



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

TITULACIÓN DE BIOLOGÍA

**Estudio del virus de la diarrea vírica bovina (VDVB) en cérvidos en cautiverio en las
Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) en Ecuador**

Trabajo de fin de Titulación

Autor:

Chamba Carrillo Adolfo Gilberto

Director:

Saa Luis Rodrigo, Ph. D.

LOJA-ECUADOR

2013

APROBACIÓN

Doctor.

Luis Rodrigo Saa, Ph. D

Director del Trabajo de fin de titulación

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: “Estudio del virus de la diarrea vírica bovina (VDVB) en cérvidos en cautiverio en las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) en Ecuador” realizado por Adolfo Gilberto Chamba Carrillo, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo-

Loja, Agosto de 2013

f.

Luis Rodrigo Saa Ph.D

Cédula: 1102902291

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Chamba Carrillo Adolfo Gilberto declaro ser el autor del presente trabajo de fin de titulación: “Estudio del virus de la diarrea vírica bovina (VDVB) en cérvidos en cautiverio en las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) en Ecuador siendo Luis Rodrigo Saa Ph.D directo del trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f.

Chamba Carrillo Adolfo Gilberto

Cédula: 1104870538

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy.

Para mi padre: Gilberto por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. A mi madre, María Dolores Carrillo que siempre ha estado conmigo en todo momento y me ha servido de ejemplo de lucha y de vida.

A mis hermanas: Verónica, gracias por formarme en mi niñez, y por ti estoy donde estoy, y Karina por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar, ambas son y serán mi motivación, inspiración y felicidad.

Y finalmente a todos mis amigos que me motivaron a ser cada día una mejor persona y a prepararme para ser un mejor profesional, a las Marías (María Belén y María del Carmen), que fueron un pilar fundamental en mi formación y unas excelentes amigas de corazón, a Janina Orellana quien es mi mejor amiga y compañera de vida, sus consejos y fuerza me ayudaron a no rendirme ante ningún obstáculo y gracias por ayudarme en toda esta gran aventura y por tu apoyo frente a la tesis, a mis compañero de ciclo Mariuxi y Yulia por compartir unos momentos inolvidables de amistad y compañerismo, a todos los que me conocen en la carrera de Biología y de Gestión Ambiental por brindarme sus conocimientos, a los FAR de Biología, gracias por brindarme su amistad sincera y ayudarme en este recorrido tan difícil, a Verónica Mendoza, gracias por tu más limpia y sincera amistad que me ayudo a ser mejor persona cada día y me impulsaste a creer en las personas y que aún existen personas de un buen corazón

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”. Thomas Chalmers

Adolfo Chamba Carrillo

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a Dios, por brindarme la salud y el razonamiento que me permitieron concluir con éxito una etapa más de mi vida.

A la Universidad Técnica Particular de Loja, por brindarme todos los conocimientos e infraestructura para el desarrollo de la investigación.

A la Titulación de Biología, quien me abrió las puertas para terminar mis estudios y me brindo todo su conocimiento y ciencia para concluir con éxitos mi Titulación como Biólogo, además por brindarme un espacio para poder desarrollar mis ideas.

También un agradecimiento muy especial a todas las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) que ayudaron en este estudio y me permitieron la toma de muestras: Centro de Rescate Amazonas, Centro de Rescate EMAC, Centro de Rescate Venado de Cola Blanca, Zoológico Parque Histórico de Guayaquil, Zoológico AMARU, Zoológico Guayabamba, Zoológico Yurak Alpa, Zoocriadero San Sebastián, Zoocriadero Casa del Venado, y a los cuatro centros que aún no son registrados: Bosque Tropical, Envases del Litoral, Agrinac y la Finca del Militar.

Al Dr. Pablo Acosta, Ph.D. por permitirme realizar el estudio y por abrirme las puertas del Departamento de Ciencias Agropecuarias y de Alimentos. Al Dr. Jefferson Lasso D.V.M. por formar parte de mi equipo de estudio y por su ayuda en la toma de muestras y en especial al Dr. Luis Rodrigo Saa, Ph.D. que me brindo toda su experiencia y me impulsó y motivó a cada instante en la realización del proyecto y que con sus ocurrencias e ideas sembró en mí el espíritu de investigación y ayudó a formar un carácter lleno de alegría y respeto.

A mi padre y madre por estar siempre ahí cuando los necesitaba y a mis hermanas por contar siempre con ellas en mi recorrido.

A mis amigos: María Belén, María Paladines, Janina Orellana, Verónica Mendoza, Yulia, Mariuxi, Diego, Daniel, Cristian; por compartir los buenos y malos momentos, y con quienes tuve un apoyo mutuo en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos. Y perdón por aquellos que me olvide nombrarlos pero que los tengo presente.

