



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), mayo-junio 2024,
Volumen 8, Número 3.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i3

**DETERMINACIÓN CUALITATIVA A LA PRESENCIA
DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE DIARREA
VIRAL BOVINA A TRAVÉS DE ELISA DE BLOQUEO
EN EL CANTÓN SANTA ROSA, ECUADOR**

QUALITATIVE DETERMINATION OF THE PRESENCE OF
ANTIBODIES AGAINST BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS
USING BLOCKING ELISA IN SANTA ROSA CANTON,
ECUADOR

Mvz. Fernando L. Aguilar Gálvez
Universidad Técnica de Machala, Ecuador

Mvz. Lida Alejandra Moreno Peña
Universidad Técnica de Machala, Ecuador

Mvz. Johon A. Luna Florin
Universidad Técnica de Machala, Ecuador

Ing. Cristhian Ramiro Aguilar G.
Departamento de Diseño & Arte Laboratorio de diagnóstico ANIMAL LIFE, Ecuador

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i3.11962

Determinación Cualitativa a la Presencia de Anticuerpos Contra el Virus de Diarrea Viral Bovina a través de ELISA de Bloqueo en el Cantón Santa Rosa, Ecuador

Mvz. Fernando L. Aguilar Gálvez¹
flaguilar@utmachala.edu.ec
Universidad Técnica de Machala
Ecuador

Mvz. Lida Alejandra Moreno Peña
lamoreno_est@utmachala.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0002-8459-993X>
Universidad Técnica de Machala
Ecuador

Mvz. Johon A. Luna Florin
jluna@utmachala.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-8432-9070>
Universidad Técnica de Machala
Ecuador

Ing. Crithian Ramiro Aguilar G.
ecuametal@yahoo.com
<https://orcid.org/0009-0005-2132-7306>
Departamento de Diseño & Arte
Laboratorio de diagnóstico ANIMAL LIFE
Ecuador

RESUMEN

La Diarrea Viral Bovina es una enfermedad que se encuentra distribuida a nivel mundial siendo una de las principales causas de pérdidas económicas a nivel de hatos ganaderos, ya que afectan de forma significativa la reproducción de los animales y es de fácil diseminación. El agente etiológico es un Pestivirus de la familia Flaviviridae perteneciente a un virus de ARN con una nucleocápside proteica rodeada por una membrana fosfolipídica con proteínas estructurales y no estructurales. El objetivo de la presente investigación fue evidenciar la presencia de anticuerpos contra VDVB a través de la aplicación del método de Elisa con lectura cualitativa en muestras de sangre obtenidas en 3 ganaderías representativas del Cantón Santa Rosa (Provincia de El Oro). El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. La metodología de este trabajo fue recolectar 145 muestras de suero de animales que presentaron o no sintomatología a nivel de ganaderías de producción (vacas de ordeño, vacas secas, vaquillas y/o terneros). Se realizó la técnica inmunoenzimática de ELISA mediante un Kit comercial CIVTEST BOVIS BVD/BD P80 de la Marca HIPRA. Hubo una frecuencia de 16 animales positivos a la presencia de anticuerpos de diarrea viral bovina representando el 7,58 % del total muestreado, así mismo se logró identificar la circulación del VDVB a nivel de todos los hatos muestreados demostrando la amplia diseminación del virus en la zona. Se concluye la presente investigación con la determinación de la presencia del virus de diarrea viral bovina en el cantón Santa Rosa y se recomienda manejo, vacunación y ampliar este tipo de investigaciones por su importancia en toda la provincia y la determinación futura del virus por técnicas moleculares para la determinación de antígenos virales. Así mismo se recomienda el uso del diagnóstico cualitativo por medio de Elisa de bloqueo únicamente en casos donde se desee conocer sobre la circulación de anticuerpos en una zona determinada. Sin embargo, no se recomienda su uso con lectura cualitativa en vista de la alta subjetividad que puede generar la determinación de positivos y negativos al cambio de color, sosteniendo un margen de muestras indeterminadas altas.

