⁵Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinaria, Maracaibo, Venezuela.

*Autor para correspondencia: flaguilar@utmachala.edu.ec

RESUMEN

La diarrea viral bovina (DVB) es una enfermedad infecciosa crónica causada por el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), miembro del género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae*. La misma se asocia con una amplia gama de manifestaciones clínicas produciendo pérdidas económicas significativas en la industria ganadera a nivel mundial, principalmente debidas a fallas reproductivas. En la Provincia de El Oro no existen estudios que evidencien de manera directa o indirecta la circulación del VDVB. Sin embargo, estudios de seroprevalencia en otras provincias del país sugieren una amplia circulación viral. El objetivo de este trabajo fue evidenciar la presencia de anticuerpos específicos para VDVB excretados en leche de vacas en producción en pequeños establos en la Provincia de El Oro (Sur del Ecuador), haciendo uso del kit comercial de Elisa de bloqueo para diagnóstico CIVTEST® BOVIS BVD/BD p80 (Laboratorios HIPRA, Spain). Para ello se realizó la toma de 34 muestras de leche en tanques de almacenamiento y se analizaron mediante el uso de este kit. Hubo una alta frecuencia de detección del 52,94 %, de anticuerpos contra VDVB, lo que evidencia de manera indirecta la circulación del virus de diarrea viral bovina en la zona de estudio. El cantón El Guabo presentó la mayor frecuencia de muestras positivas con 100 % de presencia de anticuerpos, el Cantón Chilla con 42,84 % y Santa Rosa con 37,5 %. El Cantón con menor prevalencia fue Machala con 25 %. Estos resultados permiten evidenciar la circulación del VDVB en los predios estudiados ya que, en los mismos no se aplican vacunas contra DVB dentro de sus planes sanitarios. Se recomienda llevar a cabo estudios epidemiológicos enfocados en evaluar el alcance de esta enfermedad y los problemas reproductivos que pueda generar en los rebaños del país. Igualmente, establecer programas de control sanitario y perfiles reproductivos en las diferentes ganaderías para mejorar su rendimiento productivo.

Palabras clave: VDVB; ELISA; tanques de leche; diarrea viral; bovinos

ABSTRACT

Bovine Viral Diarrhea (BVD) is a chronic infectious disease caused by Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), a member of the *Pestivirus* genus in the *Flaviviridae* family. It is associated with a wide range of clinical manifestations, leading to significant economic losses in the global livestock industry, mainly due to reproductive failures. In the El Oro Province, there are no studies of direct or indirect evidence of BVDV circulation. However, seroprevalences studies in other provinces suggest widespread viral circulation. The aim of this study was to demonstrate the presence of specific antibodies against BVDV excreted in the milk of cows in production from small stables in the El Oro Province (Southern Ecuador), using the commercial Elisa blocking kit for diagnosis CIVTEST® BOVIS BVD/BD p80 (HIPRA Laboratories, Spain). Hence, 34 milk samples were taken from storage tanks and analyzed using this kit. There was a high detection frequency of 52.94% of antibodies against BVDV, indirectly indicating the circulation of the bovine viral diarrhea virus in the study area. The Canton El Guabo resulted in the highest frequency of positive samples with 100% presence of antibodies, Chilla Canton with 42.84%, and Santa Rosa with 37.5%. The Canton with the lowest prevalence was Machala with 25%. These results indirectly demonstrate the circulation of BVDV in the studied herds since no vaccines against BVD are applied in their health plans. It is recommended to conduct epidemiological studies focused on assessing the extent of this disease and the reproductive problems it may cause in the country's herds. Likewise, establish sanitary control programs and reproductive profiles in different livestock operations to improve their productive performance.

Key words: BVDV; ELISA; milk tanks; viral disease; cattle

INTRODUCCIÓN

La diarrea viral bovina (DVB) es una enfermedad infecciosa causada por el virus de DVB (VDVB). Este virus es miembro del género *Pestivirus* ubicado dentro de la familia *Flaviviridae*. Dentro del género *Pestivirus* destaca la especie reconocida como virus de la diarrea viral bovina 1 (VDVB - 1), virus de la diarrea viral bovina 2 (VDVB - 2), enfermedad de la frontera (por sus siglas en inglés, BDV) y el virus de la peste porcina clásica (por sus siglas en inglés, CSFV), y se han propuesto varias especies nuevas, como "Pestivirus jirafa-1", "Pestivirus antilope berrendo - tivirus", "virus Bungowannah" y virus "Hobi-like" [1]. Según su tropismo, estos virus infectan a cerdos y rumiantes, incluidos bovinos, ovinos, caprinos y rumiantes salvajes, y pueden transmitirse por contacto con secreciones infectadas, como orina, heces o partículas respiratorias [2]. El VDVB es considerado uno de los agentes infecciosos más importantes del ganado bovino [3, 4]. La DVB es una enfermedad de evolución crónica, a la cual se le atribuye pérdidas económicas significativas en la industria ganadera a nivel mundial, principalmente ocasionadas como consecuencia de fallas reproductivas [5, 6]. Esta enfermedad tiene una distribución mundial y tiende a ser endémica en la mayoría de las ganaderías bovinas, donde se ha estimado un nivel de seropositividad del 40 al 80 % [3, 6]. Estudios en regiones cercanas a Ecuador han demostrado frecuencias variadas de la presencia de anticuerpos a diarrea viral bovina, que van desde mayores al 80 % [7, 8], así como frecuencias menores al 20 %, como las reportadas en Perú [9].