Adolfo Chamba Carrillo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN	iii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICO.....	x
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I. Introducción.....	3
Preguntas de investigación.....	10
CAPÍTULO II. Materiales Y Métodos.....	11
2.1 Zona de Estudio.....	12
2.2 Muestreo.....	13
2.3 Obtención y procesado de las muestras de sangre.....	17
2.4 Inmunoensayo.....	17
2.5 Encuestas.....	18
2.6 Análisis.....	18
CAPÍTULO III. Resultados y Discusión.....	20
3.1 ¿Se encuentra presente el Virus de la Diarrea Vírica Bovina en Cérvidos en cautiverio en las UMVS en Ecuador?.....	21
3.2 ¿Los cérvidos son seroprevalentes para el VDVB?.....	22
3.3 ¿Cuáles son los principales factores de riesgo para la transmisión del virus?.....	23
CAPÍTULO IV. Conclusiones.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXOS	40
Anexo 1: Unidades de Manejo de Vida Silvestre que poseen cérvidos.....	41
Anexo 2: Protocolo para el Inmunoensayo	44
Anexo 3: Encuesta.....	45

Anexo 4: Contacto Persona - Cévido.....	47
Anexo 5: Alojamiento de cévidos compartido con otras especies	48
Anexo 6: Alojamiento de los cévidos que viven solo con los de su misma especie	50

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1: Unidades de Manejo de Vida Silvestres muestreadas.....</i>	<i>20</i>
<i>Tabla 2: Placa de ELISA Cérvidos.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 3: Análisis descriptivo de las variables numéricas.....</i>	<i>24</i>
<i>Tabla 4: Análisis descriptivo de las variables independientes categóricas en UMVS.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 5: Análisis descriptivo de las variables independientes categóricas por individuos</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 8: Zoológicos en Ecuador que presentan cérvidos.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 9: Zoocriaderos en Ecuador que presentan cérvidos.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 10: Centros de rescate en Ecuador que presentan cérvidos.....</i>	<i>43</i>

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICO

<i>Figura 1: Distribución de las UMVS muestreadas en Ecuador</i>	12
<i>Figura 2: Programa estadístico Win Episcope 2.0</i>	13
<i>Figura 3: Mazama americana</i>	14
<i>Figura 4: Mazama rufina</i>	15
<i>Figura 5: Odocoileus virginianus</i>	16
<i>Gráfica 1: Prevalencia de infección por especies</i>	23

RESUMEN

Mediante este estudio se evidenció la presencia del Virus de la Diarrea Vírica Bovina (VDVB) en los cérvidos que se encuentran en las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) aportando con nuevos conocimientos biológicos y epidemiológicos del virus en Ecuador y Sudamérica, pues aún no existen estudios sobre la prevalencia en cérvidos en esta región.

El VDVB se encuentra en los cérvidos, ya que se pudo evidenciar la presencia de anticuerpos anti VDVB, encontrando en las 53 muestras obteniendo un 47,2% de prevalencia (25/53).

Al existir prevalencia de anticuerpo para los cérvidos, estos se convierten en un factor de riesgo para la infección con VDVB a los bovinos en las explotaciones ganaderas, además que los cérvidos no muestran cuadro de síntomas y la única forma de saber si son portadores o no es por medio de análisis ya sea de sangre o de tejido (histoquímica), además otro peligro es con las UMVS que cuenten con un programa de reintroducción ya que pueden ayudar a la dispersión del virus no solamente a los cérvidos sino también a los suidos silvestres.

ABSTRACT

The Bovine Diarrhea Virus (BDV) is one of the most important pathogen that affects to bovines. Although there have been great advances in the understanding of this virus, however is unknown the role of wildlife in the epidemiology of BVDV. While cattle has a high affinity to infection, deer are considered some of the most important reservoirs and the free range of the virus to infect ungulates is still unknown; but it can be determined by serological survey and experimental infections to determine the seroprevalence of the virus.

Systematic studies on the prevalence of BVDV in wildlife in South America are scarce, and no information is available in Ecuador. The aim of this study was to evaluate the presence of virus in captive deer in Ecuador for evidence of BDV. We determined the evidence of BDV in deer in Ecuador

The evidence of BDV in Ecuador was determined by a preliminary analysis of ELISA, resulting in the existence of the virus in captive deer. The blood samples ELISA was tested on 53 deer. 25 samples were positive and 28 samples were negative, with a 47.2%of apparent prevalence.

Keywords: Bovine Diarrhea Virus, BDV, Ecuador, seroprevalence, wildlife, deer.

CAPÍTULO I. Introducción

Las enfermedades virales producidas por el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), afectan al ganado bovino causándole graves pérdidas económicas a los ganaderos, representando un grave problema a nivel mundial tanto en ganado de carne, como ganado lechero, afectándolo de diversas formas: de acuerdo a la edad del animal, estado nutricional, estado inmunológico y momento de la gestación en el que se produce la infección (Jarvinen *et al*, 2006).

El VDVB, está clasificado como un *pestivirus*, un virus de la familia Flaviviridae que emplea diferentes estrategias para asegurar la supervivencia y propagación con éxito en la población huésped-mamífero. Estas estrategias incluyen la modificación de la respuesta inmune del huésped, múltiples rutas directas e indirectas de la transmisión, y el establecimiento de infección persistente en los animales portadores (IPI) después de la infección transparentaría en el primer trimestre del embarazo (Schweizer *et al*, 2006).

Los pestivirus afectan a una amplia gama de animales domésticos o salvajes (Loken, 1995; Carrasco y Almendral del Río, 2006). Además, el VDVB eficientemente puede cruzar las barreras entre especies e infectar a varios huéspedes mamíferos en el orden

Artiodactyla, que puede ser importante en la estrategia de supervivencia del patógeno (Vilcek S *et al*, 2006). Casi todos los factores de riesgo relacionados con el hospedador están asociados con la inmunodepresión inducida por agentes y estrés, así como el biotopo del animal (Cerviño & Calvo, 2007).