Palabras clave: VDVB, ELISA, serología, diarrea viral, bovinos

¹ Autor principal
Correspondencia: flaguilar@utmachala.edu.ec

Qualitative Determination of the Presence of Antibodies Against Bovine Viral Diarrhea Virus using Blocking ELISA in Santa Rosa Canton, Ecuador

ABSTRACT

Bovine Viral Diarrhea (BVD) is a disease distributed worldwide and is one of the main causes of economic losses in cattle herds, as it significantly affects animal reproduction and is easily spread. The etiological agent is a Pestivirus from the Flaviviridae family, belonging to an RNA virus with a protein nucleocapsid surrounded by a phospholipid membrane with structural and non-structural proteins. The aim of this research was to demonstrate the presence of antibodies against BVDV using the ELISA method with qualitative reading in blood samples obtained from three representative cattle farms in Santa Rosa Canton (El Oro Province). This research was conducted at the microbiology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences at the Technical University of Machala. The methodology involved collecting 145 serum samples from animals with or without symptoms from production herds (milking cows, dry cows, heifers, and/or calves). The ELISA immunoenzymatic technique was performed using a commercial CIVTEST BOVIS BVD/BD P80 Kit from the HIPRA brand. There was a frequency of 16 animals positive for BVD antibodies, representing 7.58% of the total sampled. Furthermore, the circulation of BVDV was identified in all sampled herds, demonstrating the widespread dissemination of the virus in the area. This research concludes with the determination of the presence of BVDV in Santa Rosa Canton and recommends management, vaccination, and the expansion of this type of research throughout the province due to its importance, along with future determination of the virus using molecular techniques for the detection of viral antigens. It is also recommended to use the qualitative ELISA blocking test only in cases where it is necessary to know about the circulation of antibodies in a specific area. However, its use with qualitative reading is not recommended due to the high subjectivity that can arise in determining positives and negatives based on color change, resulting in a high margin of indeterminate samples.

Keywords: BVDV, ELISA, serology, viral diarrhea, cattle

Artículo recibido 23 mayo 2024

Aceptado para publicación: 26 junio 2024



INTRODUCCION

Las enfermedades víricas se encuentran a nivel mundial afectando a muchas ganaderías en especial las infecciones por diarrea viral bovina (DVB), que es una de las principales causas de pérdidas económicas ya que afectan de forma significativa la reproducción de los animales y es de fácil diseminación (Rosete y col., 2018). Es necesario tener un conocimiento de la enfermedad para saber cómo enfrentarla y tener un control sanitario dentro de las ganaderías (Abad y col., 2019). El virus de la diarrea viral bovina es un Pestivirus perteneciente a la familia Flaviviridae y se presenta en 4 especies, las dos primeras es el virus de la diarrea viral bovina 1 y 2, la tercera es la peste porcina clásica y por último esta la enfermedad de las fronteras (Donoso, 2018). Los biotipos se dividen por su citopatogenicidad en vdvb citopático (CP) y no citopático (NCP) (Daves y col., 2016). Su clasificación depende de su capacidad de realizar una lisis celular en cultivos de tejidos del animal (Dow y col., 2015) Se estima que en muchas zonas ganaderas endémicas los animales son afectados con la enfermedad en un 60%, debido a que el virus puede permanecer dentro del hospedero, afectar al feto y causa inmunotolerancia (Rivera, 2019). En la actualidad existen diferentes causas para que exista un cuadro diarreico dentro de un establecimiento ganadero y se debe tener un cuadro exploratorio del animal para identificar los síntomas, porque pueden ser provocadas por plantas tóxicas, bacterias, parásitos o virus. La enfermedad infecciosa de la diarrea viral bovina está ampliamente distribuida en todas las ganaderías del país y el mundo entero, esto se debe a que existe un manejo inadecuado de las haciendas ganaderas y falta de conocimiento para su prevención. La DVB es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad, provocando problemas reproductivos, pérdidas de peso entre otros síntomas. Haciendo que los ganaderos tengan grandes pérdidas económicas. En la mayoría de los países se han realizado estudios para poder identificar la enfermedad de la diarrea viral bovina y se lo han realizado mediante la identificación de 17 anticuerpo o de antígeno por diferentes métodos de diagnóstico para mantener el control epidemiológico y así prevenir la enfermedad (Buitrago, 2018). La infección del virus ocasiona pérdidas en el rendimiento productivo del ganado o también por los gastos económicos que se realizan para su control y eliminación del virus (Rendón y col., 2016). Al presentarse dentro de la provincia una amplia cantidad de animales bovinos que están propensos a esta afección viral se hará un ensayo en uno de