La infección con el VDVB se asocia con una amplia gama de manifestaciones que pueden ir de subclínicas hasta clínicas en el ganado. Inicialmente, fue reconocido como el agente causal de una enfermedad gastrointestinal, ahora se sabe que el virus infecta casi todos los órganos; con particular tropismo en los sistemas inmunológico y reproductivo [10]. Las presentaciones van desde enfermedad respiratoria, trastornos gastrointestinales, síndromes hemorrágicos y problemas reproductivos como la reabsorción embrionaria, aborto, infertilidad, muerte fetal, malformaciones congénitas, momificación y como resultado de una infección transplacentaria en el primer trimestre de gestación, el nacimiento de terneros débiles o persistentemente infectados (PI), [4, 11, 12]. Los animales PI se caracterizan por ser inmunológicamente tolerantes y representan una importante fuente de infección y mayor reservorio del virus dada su constante eliminación a través de la saliva, secreción nasal, orina y heces, durante toda la vida del animal. Es por ello que, los animales PI constituyen la vía de diseminación más frecuente de la DVB [7, 10, 13]. En conjunto, todas estas particularidades dificultan la prevención y el control de la enfermedad.

Se han descrito dos biotipos del VDVB, no citopáticos (NCP) o citopáticos (CP) según su efecto sobre las células cultivadas. El biotipo NCP es la principal causa de las infecciones por VDVB. Se ha demostrado de manera confiable que este biotipo en vacas gestantes atraviesa la barrera transplacentaria invadiendo al feto. Cuando esto ocurre durante los primeros 125 días de gestación, se desarrolla una infección persistente en el feto debido a que el sistema inmunológico fetal es inmaduro. La circulación viral en el feto durante el mismo periodo de diferenciación de los linfocitos T conlleva a que los antígenos virales sean reconocidos como propios, generando inmunotolerancia y viremia persistente sin inmunoconversión. Desarrollándose la infección persistente dado que el sistema inmunitario adaptativo fallaría en el reconocimiento del virus [14, 15]. Según estudios *in vitro*, el biotipo NCP, es capaz de evadir la respuesta inmunitaria innata inhibiendo la capacidad

de producción de interferón tipo 1 (IFN-1) por parte del sistema inmunitario del hospedador. Esta propiedad del virus es crucial para una propagación exitosa. Sin embargo, hay estudios *in vivo* en los que se ha detectado la producción de IFN-1 en infecciones agudas [15, 16, 17]. La respuesta antiviral fetal afecta la respuesta inmunitaria de la madre pudiéndose detectar biomarcadores en sangre que facilitarían la identificación de vacas gestantes de animales PI [15]. Si la infección fetal ocurre a partir del tercer trimestre de gestación, se desarrolla una infección transitoria ya que el feto será inmunocompetente y capaz de desarrollar una respuesta antiviral, pero de igual forma se podrían generar abortos, nacimiento de crías débiles o crías sanas, pero en ambos casos seropositivos [17].

Los ensayos realizados para la determinación de anticuerpos por medio de pruebas de inmunoadsorción ligadas a enzimas (ELISA), se utilizan comúnmente para la vigilancia de la DVB a nivel de tanques de leche, en vista de la facilidad que tiene esta técnica para analizar un número amplio de muestras [7]. La presencia de anticuerpos en la leche se relaciona con la seropositividad de vacas lactantes para VDVB en el rebaño [18, 19]. El kit CIVTEST® BOVIS BVD/BD P80 (NS3) detecta la presencia de anticuerpos contra la proteína p80, como su nombre lo indica. La misma corresponde a la región genómica de la proteína no estructural 3 (NS3), de un tamaño de 2049 nucleótidos de largo que codifica un total de 680 aminoácidos [20]. Es importante tener en cuenta que la administración de vacunas no da lugar a niveles significativamente mayores de anticuerpos p80, por lo que la interferencia es mínima con las pruebas en tanques de leche para detectar anticuerpos contra VDVB, haciendo compatible con los programas de vigilancia [21]. Sin embargo, se debe tener en consideración que la concentración de virus o anticuerpos en los tanques de almacenamiento de leche es menor a la concentración en el suero sanguíneo [22]. Esta adaptación de la técnica de ELISA constituye una alternativa económica y confiable para monitorear la evolución de los programas de control de este grupo de enfermedades, en vista de obtenerse información sobre el estado de un grupo de animales en una sola muestra. El presente estudio tuvo como objetivo determinar el estado actual de la circulación del virus de la diarrea viral bovina en tanques de leche a nivel de pequeños establos en la Provincia de El Oro (Sur del Ecuador).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área y población de estudio