Epidemiológicamente, las infecciones son persistentes para el VDVB, el cual se ha descrito en las diferentes especies que no sean bovinos, incluidos pequeños rumiantes domésticos como: cerdos, alpacas, ratón ciervo y el venado de cola blanca (*Odocoileus virginianus*); sin embargo, hay poca información sobre el papel de las especies de IPI heteróloga en la epidemiología de BVDV (Anderson & Rowe, 2007).

El orden de los mamíferos artiodáctilos se compone de 10 familias, y la evidencia de la infección con VDVB ha sido reportado en la familia Antilocapridae, Bovidae, Camelidae, Giraffidae, y Tragulidae, incluyendo más de 50 especies (Grondahl *et al*, 2003). Artiodáctilos son los más diversos, y los más grandes mamíferos terrestres, vivos hasta hoy. Conforman la quinta parte de los mamíferos; consta de 80 géneros, y aproximadamente 235 especies. Aunque la mayoría de los artiodáctilos viven en hábitats relativamente abiertos, se pueden encontrar en todo tipo de hábitat, incluyendo algunos sistemas acuáticos, y son originarios de todos los continentes, excepto Australia y la Antártida. Dentro de este orden se describe a la familia de los ciervos (Cervidae) que son mamíferos rumiantes que incluye los ciervos o venados, nombre común que reciben ciertos mamíferos artiodáctilos (dotados de un número par de pezuñas), cuyo rasgo más característico es la presencia de astas (Grubb, 2005).

Los cérvidos han tenido y tiene un papel importante en la economía de los pueblos indígenas y mestizos debido al consumo de su carne, al uso de sus pieles para elaborar prendas de vestir y artesanías, entre otras cosas. La cacería ilegal se ha extendido a muchas regiones del país, produciendo un gran impacto en la presencia de las diferentes especies. Desde una perspectiva biológica, los cérvidos son especies claves dentro de la naturaleza al formar parte de una red alimenticia como herbívoro dispersor de las semillas de las diversas plantas que come, y como presa de carnívoros: puma, tigrillo y algunos otros (Fulbright & Ortega, 2007).

En la historia de Ecuador una especie se encuentra extinta *Hippocamelus antisensis* conocida como el Ciervo Andino, debido al aumento de la producción agrícola y el aumento de la frontera agrícola, la misma que lleva un ritmo de crecimiento del 3% anual, sin tomar en cuenta las necesidades de la población (Santos & Vázquez, 2009). Actualmente el avance de la frontera agrícola está afectado a las demás especies de cérvidos las cuales están distribuidas, en toda la región, y estos son: *Mazama americana*,

Mazama nemorivaga, *Mazama rufina*, *Odocoileus peruvianus*, *Odocoileus virginianus ustus*, *Pudu mephistophiles*. (Tirira, 2011).

El avance de la frontera agrícola obliga a los cérvidos a dirigirse hacia las explotaciones ganaderas, con ello se ven amenazados a adquirir enfermedades por el contacto con animales (Suárez, 2004). Además el contacto con personas o perros provoca en los cérvidos y en los animales silvestres un Trastorno de Estrés Posttraumático (TEP), el estrés es un tipo de reacción que se activa en aquellas situaciones en que los animales perciben que no tienen suficientes recursos para atender a las demandas (Lazarus, 1990). En algunos casos el estrés puede comenzar a producir algunos síntomas, tales como pérdida de rendimiento, alta activación fisiológica, agotamiento, insomnio, dolores musculares, contracturas, ansiedad, irritabilidad, etc. y puede provocar la muerte del animal, provocando que los cérvidos mueran por el contacto con perros o personas que provoquen este síntoma (Lazarus, 1990; Cano & Serrano, 2006; González & Landero, 2006).

En los cérvidos las enfermedades descritas por Suárez (2004), como las más comunes están relacionadas a problemas respiratorios, afecciones virales, parásitos y hongos, este autor describe enfermedades tales como: Babesiosis bovina, Botulismo, Brucella abortus, Criptococosis, Criptosporidiosis, Dermatofitosis, Enfermedad debilitante crónica, Fiebre aftosa, Fiebre catarral maligna, Fiebre efimera bovina y *Rhipicephalus annulatus*.

Dentro de las aflicciones virales presentes en los cérvidos podemos destacar la participación de la familia **Flaviviridae** que es una familia de virus que se propagan principalmente por vectores artrópodos (especialmente garrapatas y mosquitos) (Belcher, *et al.*, 1999). En esta familia se incluyen los siguientes géneros:

- Género *Flavivirus* (la especie tipo es el *Virus de la fiebre amarilla*, también incluye el *Virus del Nilo Occidental* y el *Virus del dengue*). Se han identificado en total 67 virus en humanos y animales.
- Género *Hepacivirus* (la especie tipo es el *Virus de la hepatitis C*, único miembro).
- Género *Pestivirus* (la especie tipo es la *Virus de la diarrea bovina*, también *Virus de la peste porcina*). Otras especies infectan mamíferos no humanos.

Una de las características de estos virus es que contienen un genoma ARN monocatenario positivo y por lo tanto se incluyen en el Grupo IV de la Clasificación de Baltimore (Belcher, *et al.*, 1999). El genoma es lineal, no segmentado, con una longitud de 9,6 a 12,3 kilobases. Los terminales 5' de *Flavivirus* presentan un cap del nucleótido metilato, mientras que otros miembros de esta familia no lo tiene y codifican un punto de

Introducción

entrada ribosómico. Los Flaviviridae carecen de un extremo 3' de poliadenilado. Las partículas virales presentan envoltura y son esféricas, de alrededor de 40 a 60 nm de diámetro (Corapi *et al.* 1990, Xue *et al.* 1990).