los cantones de la provincia, el cual será Cantón Santa y así poder identificar el virus de la familia Flaviviridae, el cual se determinará si existe la presencia de la enfermedad DVB dentro del Laboratorio con la técnica de alta especificidad y sensibilidad e inmunoenzimática de Elisa con el fin de determinar la existencia del virus en animales aparentemente sanos y persistentemente infectados para así aportar una ayuda a la prevención de la enfermedad. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos contra el VDVB a través de la aplicación de un método inmunoenzimático de Elisa en muestras de suero individuales obtenidas de 3 ganaderías del Cantón Santa Rosa en la provincia de El Oro (Ecuador).

METODOLOGIA

Área y población de estudio

La presente investigación se realizó en un total de 145 animales ($n=145$), provenientes de 3 fincas modelo dedicadas a la producción de leche en el Cantón Santa Rosa (G1; G2 y G3). Para la determinación de anticuerpos contra el virus de la DVB se realizó un muestreo al azar de los animales, de donde se utilizó el plasma sanguíneo el mismo que fue recolectado de la vena coccígea con tubos vacuntainer de 4 ml. (tapón rojo sin anticoagulante), luego se los conservo en un termo refrigerante y se llevó al laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala (Utmach), donde se centrifugó la muestra para su posterior procesamiento.

Preparación de ELISA

Para la determinación de los anticuerpos de VDVB se utilizó un kit comercial inmunoenzimático de ELISA para la detección de anticuerpos contra la proteína p80 por bloqueo (Protocolo corto). Así mismo para el procesamiento de las muestras se respetó las instrucciones dispuestas por el fabricante (CIVTEST® BOVIS BVD/BD P80; HIPRA, Lab. HIPRA, España). Es importante equilibrar los reactivos a temperatura ambiente antes de iniciar el procedimiento del ensayo. Solución de lavado (10x) (Vial N°0): para reconstituirla añadir 1 volumen de solución de lavado (10x) a 9 volúmenes de agua destilada o desionizada.



Preparación de las muestras

Tanto los controles Positivos y Negativos suero (viales N°5 y N°6) como las muestras de suero individual de los animales deben diluirse 1/10 ul en solución diluyente de suero (Vial N°1).

Desarrollo del ensayo

Despegamos la cubierta adhesiva de plástico y dispensamos 100 µl tanto de los controles negativo y positivo diluidos 1/10 como de las muestras diluidas 1/10 en solución diluyente de suero (vial N°1) a los pocillos apropiados en la placa. Cubrimos la placa con una cubierta adhesiva e incubamos 60 minutos a + 36 ° C - + 38 ° C. Luego retiramos el adhesivo y realizamos el lavado de las placas 4 veces con 300 µl de solución de lavado diluida. Al final, invertimos la placa y la golpeamos firmemente sobre papel absorbente. Añadimos 100 µl de solución de conjugado (Vial N°2) a cada pocillo y cubrimos la placa con una cubierta adhesiva para nuevamente incubar durante 60 minutos a + 36°C - + 38°C. Realizamos 4 lavados de cada pocillo con 300 µl con solución lavado diluido, invertimos la placa y golpeamos firmemente sobre papel absorbente. Luego en cada pocillo colocamos 100 µl de solución de sustrato (Vial N°3). Agitamos suavemente la placa durante 2 segundos y sellamos la misma con una tapa adhesiva e incubamos a temperatura ambiente (+ 20 ° C - + 25 ° C) en la oscuridad durante 10 minutos. Finalmente quitamos la tapa adhesiva y dispensamos en cada pocillo 100 µl de solución de paro (Vial N°4). Agitamos golpeando ligeramente el flanco de la microplaca y procedemos a interpretar los resultados en base al cambio de color.