El presente trabajo se realizó en un total de 34 tanques de leche fresca (n = 34), provenientes de 13 ganaderías de los 4 cantones (Guabo, Santa Rosa, Chilla y Machala) más representativos en producción lechera en la Provincia de El Oro (Ecuador). Un total de 306 animales fueron muestreados, con un estimado entre 8 a 10 animales por tanque, y entre 2 a 3 tanques por ganadería. En su mayoría los animales que aportaron leche al tanque en el día de la colección, tenían entre 1 a 3 partos, con una media de 7 a 10 litros por vaca, y ninguno de los animales presentó registro o historia de vacunación para DVB en la zona. Las 13 ganaderías seleccionadas para este estudio representan el 14,77 % del total de ganaderías de la zona con una población superior a 50 animales. En la entrevista realizada con los ganaderos, todos los hatos seleccionados para el estudio presentaron sistemas de producción cerrados con medianos niveles de tecnificación y escasos programas de vacunación, así como limitadas o nulas asesorías técnicas profesionales.

Recolección de la muestra

Para la recolección de las muestras se estuvo presente durante el tiempo de ordeño, donde se realizó la identificación de cada animal, así como de los tanques de leche de la producción del día. Una vez finalizado el ordeño se procedió a la recolección de la muestra de leche desde los tanques de almacenamiento de leche (TAL), estos no eran refrigerados y tenían una capacidad de 40 L. Se inició el muestreo con la esterilización de una varilla recolectora, luego se introdujo la misma en el tanque y se mezcló en sentido horario/antihorario asegurando la homogeneización de la muestra, procediendo finalmente a coleccionar la misma. Inmediatamente a la homogenización, se tomó desde el fondo del tanque un volumen de leche de aproximadamente 50 mL y se colocó en el frasco estéril de almacenamiento (recipiente comercial para orina) y se cerró herméticamente. Finalmente, se procedió a rotular el frasco para la identificación; las muestras recolectadas fueron colocadas en un transportador portátil refrigerante (cooler +2°C a +4°C), para su posterior traslado al laboratorio. Todas las muestras fueron trabajadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala (Utmach). Una vez extraídas fueron llevadas a refrigeración (Indurama refrigerador, RI 580 MF QUA METAL NOF S01 – Ecuador), a temperaturas de +2°C a +4°C. Luego de esto se procesaron las muestras en un periodo no mayor de 24 horas, manteniendo las condiciones establecidas para el kit de trabajo y según las recomendaciones del fabricante.

Preparación de ELISA

La presencia de anticuerpos de VDBV se determinó mediante el uso de un kit comercial de ensayo de inmuoadsorción ligado a enzimas para detección de anticuerpos contra la proteína p80 por bloqueo (CIVTEST® BOVIS BVD/BD P80; HIPRA, Lab. HIPRA, España). La especificidad del kit CIVTEST® BOVIS BVD/BD P80 (NS3), puede detectar incluso animales infectados por el tipo Hobi-like. Adicionalmente, este ELISA de bloqueo, muestra una alta sensibilidad, permitiendo un mejor análisis semicuantitativo de las muestras, dada su resolución para diferenciar entre positivos bajos y positivos altos [22]. Para el procesamiento de las muestras se respetó las instrucciones dispuestas por el fabricante. La sensibilidad y especificidad del test de diagnóstico es del 95,2 % y 92,3 %, respectivamente, de acuerdo al fabricante [23]. Para el manejo de las muestras se dejó que todos los reactivos alcanzaran temperatura ambiente y se aseguró que las mismas se mezclaran homogéneamente. Las muestras fueron desnatadas por centrifugación (Hettich, centrífuga Mikro 200 – Alemania), a 1000 G, durante 15 min a +4°C. Para el ensayo de ELISA se utilizó el suero de leche recuperado que se hallaba por debajo de la fracción de nata formada después del centrifugado.

El protocolo utilizado en el ensayo fue por medio de incubación corta, siguiendo las instrucciones establecidas para el kit de trabajo (CIVTEST Bovis BVD/BD P80, Lab. Hipra, España).

CIVTEST BOVIS BVD/BD P80 se considera una prueba de elevada confiabilidad con una sensibilidad del 96,3 % y una especificidad del 99,5 % para DVB [24], existiendo múltiples trabajos publicados sobre su uso y aplicabilidad diagnóstica [23, 24, 25, 26, 27, 28].

LECTURA DE ELISA

Para la lectura de los resultados se utilizó el lector de microplaca de ELISA equipado con un filtro de 450 nm (RT-6900 Microplate reader, Rayto – China). Una vez registrados los datos se procedió a la validación e interpretación.