Dentro de la familia Flaviviridae se encuentra el género **Pestivirus**, un género que afecta a la mayoría de los mamíferos en especial a las spp. de la familia Bovidae, este género no se limitan entre especies donde pueden infectar desde, bovinos, ovinos, caprinos y de la familia Suidae que incluye a varias especies de: cerdos y otros (Webster & Granoff, 1994, Vilcek & Belak 1996).

Los virus del grupo Pestivirus tienen una espiral simple de ARN de sentido positivo (un ARN que puede ser directamente trasladado dentro de la proteína viral) que es de cerca de 12,5 kilobases (kb) de longitud (Becher, *et al.*, 1997).

Los Pestivirus son los causantes de la peste porcina y la diarrea vírica bovina, estando ampliamente distribuidos en Australia y en Sudamérica, principalmente en las explotaciones ganaderas. Algunos animales adultos son inmunes a la enfermedad, y otros son hospedantes crónicos. Si un feto se infecta dentro de los primeros tres a cuatro meses de gestación, es probable que fallen en desarrollar anticuerpos contra el virus en esos casos el animal frecuentemente muere antes de nacer o poco después (Becher, *et al.*, 1997). Los síntomas de la infección por Pestivirus incluyen diarrea, problemas respiratorios y desórdenes hemorrágicos (Becher, *et al.*, 1999).

Existen vacunas anti Pestivirus y la estrategia de vacunas depende del rebaño y de la situación endémica de la región. La vacunación se debe realizar regularmente para mantener la inmunidad (Becher, *et al.*, 1999).

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

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) pertenece a este género Pestivirus (Donis, 1995). Se componen de una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella (Dubovi, 1994).

Introducción

La principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. La característica principal de un virus ARN es su plasticidad y ésta se debe a la falta de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia (1 error por cada 10.000 nucleótidos polimerizados). El VDVB usa estrategia para sobrevivir, originando cepas mutantes que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador. El cruce de especies crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente. Sin embargo, el virus DVB aislado de cerdos y ovejas tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino (Paton, 1995).

La clasificación del VDVB es difícil, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género Pestivirus (virus de la peste porcina clásica y virus de la enfermedad de la frontera del ovino) (Nettleton & Entrican, 1995). Según sus efectos en los cultivos celulares, los Pestivirus se dividen en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Esta enfermedad tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. La mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2 % de bovinos persistentemente infectados (IPI) y 60 a 80 % de bovinos seropositivos (Houe, 1999).

La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos IPI. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos (Houe, 1995).

Existen dos maneras de transmitir el virus, estas pueden ser:

- a) Transmisión vertical: la infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del día 125 de gestación, aproximadamente) desarrollará una infección persistente. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales IPI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen. Hembras IPI siempre dan terneros IPI. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es IPI, o la vaca donante es IPI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Houe, 1995, 1999).

- b) Transmisión horizontal: el contacto directo con animales IPI, especialmente contacto nariz–nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales 38. El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus. (Houe, 1995,1999).

El VDVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes, en algunos hospedadores no se ha podido determinar síntomas para el virus, como es el caso de Cérvidos (Bielefeldt, 1995).

Entre las enfermedades asociadas con el virus de la diarrea vírica bovina podemos tener:

- **Infección subclínica.** La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad (Kelling, 1996).
- **Infección aguda severa.** Inicialmente se prestaba poco interés a las infecciones agudas, dada su baja mortalidad (Baker, 1987).
- **Síndrome hemorrágico.** Virus del genotipo 2 del VDVB se asocian a una condición fatal denominada síndrome hemorrágico (Baker, 1987; Kelling, 1996).
- **Inmunodepresión.** El VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos coinfectantes (Brodersen & Kelling, 1998).
- **Enfermedades respiratorias.** El VDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios (Baule, 2000).
- **Trastornos reproductivos.** El mayor impacto económico de la infección con el VDVB es el ocasionado por los trastornos reproductivos (Moennig & Liess, 1995).
- **Enfermedad mucosa.** Esta condición solo ocurre en animales PI que sufren sobreinfección con biotipos CP homólogos (Grooms, 1998).

Debido al amplio tipo y severidad de lesiones inespecíficas, en ocasiones solo evidenciadas por microscopía, el diagnóstico se basa únicamente en el aislamiento del virus o detección del antígeno viral específico. El objetivo principal del diagnóstico es la

Introducción

detección y remoción de bovinos IPI, principal fuente de infección y reservorio del virus (Bielefeldt, 1995).

La distribución de anticuerpos en los distintos grupos de edades de rebaños con animales IPI y sin animales IPI. Estudios epidemiológicos han permitido desarrollar diferentes métodos serológicos para la detección de rebaños con infección activa (con bovinos IPI) de manera simple, eficaz y económica (Houe, 1995).

El muestreo persiguió un doble propósito; por un lado el obtener muestras de sangre con la finalidad de hacer los análisis para la determinación de la prevalencia y dispersión del virus de la Diarrea Vírica Bovina y por otro, se realizó un análisis epidemiológico para determinar las variaciones asociadas con el estado de seropositividad.

Este estudio se enfoca en determinar la prevalencia del virus de la diarrea vírica bovina en los cérvidos pues no se cuenta con información sobre el ciclo de vida del virus en estos mamíferos, además este es un virus de importancia económica a nivel mundial ya que afecta directamente a las explotaciones ganaderas, en donde el animal infectado con este virus llega a morir y esto implica un alto índice de pérdida en la producción de ganado y producción de leche.