RESULTADOS

Para la interpretación de los resultados en los sueros individuales se utilizó los criterios e indicaciones del fabricante del kit diagnóstico para una lectura cualitativa en base al cambio de color, en donde mediante este principio el kit discrimina entre la presencia (Resultado Positivo, sin coloración) o ausencia (Resultado Negativo, aparición de color amarillo) de anticuerpos anti-p80 en las muestras analizadas (CIVTEST® BOVIS BVD/BD P80; HIPRA, Lab. HIPRA, España). A estas categorías se le ha añadido que ante la presencia de ligeros cambios de color presentados en el pocillo se lo nombre como Resultado Indeterminado (Aguilar, 2024), como se muestra en la figura 1. Se consideró para este ensayo el comparativo obligatorio de cada pocillo muestra con los pocillos controles para la toma

de decisiones. La observación fue directa con una distancia no mayor a 20 cm. Sobre un fondo oscuro sin sobrepasar los 4 minutos después de la aplicación de la solución de frenado.

Figura 1: Interpretación de los resultados en los sueros individuales.

| VALORACIÓN POR COLORACIÓN | RESULTADOS | INTERPRETACIÓN |
|---|---------------|--------------------|
|  | NEGATIVO | LIBRE DE VDVB |
|  | INDETERMINADO | SOSPECHOSO DE VDVB |
|  | POSITIVO | INFECTADO CON VDVB |

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 (Statistical Package for Social Sciences).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de 145 animales muestreados, sometidos a la prueba de ELISA se obtuvo un 7,58 % de positividad (11/145 animales); seguido de un 5,52 % de animales indeterminados (8/145 animales) y finalmente 86,90 % (126/145 animales) negativos a la presencia de anticuerpos contra el VDVB. Es decir, una frecuencia del 7, 58 % de anticuerpos contra VDVB en sueros individuales como se representa en la tabla I y la figura 2.

Tabla I. Resultados de la presencia de anticuerpos virales contra VDVB en la ciudad de Santa Rosa.

| Resultados | Números de muestras | Porcentajes [%] |
|---------------|---------------------|-----------------|
| Positivo | 11 | 7,58 % |
| Indeterminado | 8 | 5,52 % |
| Negativo | 126 | 86,90 % |
| Total | 145 | 100,00% |

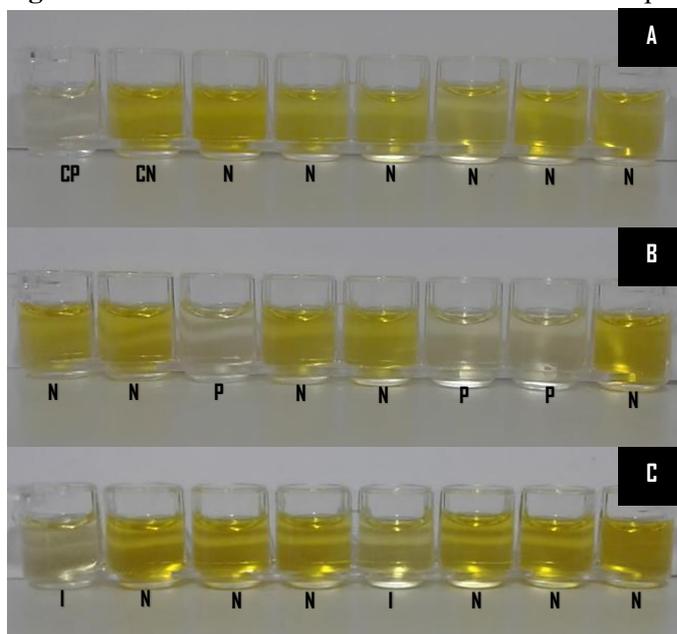
Figura 2. Porcentaje de seroprevalencia contra anticuerpos a VDVB