Validación de resultados

Determinar la validez del ensayo es parte fundamental para la lectura de los resultados, ya que mediante los datos obtenidos de los controles positivos y negativos se garantiza el nivel de confiabilidad de la prueba diagnóstica (ELISA).

La validación se realizó con los valores obtenidos en el lector de Elisa en los controles positivos y negativos. El test se consideró válido si el valor de la densidad óptica (DO) media del control negativo correspondía a un valor mayor a 0,65 y el control positivo presentara un porcentaje de inhibición (IN %) mayor a 60. Para la interpretación de los resultados las lecturas de DO₄₅₀ obtenidas fueron transformadas en porcentajes de inhibición (IN %) utilizando la siguiente fórmula (en ella se utiliza el promedio de DO obtenidas en las 2 réplicas del control negativo) y de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (CIVTEST Bovis BVD/BD P80, Lab. Hipra, España).

Fórmula utilizada para el cálculo de los porcentajes de inhibición:

$$IN \% = \left[\frac{\text{Promedio } DO_{450} \text{ Control Negativo} - DO_{450} \text{ Muestra}}{\text{Promedio } DO_{450} \text{ Control Negativo}} \right] \times 100$$

Interpretación de resultados

La interpretación de los resultados se realizó según los criterios e indicaciones del fabricante del kit diagnóstico. El volumen de leche que se tomó por tanque es equivalente a un pool, ya que el mismo estaba compuesto por leche aportada por un número heterogéneo de vacas. Teniendo esto en cuenta, el valor de prevalencia a partir de la muestra de tanque debe considerarse como orientativo, sugerido por el fabricante como prevalencia orientativa (PO). Para la interpretación de los resultados se consideró como muestras NEGATIVAS aquellas que presentaban un porcentaje de inhibición inferior a 35 %; considerándose una prevalencia de animales positivos inferior al 10 %. Las muestras que presentaron un porcentaje de inhibición mayor o igual a 35 % e inferior a 60 % correspondieron a las POSITIVAS + (LOW POS), estimándose una prevalencia de animales positivos mayor del 10 % e inferior al 30 %. Finalmente, aquellas muestras que presentaron un porcentaje de inhibición igual o superior a 60 % se consideraron POSITIVOS ++ (HIGH POS), es decir una prevalencia de animales positivos superior al 30 %.

Análisis de datos

El manejo de los datos y análisis estadístico se desarrolló mediante tablas de contingencia para una prueba no paramétrica de ji cuadrado con una confiabilidad del 95 %, utilizando el software estadístico SPSS versión 22 [29].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se muestran los datos de las densidades ópticas (DO) obtenidas y el correspondiente porcentaje de inhibición (IN %) una vez aplicada la fórmula para su cálculo, así como la interpretación de los resultados obtenidos de las muestras analizadas en cada Cantón.

El 52,94 % (18/34) de las muestras de los TAL, se detectaron anticuerpos contra VDVB evidenciando una alta seroreactividad en la zona, lo que sugiere la presencia de vacas en lactancia con infección activa o recuperadas. Innegablemente se evidencia una interacción natural con el virus ya que en los predios incluidos en este estudio no se reporta aplicación de vacunas. Asimismo, se debe tener en cuenta que la aplicación de vacunas para DVB no genera niveles

TABLA I
Resultados obtenidos a través del ELISA en muestras de TAL en cuatro cantones de la Provincia de El Oro

Número de tanque	Cantón	IN %*	Interpretación de la prueba de ELISA
1	Guabo	55,00	LOW POS
2	Guabo	58,35	LOW POS
3	Guabo	52,04	LOW POS
4	Guabo	61,37	HIGH POS
5	Guabo	75,02	HIGH POS
6	Guabo	66,07	HIGH POS
7	Guabo	53,13	LOW POS
8	Guabo	73,22	HIGH POS
9	Santa Rosa	-7,287	NEG
10	Santa Rosa	40,85	LOW POS
11	Santa Rosa	24,23	NEG
12	Santa Rosa	22,51	NEG
13	Chilla	-0,86	NEG
14	Chilla	-0,67	NEG
15	Chilla	-4,30	NEG
16	Chilla	66,74	HIGH POS
17	Chilla	55,63	LOW POS
18	Chilla	-3,28	NEG
19	Chilla	9,28	NEG
20	Chilla	19,50	NEG
21	Chilla	1,37	NEG
22	Chilla	-10,24	NEG
23	Chilla	44,57	LOW POS
24	Chilla	41,54	HIGH POS
25	Chilla	76,33	HIGH POS
26	Chilla	42,02	LOW POS
27	Santa Rosa	6,083	NEG
28	Santa Rosa	-10,06	NEG
29	Santa Rosa	46,00	LOW POS
30	Santa Rosa	48,94	LOW POS
31	Machala	-3,54	NEG
32	Machala	-6,38	NEG
33	Machala	0,02	NEG
34	Machala	30,36	LOW POS