Preguntas de investigación

El estudio está basado en tres preguntas

1. ¿Se encuentra presente el Virus de la Diarrea Vírica Bovina (VDVB) en ciervos en cautiverio en las UMVS en Ecuador? Los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) determinarán la prevalencia de VDVB en los cérvidos
2. ¿Qué seroprevalencia presentan los cérvidos? Las pruebas de ensayo inmunoenzimático (ELISA) nos ayudaran a determinar la seroprevalencia siendo este ensayo de competición para la detección de anticuerpos específicos frente al virus de la Diarrea Viral Bovina en muestras de suero y así determinar que los cérvidos son seroprevalentes.
3. ¿Cuáles son los principales factores de riesgo para la transmisión del virus? Con ayuda de encuestas epidemiológicas diseñadas para determinar los posibles focos de infección, que ayudan a la propagación del VDVB en cérvidos en las Unidades de manejo de vida silvestre (UMVS) ubicadas en todo Ecuador.

Hipótesis

El Virus de la Diarrea Vírica Bovina cruza la barrera de infección, por lo tanto los cérvidos que se encuentran en las Unidades de Manejo de Vida Silvestres son seroprevalentes.

CAPÍTULO II. Materiales Y Métodos

El estudio se realizó en todas las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) que manejan cérvidos, ubicadas en 17 cantones en las provincias del Guayas, El Oro, Azuay, Pichincha, Santo Domingo, Cotopaxi, Orellana, y Tungurahua, como se muestra en la Figura 1.

Siendo un total de 28 las UMVS (Anexo 1) que manejan cérvidos en Ecuador, las mismas que están ubicadas en las tres regiones naturales del Ecuador continental: costa, sierra y oriente y las cuales se encuentran divididas en: zoológicos, centros de rescate, zocriadero, centro de manejo, zocriadero comercial y centros recreacionales que funcionan como centros de rescate e interpretación (MAE, 2012)

Ecuador al estar en la zona ecuatorial, cuenta con un clima variado debido al relieve topográfico y a la influencia de la corriente fría de Humboldt en verano y la cálida de El Niño en invierno. La región de la costa es calurosa y húmeda, en la sierra varía según la altitud y las horas del día y la región del oriente o amazónica es más cálida y húmeda que la costa (Médail & Quezel, 1997).

A cada UMVS se les envió un oficio por parte del Ministerio del Ambiente (MAE), con el permiso para la toma de muestras de sangre.