Un total de 126 muestras presentaron cambio de color marcado representado el 89,90% del total estudiado, mientras que un 5,52 % (8/145) presentaron cambios sutiles de color los cuales no se lograron ubicar en ninguno de los controles considerándolos para el estudio como indeterminados. La enfermedad de la diarrea viral bovina se encuentra presente en los diferentes hatos ganaderos a nivel mundial. Abad en el 2016 indico que Estados Unidos presento en algunos estados incidencias de hasta un 89% de animales con VDVB y estudios en México determinaron en el centro del país prevalencia de hasta el 73,2 % y un porcentaje del 12,27% en la parte sur. Valdez en el 2018 en Cusco (Perú), presento una investigación con una prevalencia del 50,8 % de animales que presentan los anticuerpos contra el virus DVB. Así mismo Labanda en el 2015 en la provincia de Loja (Ecuador), publica una seroprevalencia de 29 % en los bovinos de leche. Los porcentajes de la investigación difieren con datos estadísticos de otros autores por lo que infiere que el manejo del ganado a nivel del cantón no ha mejorado de todo y aún persiste presencia del virus dentro de la zona, pero de forma controlada. Debemos tomar en cuenta el motivo de preocupación al existir un animal infectado ya que produce infección ha sido asociada con el aborto epidémico en ganado de leche, además la forma de transmisión vertical hace que la infección se perpetúe en los hatos de forma rápida (Irigoyen, 2018). Los datos de la investigación de animales seropositivos con relación al lugar de muestreo (3 ganaderías pertenecientes al Cantón Santa Rosa), se determinó que el mayor porcentaje de animales con presencia de anticuerpos a VDVB es la ganadería Karfel (G1), sumando un total de 5,52 % de seropositividad; seguido de la ganadería Nicvanna (G2), con un total de 1,38 % de animales con la

infección y por último la Ganadería Las Lomas (G3), con dos animales dando 0,69 % de seropositividad. Por cada hato ganadero muestreado se presentó un animal infectado o sospechoso lo que indica la amplia distribución del virus en los animales de las ganaderías muestreadas y la existencia de factores que contribuyen directa o indirectamente a la difusión de la enfermedad. A pesar que el porcentaje a indeterminados fue bajo (<6 %), la presencia de estos implicaría que no podemos sostener con la suficiente confiabilidad la presencia o ausencia de anticuerpos circulantes en estos animales y por ende en el hato, así mismo entender la subjetividad que presenta la lectura de color en los pocillos muestra, lo cual a pesar que se compara con los controles la lectura final en ciertas muestra con cambios muy sutiles de color, esto siempre llevara una limitante a la hora de declarar el resultado reduciendo su sensibilidad y especificidad. Es así como podemos entender la utilidad de conocer la frecuencia real de anticuerpos contra VDVB por medio de una lectura final de medición de densidad óptica a través de un lector de microplaca de ELISA y poder discriminar animales positivos verdaderos y negativos verdaderos.

Figura 3: Lectura cualitativa de 22 muestras de suero para anticuerpos de VDVB.



A: Reconociendo el control positivo (CP:1/8), el control negativo (CN:1/8), las muestras negativas (N:6/8);
B: Las muestras negativas (N:5/8) y muestras positivas (P:3/8);
C: Las muestras indeterminadas (I:2/8) y las muestras negativas (N:6/8).

CONCLUSIONES

Se evidencia la circulación de anticuerpos contra el VDVB en el cantón Santa Rosa (Ecuador), y expresa una moderada presencia del virus en las haciendas ganaderas muestreadas con un 7,58 % de positividad a nivel de serología individual, y es de considerar un 5,58 % de animales de resultado indeterminado que son sospechosos a la DVB. Así mismo se logró determinar que todos los hatos lecheros investigados presentaron al menos un individuo infectado considerándolo muy preocupante en vista de la amplia diseminación que está teniendo el virus en la zona. Se recomienda el uso del kit de diagnóstico de Elisa de bloqueo sobre el interés de conocer la circulación de anticuerpos de DVB en un hato ganadero o en una zona geográfica. Sin embargo, se cuestiona su uso sin la aplicación de un lector de microplaca, ya que representa una limitante el manejo de la técnica sin la lectura de la densidad óptica en vista de la subjetividad que puede generar la toma de decisiones a la presencia de cambio sutiles de color, pudiendo enmascarar falsos negativos y comprometer los programas de bioseguridad del hato.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Rosete Fernández JV, Ríos Utrera Á, Zárate Martínez JP, Olazarán Jenkins S, Granados Zurita L, Fragoso Islas 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;9(3):555–66. Available from:

<https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4599/3930>

Labanda JA. Prevalencia de Diarrea Viral Bovina en vacas lecheras de la Ganadería del Cantón Loja [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2015 [cited 2019 Sep 13]. Available from: https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10258/1/tesis_Jorge_Amable_Labanda_González.pdf

Buitrago E. Determinación de la prevalencia de animales Persistentemente Infectados con el virus de Diarrea Viral Bovina (DVB) y factores de riesgo asociados con la exposición al virus en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2015 [cited 2019 Sep 15]. Available from:

<http://bdigital.unal.edu.co/50723/1/1032389806.2015.pdf>



- Rondón I. Diarrea viral bovina : patogénesis e inmunopatología. Rev MVZ Córdoba [Internet]. 2006 Apr;11(1):694–704. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69311103.pdf>
- Rodríguez Zambrano, H. M., & Moreno Tamayo, C. H. (2024). Seguridad de la información y ciberseguridad: su importancia para los Estados, empresas y las personas, una revisión sistemática. Estudios Y Perspectivas Revista Científica Y Académica , 4(1), 159–178. <https://doi.org/10.61384/r.c.a.v4i1.90>
- Rodríguez Zambrano, H. M., & Moreno Tamayo, C. H. (2024). Seguridad de la información y ciberseguridad: su importancia para los Estados, empresas y las personas, una revisión sistemática. Estudios Y Perspectivas Revista Científica Y Académica , 4(1), 159–178. <https://doi.org/10.61384/r.c.a.v4i1.91>
- Daves L, Yimer N, Arshad SS, Sarsaifi K, Omar MA, Yusoff R, et al. Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus Infection and Associated Risk Factors in Cattle in Selangor, Malaysia. Vet Med - Open J [Internet]. 2016 Jul 12 [cited 2019 Jul 3];1(1):22–8. Available from: <http://openventio.org/Volume1-Issue1/Seroprevalence-of-Bovine-Viral-Diarrhea-Virus-BVDV-Infection-andAssociated-Risk-Factors-in-Cattle-in-Selangor-Malaysia-VMOJ-1-105.pdf>
- Da Silva Santos , F., & López Vargas , R. (2020). Efecto del Estrés en la Función Inmune en Pacientes con Enfermedades Autoinmunes: una Revisión de Estudios Latinoamericanos. Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano, 1(1), 46–59. <https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v1i1.9>
- Fernández C., F. (2024). Determinación De Erodabilidad En Áreas De Influencia Cuenca Poopo Región Andina De Bolivia. Horizonte Académico, 4(4), 63–78. Recuperado a partir de <https://horizonteacademico.org/index.php/horizonte/article/view/19>
- Dow N, Chernick A, Orsel K, van Marle G, van der Meer F. Genetic Variability of Bovine Viral Diarrhea Virus and Evidence for a Possible Genetic Bottleneck during Vertical Transmission in Persistently Infected Cattle. Velayudhan BT, editor. PLoS One [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2019 Sep 9];10(7):e0131972. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0131972>