*: Los valores obtenidos están expresados en porcentaje de inhibición (IN %)

significativos de anticuerpos contra p80 por lo que no interfieren con el método diagnóstico [22]. A nivel cantonal, El Guabo presentó la mayor frecuencia de positividad, donde en 100 % (8/8) de los tanques muestreados se detectó la presencia de anticuerpos contra VDVB, seguido del Cantón Chilla con 42,84 % (6/14) y Santa Rosa con 37,5 % (3/8). El Cantón con menos frecuencia de anticuerpos para VDVB fue Machala con 25 % (1/4). En relación al total de muestras de tanque positivas (18/34), la mayor frecuencia con 61,11 % (11/18) fueron

representadas por las muestras LOW POS, mientras que 38,88 % (7/18), fueron animales HIGH POS (TABLA II).

TABLA II
Distribución por Cantón de los resultados interpretados según los criterios de NEGATIVIDAD, BAJO POSITIVO y ALTO POSITIVO

Cantón	NEG (%)	PO (%)	LOW POS (%)	PO (%)	HIGH POS (%)	PO (%)	TOTAL
Guabo	0 (0,00)	< 10	4 (50,00)	10 - 30	4 (50,00)	> 30	8
Santa Rosa	5 (62,50)	< 10	3 (37,50)	10 - 30	0 (0,00)	0	8
Chilla	8 (57,14)	< 10	3 (21,42)	10 - 30	3 (21,42)	> 30	14
Machala	3 (75,00)	< 10	1 (25,00)	10 - 30	0 (0,00)	0	4
Total	16 (47,05)	< 10	11 (32,35)	10 - 30	7 (20,58)	> 30	34

PO = Prevalencia orientativa (Interpretación sugerida por el fabricante)

Mapa de distribución

En este estudio, se pudo determinar que todos los Cantones muestreados presentaron circulación del VDVB, con niveles diferentes de prevalencia orientativa como se muestra en la FIG. 1.

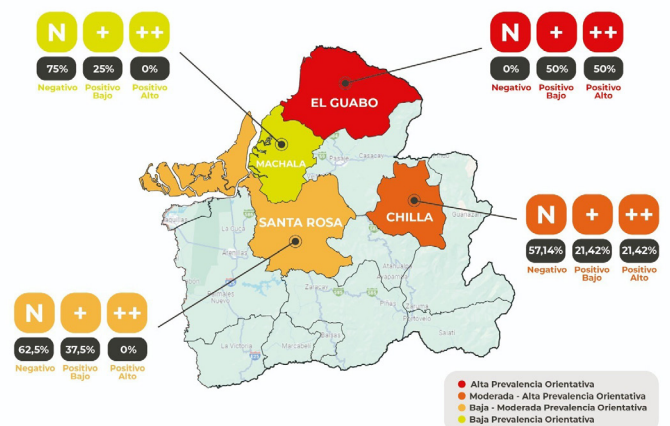


FIGURA 1. Mapa de distribución de seropositividad frente al VDVB en los Cantones muestreados

El grupo de tanques negativos correspondió al 47,05 %, presentando una PO menor al 10 %, el grupo de baja positividad (32,35 %), le correspondió una PO de entre el 10 al 30 %, mientras que el grupo de alta positividad (20,58 %), una PO superior al 30 % de presencia de anticuerpos a VDVB en TAL (TABLA II). Utilizando una prueba no paramétrica por la naturaleza de los datos fue posible confirmar la hipótesis de que los tanques de leche positivos están afectados por el lugar de residencia de los animales, encontrándose una asociación estadísticamente significativa (P-valor de 0,021), siendo el cantón el Guabo el más afectado con el 100 % de presencia de anticuerpos contra VDVB. La frecuencia alta encontrada en el cantón el Guabo se puede atribuir a las pobres condiciones sanitarias y de manejo que presentaron estas ganaderías al no contar con ningún sistema de supervisión veterinario y escasos controles en la entrada de animales nuevos.

De acuerdo a la bibliografía disponible no se encontraron datos referentes a la detección de anticuerpos contra el VDVB en muestras de suero de leche. Hasta la fecha los estudios publicados en el Ecuador hacen solo referencia a la detección de anticuerpos en suero sanguíneo reportando seroprevalencias de 14,73 %, 18 % y 31,52 % en los cantones de Latacunga, Tungurahua y Cañar, respectivamente [30, 31, 32]. Investigaciones realizadas en países vecinos sobre presencia de anticuerpos contra VDVB, han demostrado frecuencias relativamente altas (Venezuela 63,2 %; Perú 74,4 % y Colombia 41,7 %), a lo que se debe considerar que son estudios realizados en animales sin antecedentes de vacunación [33, 34, 35]. Así mismos trabajos publicados en países como México han presentado frecuencias altas que van desde 56,7 %, hasta 76 % [27, 24].