2.1 Zona de Estudio.

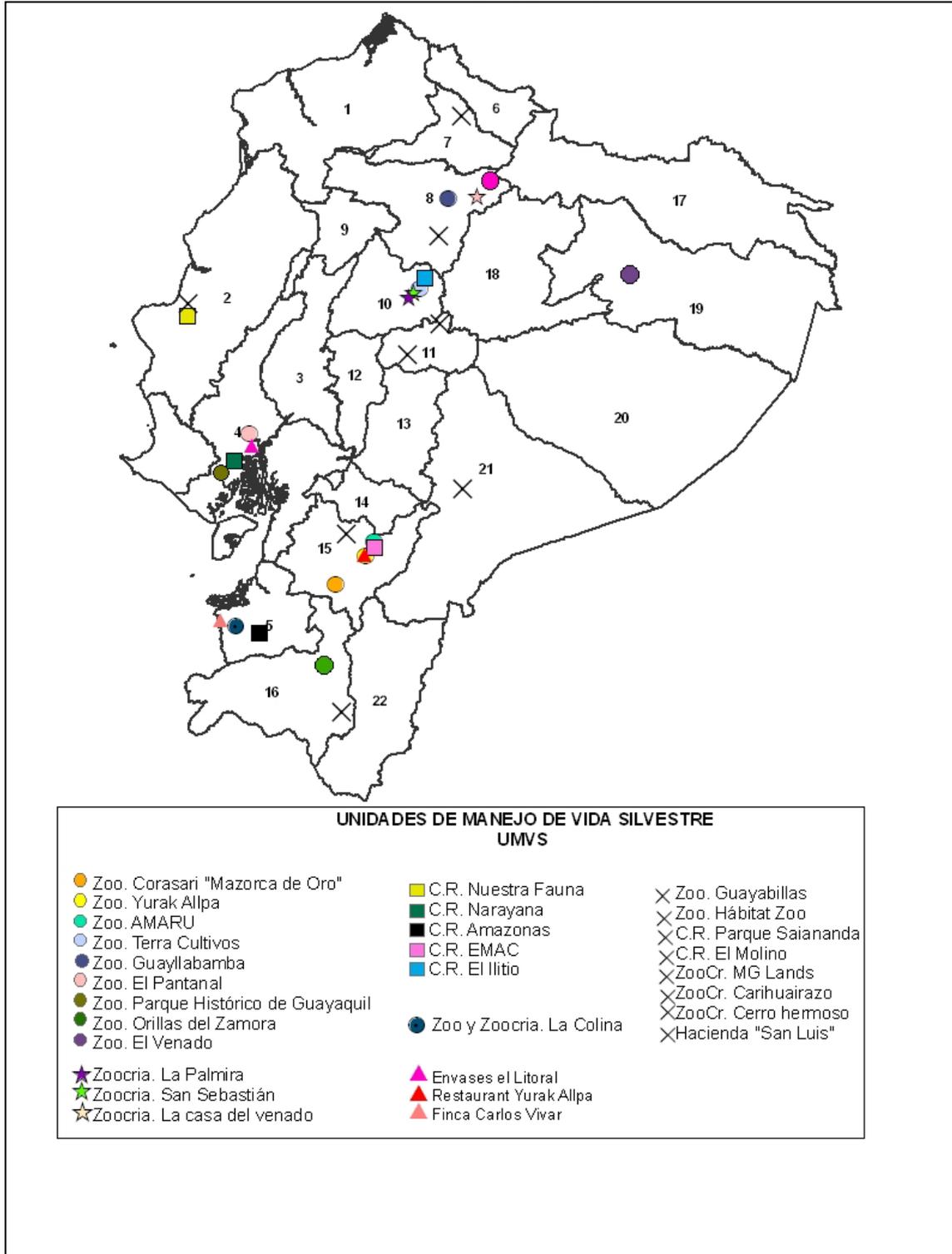


Figura 1: Distribución de las UMVS muestreadas en Ecuador

2.2 Muestreo.

Para determinar el tamaño de muestra se tomó en cuenta la cantidad de individuos presentes en las UMVS de Ecuador. Según el Ministerio del Ambiente son 173 cérvidos entre *O. virginianus* y *Mazama spp.*, sin embargo no cuentan con registros de cuantos individuos pertenecen a cada especie.

Para la obtención del número de muestras utilizamos el programa estadístico Win Episcopo 2.0 desarrollado por la Universidad de Zaragoza, para lo cual se introdujeron los siguientes parámetros estadísticos 95% de confiabilidad y con un margen de error del 5%. No se encontró estudios preliminares que presenten datos de la prevalencia de VDVB en Sudamérica para ello utilizaremos el 3.73% de prevalencia esperada, siendo esta la media entre los estudios realizados por Ellsworth *et al.*,(1994); Evermann *et al.*, (2006) y Kirchgessner, (2010), dándonos como resultado un total de 42 muestras a nivel de todas las UMVS en Ecuador.

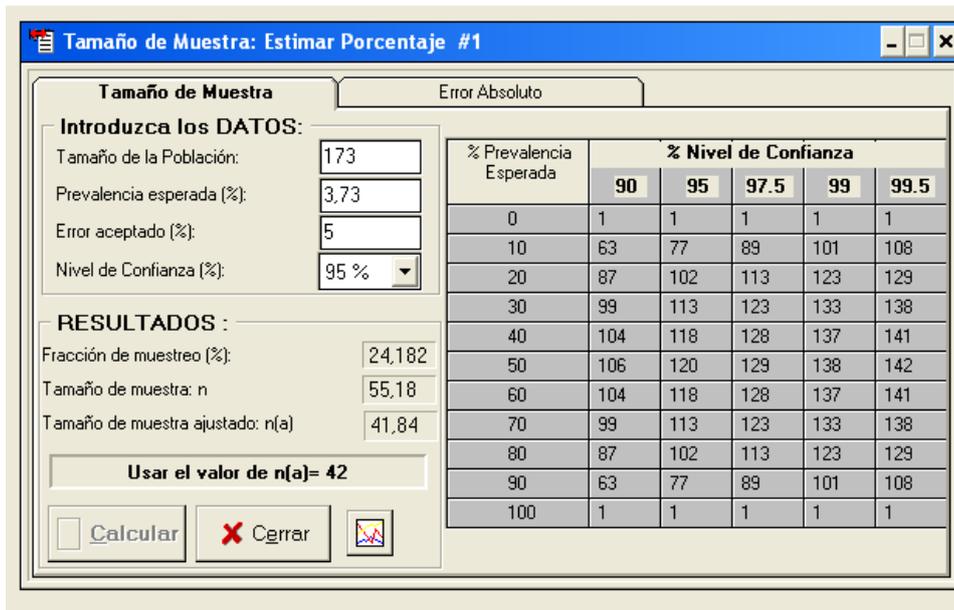


Figura 2: Programa estadístico Win Episcopo 2.0

Con este dato (42 muestras), el estudio se basó en las tres especies que se encuentran en las unidades de manejo de vida silvestres (*M. rufina*, *M. americana* y *O. virginianus*). Con la base de datos otorgada por el MAE la cual no especifica cuantos individuos hay de cada especie, se determinó la toma de muestras de sangre a uno o dos cérvidos en cada unidad de manejo de vida silvestre con el fin de tener una base de datos confiable y alcanzar el número de muestras deseado.

Se logró recolectar un total de 53 muestras de sangre en la UMVS: en *O. virginianus* se tomaron a 42 individuos, *M. americana* 8 individuos y *M. rufina* 3 individuos.

Las especies muestreadas se describen a continuación:

2.2.1 *Mazama americana* (Erxleben, J. 1777).

Nombres comunes: taruka, soche colorado, venado colorado, venado moro, venado encerado, chonto, chivicabra (Tirira, 2004). En Ecuador se lo encuentra en la Costa, Amazonía y estribaciones de los Andes. Habita en bosques húmedos y secos, tropicales y subtropicales entre 0 y 2 000 metros de altitud (Tirira, 2007). Son animales de hábitos diurnos o nocturnos y son solitarios. Su tasa de reproducción es baja, tienen de una a dos crías por año después de un período de gestación de ocho meses. Se estima que el área de vida de un macho adulto puede llegar a 100 ha (Whitehead, 1993).