- Abad-Zavaleta J, Ríos-Utrera A, Rosete-Fernández JV, García-Camacho A, Zárate-Martínez JP. Prevalencia de rinotraqueítis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en hembras en tres épocas del año en la Zona Centro de Veracruz. *Nov Sci* [Internet]. 2016 [cited 2019 Aug 17];8(16):213–27. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-052016000100213
- 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 Reseach* [Internet]. 2018 [cited 2019 Sep 3];14:314. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1641-7>
- Da Silva Santos , F., & López Vargas , R. (2020). Efecto del Estrés en la Función Inmune en Pacientes con Enfermedades Autoinmunes: una Revisión de Estudios Latinoamericanos. *Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano*, 1(1), 46–59. <https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v1i1.9>
- Rivera D, Rincón J, Echeverry J. Prevalencia de algunas enfermedades infecciosas en bovinos de resguardos indígenas del Cauca, Colombia, 2017. 2017 [cited 2019 Jul 16]; Available from: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/983/1483>
- Sanguino-García, V., Casadiego-Alzate, R., Díaz Mesa, V., Velásquez Calle, P. A., & Palacio Miranda , D. A. (2024). Motivaciones Y Comportamiento Altruista–Egoísta Del Consumidor De Mercados Campesinos Del Área Metropolitana Del Valle De Aburra, Antioquia – Colombia. *Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano*, 5(1), 430–459. <https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v5i1.111>
- Samaniego Luna, N. I., & Chamba Carchi, M. Y. N. (2024). TDAH en entornos escolares, experiencia y autoconfianza de los maestros de educación general básica para la enseñanza efectiva. *Estudios Y Perspectivas Revista Científica Y Académica* , 4(1), 149–158. <https://doi.org/10.61384/r.c.a.v4i1.89>
- Sosa Aquino, O., Garlisi Torales, D., & Ayala Ratti, F. (2024). Construcción y validación de un cuestionario de percepción acerca de la Gestión del centro de enseñanza de una Facultad de Enfermería . *Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano*, 5(1), 460–481. <https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v5i1.112>



Samaniego Luna, N. I., & Chamba Carchi, M. Y. N. (2024). TDAH en entornos escolares, experiencia y autoconfianza de los maestros de educación general básica para la enseñanza efectiva. *Estudios Y Perspectivas Revista Científica Y Académica* , 4(1), 149–158.

<https://doi.org/10.61384/r.c.a.v4i1.90>

Buitrago E, Jiménez C, Zambrano JL. 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 ISSN 0122-9354*, No 36, 2018 (Ejemplar Dedic a enero-junio), págs 63-73 [Internet]. 2018 [cited 2019 Jul 16];(36):63–73. Available from:

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6229142>

Marschik T, Obritzhauser W, Wagner P, Richter V, Mayerhofer M, Egger59 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 Jan 1 [cited 2019 Sep 9];231:19–29. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023317302289?via%3Dihub>

Medina Nolasco, E. K., Mendoza Buleje, E. R., Vilca Apaza, G. R., Mamani Fernández, N. N., & Alfaro Campos, K. (2024). Tamizaje de cáncer de cuello uterino en mujeres de una región Andina del Perú. *Arandu UTIC*, 11(1), 50–63. <https://doi.org/10.69639/arandu.v11i1.177>

Martínez, O., Aranda , R., Barreto , E., Fanego , J., Fernández , A., López , J., Medina , J., Meza , M., Muñoz , D., & Urbieta , J. (2024). Los tipos de discriminación laboral en las ciudades de Capiatá y San Lorenzo. *Arandu UTIC*, 11(1), 77–95. Recuperado a partir de

<https://www.uticvirtual.edu.py/revista.ojs/index.php/revistas/article/view/179>

Irigoyen Laura de Miguel. La bioseguridad y la BVD en granjas de vacuno: factores de riesgo y actuación ante los mismos [Internet]. *Faculta de veterinaria de la Universidad Zaragoza*; 2018 [cited 2019 Jul 29]. Available from:

<https://zagan.unizar.es/record/71148/files/TAZ-TFG-2018-1494.pdf>

Valdez Edgar, Pacheco Ignacio, Vergara Walter, Pinto Juan, Fernández Fiorela, Guzmán Fiorela, 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 [cited 2019 Jul 29];29(4):1522–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15192>

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 [cited 2019 Sep 13];29(4):1500. Available from: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/15187>

v, H., & Quispe Coca, R. A. (2024). Tecno Bio Gas. Horizonte Académico, 4(4), 17–23. Recuperado a partir de <https://horizonteacademico.org/index.php/horizonte/article/view/14>