Los estudios de frecuencia realizados en TAL no difieren en relación a los encontrados en suero sanguíneo, presentándose de igual forma porcentajes relativamente altos en la zona. Países como Colombia y Argentina han realizado estudios utilizando suero de leche obtenidas en TAL, en los cuales han reportado seroprevalencias del 60,1 % y 99,24 % respectivamente [36, 8]. Esto establece una alta positividad a la presencia de anticuerpos contra el VDVB en suero de leche. Es así que podemos entender la gran utilidad del diagnóstico en TAL, especialmente para estudios epidemiológicos, ya que permite evidenciar la presencia de anticuerpos por infección natural del VDVB en pocas muestras y confirmar la circulación de la enfermedad en la zona. Si bien tenemos que entender que la prevalencia real de la enfermedad debería ser registrada sobre el estudio individual de los animales, el muestreo grupal por medio de los TAL permite una rápida y económica aproximación a la presencia de la DVB en la zona, haciéndolo muy útil en grandes rebaños, programas de control y seguimiento de DVB, ferias ganaderas, lugares de expendio de leche, entre otros.

CONCLUSIONES

Este estudio, es una aproximación a la realidad de la DVB en la provincia del Oro (Ecuador), y expresa la amplia difusión del virus en los hatos ganaderos muestreados, ya que en un alto porcentaje de los TAL (52,94 %) fue posible la detección de anticuerpos contra el VDVB. El estudio realizado permite establecer una línea base en cuanto a la circulación del virus de DVB en los hatos ganaderos de la Provincia de El Oro, en vista que en ninguno de ellos se aplicaba vacunación contra esta enfermedad y los animales se encontraban aparentemente sanos. Se demostró la necesidad de llevar el diagnóstico de DVB en los hatos lecheros de la zona, ya que la detección de anticuerpos anti VDVB en vacas lactantes pudiera implicar la presencia de animales PI dentro del rebaño.

RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de métodos diagnósticos de fácil aplicabilidad e interpretación a nivel de campo y/o laboratorio que permitan valorar la condición sanitaria de los hatos ganaderos en la zona, así como la identificación de animales PI. Igualmente, establecer programas de control sanitario y perfiles reproductivos en las diferentes ganaderías para mejorar su rendimiento productivo. Y finalmente, planificar y desarrollar estudios epidemiológicos dirigidos a la detección, evaluación y comunicación del riesgo para luego implementar medidas de control de la DVB y así poder disminuir las pérdidas económicas causadas por el virus.

AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala por su continuo apoyo a la investigación de campo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses con la publicación de esta investigación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Mósena AC, Weber MN, Cibulski SP, Silveira S, Silva MS, Mayer FQ, Canal CW. Genomic characterization of a bovine viral diarrhoea virus subtype 1i in Brazil. Arch. Virol. [Internet]. 2017; 162(4):1119–1123. doi: <https://doi.org/f93hwb>
- [2] Simmonds P, Becher P, Bukh J, Gould EA, Meyers G, Monath T, Muerhoff S, Pletnev A, Rico-Hesse R, Smith DB, Stapleton JT, ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Flaviviridae*. J. Gen. Virol. [Internet]. 2017; 98(1):56–61. doi: <https://doi.org/f9wh5r>
- [3] Motta-Giraldo JL, Waltero-García I, Abeledo MA. Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina, Herpesvirus bovino 1 y Herpesvirus bovino 4 en bovinos y búfalos en el Departamento de Caquetá, Colombia. Rev. Salud. Anim. [Internet]. 2013 [consultado 29 Nov. 2023]; 35(3):174–181. Disponible en: <https://goo.su/xvWe>
- [4] Nettleton PF, Entrican G. Ruminant pestiviruses. Br. Vet. J. [Internet]. 1995; 151(6):615–642. doi: <https://doi.org/dmk9n8>
- [5] Fourichon C, Beaudeau F, Bareille N, Seegers H. Quantification of economic losses consecutive to infection of a dairy herd with bovine viral diarrhoea virus. Prev. Vet. Med. [Internet]. 2005; 72(1–2):177–181. doi: <https://doi.org/dvk9jm>
- [6] Araínga M, Rivera H, Huamán JC, Manchego A. Fenotipo y genotipo del virus de la diarrea viral aislado de bovinos en el Perú. Rev. Investig. Vet. Perú [Internet]. 2010 [consultado 29 Nov 2023]; 21(2):192–203. Disponible en: <https://goo.su/U7EziN>
- [7] Arbulú-García C, Morales-Cauti S. Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en bovinos de crianza extensiva en tres distritos de Ayacucho, Perú. Rev. Investig. Vet. Perú [Internet]. 2021; 32(3):e20401. doi: <https://doi.org/m74r>
- [8] Favaro P, Molineri AI, Occhi HLJ, Dus Santos MJ, Calvino LF, Pecora A. Relevamiento de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de tanque provenientes de la provincia de Santa Fe. En: Cagliada MPL, Galosi CM, comps. I Congreso de Microbiología Veterinaria. Libro de resúmenes [Internet]; 4–6 Ago. 2021; La Plata (Argentina): Universidad Nacional de La Plata; 2021. p. 313–314. Disponible en: <https://goo.su/WNyMyk>
- [9] Arauco F, Rosadio R. Seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina y Neosporosis en Vacas de de la Región Junín, Perú. Rev. Investig. Vet. Perú [Internet]. 2015; 26(3): 543–547. doi: <https://doi.org/m74s>
- [10] Burbano H, Vera VJ, Ramirez G. Detección de biotipos del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) a través de RT-PCR. Rev. Med. Vet. [Internet]. 2006 [consultado 10 Ene. 2024]; (11):7–14. Disponible en: <https://goo.su/3VuJRxR>