Figura 3: *Mazama americana*
Foto: Autor

Estatus de conservación

- Lista Roja UICN (2008): Datos insuficientes.
- Lista Roja Ecuador (Tirira (ed), 2011): Preocupación menor.
- CITES: Ningún Apéndice.

Se trata de la especie viviente más grande dentro del género *Mazama*. Su cuerpo es esbelto y presenta un pelaje corto y brillante de una coloración marrón rojizo a marrón castaño oscuro. La coloración de la zona ventral es amarilla cremosa. Presenta ojos grandes mientras que sus orejas son cortas pero anchas con un ligero manchón de pelos blanquecinos. La cola es corta y bicolor. Las patas son largas y delgadas. A diferencia de las hembras, los machos adultos poseen cornamentas rectas y cortas sin ramificaciones.

2.2.2 *Mazama rufina* (Pucheran, M. 1851).

Nombres comunes: venado chonta, venado conejo, pudu, ciervo enano, venadito de los páramos (Tirira, 2004). En Ecuador habita únicamente en la Sierra y tiene una

distribución discontinua. Habita en climas fríos mayormente altoandino entre 2 800 y 4 500 msnm. Prefiere páramos abiertos. La mayoría de registros provienen de la Cordillera Oriental de los Andes (Tirira, 2007).

No se conoce mucho sobre la biología e historia natural de esta especie pues es considerado como uno de los cérvidos americanos más difíciles de encontrar. Aparentemente tiene actividad diurna y nocturna con frecuentes períodos de descanso entre cada período. Se los encuentra solitarios o en pareja pero nunca formando grupos grandes. Cuando se siente en peligro se resguardan en matorrales densos y barrancos corriendo muy rápidamente, costumbre que podría estar relacionada a su nombre común “venado conejo” (Delgado & Lizcano, 2006). La gestación dura aproximadamente siete meses luego de los cuales nace un solo individuo. Los individuos obtienen su tamaño adulto a los tres meses de edad y alcanzan la madurez a los tres años (Tirira, 2007).



Figura 4: *Mazama rufina*.

Foto: Autor

Estatus de conservación

- Lista Roja UICN (2008): Vulnerable.
- Lista Roja Ecuador (Tirira (ed), 2011): Vulnerable.
- CITES: Apéndice II.

Es el venado más pequeño de los presentes en el Ecuador. El pelaje es áspero, algo largo y abundante. El dorso es marrón rojizo oscuro, más oscuro hacia la línea media de la espalda mientras que hacia los flancos es rojizo oliváceo. El rostro es negruzco incluyendo el hocico, el mentón y la cara externa de las orejas. La región ventral y la cara interna de las piernas es marrón pálido a marrón rojizo pálido. Los machos presentan cornamentas pequeñas y sin ramificaciones. La cola es pequeña, oscura y de similar coloración al dorso (Tirira, 2007).

2.2.3 *Odocoileus peruvianus* (Gray, J. E. 1874).

Nombres comunes: yurak taruka, venado de cola blanca, venado sabanero, venado de paja, venado de páramo (Tirira, 2004). Esta especie se distribuye desde el sur de Canadá, Estados Unidos (excepto el suroccidente) y México hasta Sudamérica incluyendo Perú, Ecuador, Bolivia, Colombia, Venezuela, Guayanas y el norte de Brasil. La especie fue introducida en Checoslovaquia, Finlandia y Nueva Zelanda (Gallina & López, 2008). En Ecuador se distribuye en la Sierra y Costa Sur y se divide en dos poblaciones. La primera se encuentra en los páramos de todo el país entre 3 000 y 4 500 msnm mientras que la segunda población se restringe a los bosques secos tropicales del suroccidente entre 0 y 1 000 msnm. No se encuentra en bosques húmedos (Tirira, 2007).



Figura 5: *Odocoileus virginianus*
Foto: Autor

Estatus de conservación

- Lista Roja UICN (2008): Preocupación menor
- Lista Roja Ecuador (Tirira (ed), 2011): Preocupación menor.
- CITES: Ningún Apéndice.

Molina y Molinari (1999) realizaron un estudio de las poblaciones sudamericanas de la especie y determinaron que constituye una especie distinta de *Odocoileus virginianus*. Voss (2003) reconoce a nivel específico a *O. peruvianus*, cuya localidad tipo se encuentra en los Andes peruanos. Las poblaciones del trópico seco del Ecuador podrían tratarse de otra especie (Tirira, 2007) ya que Molina y Molinari (1999) consideran que únicamente en Venezuela existirían cuatro formas diferentes. Sin embargo, Wilson y Reeder (2005) no aceptan la separación de *Odocoileus virginianus* en varias especies según había sido propuesto por varios y consideran a *O. peruvianus* como un sinónimo junior. Como especies similares en el Ecuador se encuentran los venados del género *Mazama* los

cuales son mucho más pequeños de coloración rojiza, con las cornamentas cortas y simples y las patas posteriores más largas que las anteriores por lo cual su espalda no es horizontal (Tirira, 2007).

2.3 Obtención y procesado de las muestras de sangre.

Con el fin de evidenciar y determinar la prevalencia del Virus de la Diarrea Vírica Bovina en los cérvidos en cautiverio en las UMVS de Ecuador y conocer ¿Si los cérvidos son seroprevalentes para el VDVB? Se tomaron las muestras de sangre a los 53 individuos.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción en la vena yugular o venas caudales empleando tubos vacutainer™ de 10 ml con sus respectivas agujas. Tras la coagulación se procedió a la separación del suero y/o centrifugando a 2.000 rpm durante 10 minutos. A continuación, el suero se colocó en tubos de reacción Eppendorf™, los mismos que fueron identificados en una plantilla mediante una clave numérica (proporcionada por el MAE-Ecuador) y posteriormente fueron congelados a -25°C hasta el momento de su procesado.