- [11] Gómez-Romero N, Basurto-Alcántara FJ, Verdugo-Rodríguez A, Bauermann FV, Ridpath JF. Genetic diversity of bovine viral diarrhoea virus in cattle from Mexico. *J. Vet. Diagn. Invest.* [Internet]. 2017; 29(3):362–365. doi: <https://doi.org/f9xs65>
- [12] Akagami M, Takayasu M, Ooya S, Kashima Y, Tsuzuku S, Ootani Y, Ouchi Y, Hayama Y. Screening of persistently infected cattle with bovine viral diarrhoea virus on dairy farms by using milk tanker and bulk tank milk samples for viral RNA and viral-specific antibody detection. *J. Vet. Med. Sci.* 2020; 82(5):607–614. doi: <https://doi.org/m74t>
- [13] Van Beveren C, Goddard JG, Berns A, Verma IM. Structure of Moloney murine leukemia viral DNA: nucleotide sequence of the 5' long terminal repeat and adjacent cellular sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* [Internet]. 1980; 77(6):3307–3311. doi: <https://doi.org/bdssnr>
- [14] Nelson DD, Duprau JL, Wolff PL, Evermann JF. Persistent Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in Domestic and Wild Small Ruminants and Camelids Including the Mountain Goat (*Oreamnos americanus*). *Front. Microbiol.* [Internet]. 2016; 6:1415. doi: <https://doi.org/gccwvm>
- [15] Hansen TR, Smirnova NP, Van Campen H, Shoemaker ML, Ptitsyn AA, Bielefeldt-Ohmann H. Maternal and fetal response to fetal persistent infection with Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Am. J. Reprod. Immunol.* [Internet]. 2010; 64(4):295–306. doi: <https://doi.org/cf2p4t>
- [16] Pinto VSC, Alves MF, Martins MSN, Basso AC, Tannura JH, Pontes JHF, Lima MS, Silva TG, Okuda LH, Stefano E, Romaldini AHCN, Arnold DR, Pituco EM. Effects of oocytes exposure to bovine diarrhoea viruses BVDV-1, BVDV-2, and Hobi-like virus on *in vitro*-produced bovine embryo development and viral infection. *Theriogenology* [Internet]. 2017; 97:67–72. doi: <https://doi.org/gbj32r>
- [17] Smirnova NP, Webb BT, Bielefeldt-Ohmann H, Van Campen H, Antoniazzi AQ, Morarie SE, Hansen TR. Development of fetal and placental innate immune responses during establishment of persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Virus Res.* [Internet]. 2012; 167(2):329–336. doi: <https://doi.org/f34jhz>
- [18] Eiras C, Arnaiz I, Sanjuán ML, Yus E, Diéguez FJ. Bovine viral diarrhoea virus: correlation between herd seroprevalence and bulk tank milk antibody levels using 4 commercial immunoassays. *J. Vet. Diagn. Invest.* [Internet]. 2012; 24(3):549–553. doi: <https://doi.org/f3w3dr>
- [19] Foddai A, Enøe C, Stockmarr A, Krogh K & Uttenthal A. Challenges for bovine viral diarrhoea virus antibody detection in bulk milk by antibody enzyme-linked immunosorbent assays due to changes in milk production levels. *Acta Vet. Scand.* [Internet]. 2015; 57(32). doi: <https://doi.org/gb9v6s>
- [20] Chi S, Chen S, Jia W, He Y, Ren L, Wang X. Non-structural proteins of bovine viral diarrhoea virus. *Virus Genes.* [Internet]. 2022; 58(6):491–500. doi: <https://doi.org/m74v>
- [21] Brito B, Hick P. Milk as a diagnostic fluid to monitor viral diseases in dairy cattle. *Aust. Vet. J.* [Internet]. 2024; 102(1–2):1–8. doi: <https://doi.org/m74f>
- [22] Sayers RG, Sayers GP, Graham DA, 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; 205(1):56–61. doi: <https://doi.org/f7h822>
- [23] Favaro PM, Gascón S, Badosa M, Rebordosa X, Dus Santos MJ, Pecora A. Detection of Hobi-like infected buffaloes with a blocking BVDp80 ELISA kit. Proceedings of the 19th International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (SWAVLD) [Internet]; 19–22 Jun. 2019; Chiang Wai, (Thailand): SWAVLD; 2019. 1 p. Disponible en: <https://goo.su/oOkH82z>
- [24] Rosete-Fernández JV, Socci-Escatell GA, Fragoso-Islas A, Zárate-Martínez JP, Olazarán-Jenkins S, Granados-Zurita L, Ríos-Utrera A. Frecuencia de anticuerpos séricos contra los virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en toros, y su relación con la presencia de los virus en semen. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* [Internet]. 2022; 12(4):1151–1167. doi: <https://doi.org/m782>
- [25] Arauco-Villar F, Lozano-Salazar E. Seroprevalencia de diarrea viral bovina en hatos lecheros del Valle del Mantaro, Región Junín, Perú. *Rev. Investig. Vet. Perú* [Internet]. 2018; 29(4):1515–1526. doi: <https://doi.org/m789>
- [26] Arauco F, Rosadio R. Seroprevalencia de Diarrea Viral Bovina y Neosporosis en Vacas de de la Región Junín, Perú. *Rev. Investig. Vet. Perú* [Internet]. 2015; 26(3):543–547. doi: <https://doi.org/m74s>
- [27] Gutiérrez-Hernández J, Palomares-Resendiz G, Hernández-Badillo E, Leyva-Corona J, Díaz-Aparicio E, Herrera-López E. Frecuencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de doble propósito ubicados en Oaxaca, México. *Abanico Vet.* [Internet]. 2020; 10:1–11. doi: <https://doi.org/m74w>
- [28] Montiel-Olguín LJ, Estrada-Cortés E, Espinosa-Martínez MA, Mellado M, Hernández-Vélez JO, Martínez-Trejo G, Hernández-Andrade L, Hernández-Ortiz R, Alvarado-Islas A, Ruiz-López FJ, Vera-Avila HR. Factores de riesgo a nivel de establo asociados con el desempeño reproductivo en el sistema de producción de leche a pequeña escala en México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* [Internet]. 2019; 10(3):676–691. doi: <https://doi.org/jrfk>
- [29] IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, (NY, EUA): IBM Corp.
- [30] Velásquez-Quinaluisa JF. Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en los cantones: Latacunga, La Maná y Sigchos. [tesis de grado en Internet]. [Latacunga, Ecuador]; Universidad Técnica de Cotopaxi; 2022 [consultado 12 Feb. 2024]. 74 p. Disponible en: <https://goo.su/OANBNO>
- [31] Narváez Morales KP, Sangucho-Lema SM. Prevalencia de enfermedades infecciosas: Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina (DVB) y Parainfluenza Bovina Tipo III (PI3), en pequeños hatos ganaderos en la parroquia de San Andrés, Cantón Pillaro en la Provincia de Tungurahua. [tesis de grado en Internet]. [Latacunga, Ecuador]; Universidad Técnica de Cotopaxi; 2021 [consultado 12 Feb. 2024]. 127 p. Disponible en: <https://goo.su/QiUxZSB>
- [32] Pacheco-Iñiguez DA, Salas-Rueda MX. Prevalencia de Diarrea Viral Bovina (DVB) en bovinos de leche mediante análisis de ELISA competitivo. [tesis de grado en Internet]. [Cuenca, Ecuador]; Universidad Politécnica Salesiana; 2022 [consultado 12 Feb. 2024]. 61 p. Disponible en: <https://goo.su/BCWI>

- [33] González-Bautista ED, Bulla-Castañeda DM, Díaz-Anaya AM, García-Corredor DJ, Pulido-Medellín MO. Determinación de anticuerpos antidiarrea viral bovina (DVB) en vacas lecheras de un municipio de Boyacá (Colombia). *Rev. Med. Vet.* [Internet]. 2021; (43):117-126. doi: <https://doi.org/m74g>
- [34] Contreras GN, Stahl K, Arana C, Rivera H. Anticuerpos contra el virus de la Diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del Valle del Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo). *Rev. Investig. Vet. Perú.* 2000; 11(1):58-65. doi: <https://doi.org/m74h>
- [35] Nava-Lotuffo ZM, Bracamonte-Pérez MB, Hidalgo-Díaz MA, Escobar-Ladrón de Guevara RT. Seroprevalencia de la diarrea viral bovina en rebaños lecheros de dos municipios del estado Barinas, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [Internet]. 2013 [citado 15 Abr. 2024]; 33(2):162-168. Disponible en: <https://goo.su/MJXA5>
- [36] Muñoz-Gómez MA. Variación de la dinámica de los anticuerpos detectados en leche en el diagnóstico poblacional de algunas enfermedades reproductivas en bovinos de la región de Guatavita, Cundinamarca. [tesis de maestría en Internet]. [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia; 2021 [citado 8 Ene. 2024]. 66 p. Disponible en: <https://goo.su/umwJswo>