2.4 Inmunoensayo.

Se emplearon pruebas inmunoenzimáticas comerciales ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) para la determinación de anticuerpos. La técnica se describe según la metodología propuesta por los fabricantes del kit.

Para la determinación de la seropositividad frente a este agente se empleó el kit comercial de la empresa Ingenasa S.A denominado Ingezim BVD Compac® (Prod Ref: 12.BVD.K3). El cual trata de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) de competición para la detección de anticuerpos específicos frente al virus de la Diarrea Viral Bovina multiespecie en muestras de suero.

Según los fabricantes del kit (INGENASA) los parámetros de validez interna de esta técnica son un 95,71% de sensibilidad y un 92,31% de especificidad.

La prueba se realizó sobre un soporte sólido de polietileno. Sobre cada pocillo se dispuso los sueros a evaluar de modo que, en el caso de que contengan anticuerpos específicos frente al VDVB, se unen al antígeno de la placa "ocupado" los determinantes antigénicos específicos. En el caso de que el suero los anticuerpos específicos no se hallen presentes, los determinantes antigénicos permanecerán "libres".

A continuación, se añadió en cada uno de los pocillos un anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa específico para la proteína p80/p125 del virus, que ocuparán aquellos determinantes antigénicos que hayan permanecido libres tras la adición del suero.

Después de eliminar mediante lavados el resto del material no adherido y tras añadir en cada pocillo el sustrato adecuado para la peroxidasa, se observará la aparición de una reacción coloreada allí donde los conjugados hayan encontrado epítomos específicos sin ocupar por los anticuerpos del suero problema.

En consecuencia, se observó una reacción coloreada en aquellos sueros que no contuvieron anticuerpos, mientras que en aquellos positivos frente al VDVB no se observará tal reacción. Para ver el protocolo más detallado revisar el Anexo 2.

2.5 Encuestas.

Con ayuda del listado de las UMVS proporcionado por el Ministerio del Ambiente (MAE, 2012), procedimos a comunicarnos con cada una de ellas para poder determinar qué unidades poseen cérvidos.

Se realizó una visita *in situ* donde se aplicaron encuestas con el fin de determinar: ¿Cuáles son los posibles factores de riesgo para VDVB en los cérvidos en cautiverio en las UMVS en Ecuador?

El diseño de la encuesta se realizó siguiendo las recomendaciones de Tomas y Cols. (1996), quienes señalan que para la realización de una encuesta epidemiológica deben estar previamente definidos algunos parámetros: en primer lugar, determinar con precisión la información necesaria a incluir en función de los objetivos de estudio; en segundo lugar, señalar que debe mantenerse un escurpulosos respeto a las reglas de ética y al anonimato de las personas y unidades de manejo muestreadas, y por último, debe seguir un proceso lógico y secuencial en la concepción del cuestionario. Considerando estos criterios para el diseño de la encuesta epidemiológica y de acuerdo con la bibliografía consultada, se incluyeron variables de carácter meramente descriptivo, así como todas aquellas que pudieran estar relacionadas con la presencia o ausencia de la infección por el virus de la diarrea vírica bovina, tanto las relativas a las prevalencias como a la dispersión, con esto se pudo dividir a las encuestas en dos parámetros: a) Calidad Ambiental y Manejo y b) Seguridad de los Alojamientos (Anexo 3 Encuesta).

2.6 Análisis.

Análisis descriptivo y bivariante.

Respecto al análisis estadístico, se calculó: la media y su desviación típica y el valor máximo y mínimo. Posteriormente se categorizaron aquellas variables numéricas atendiendo a criterios epidemiológicos, convirtiéndose en variables nominales ordinales de las que se determinará la distribución de frecuencias (Thrusfield, 2007).

Se realizó un análisis bivariante para cada variable, este tipo de análisis se incluye a continuación del descriptivo. Para este análisis se construyeron las tablas de contingencia frente a los resultados de las pruebas serológicas y los estadísticos que valoran la existencia o no de asociación.

En las variables dicotómicas, dicha asociación se determinó según dos estimadores: la Phi y la Odds Ratio. Ambos muestran la fortaleza y el sentido de la asociación (directa o inversa). Para poder concluir si la asociación es o no significativa es preciso determinar el valor estadístico de p . Así, tanto en el caso de la Phi como en el de la Odds Ratio, se considera significativa la asociación, para un nivel de confianza del 95 por ciento, si p es menor o igual a 0,05. En la Odds Ratio, la p determina el intervalo de confianza, que ha de excluir el valor 1 para que la asociación sea significativa (Thrusfield, 2007).

Una vez determinada la significación, valores positivos de la Phi y valores superiores a la unidad para la Odds Ratio, se interpretan como asociación directa, actuando esas variables como factor de riesgo. Por el contrario, valores negativos de la Phi o valores de Odds Ratio inferiores a la unidad determinan que la variable suponga un factor de protección.

A diferencia de lo señalado para las variables nominales dicotómicas, en las nominales de más de dos categorías se utilizará la V de Cramer, parámetro estadístico equivalente a la Phi, salvo que no posee un sentido directo o inverso (Thrusfield, 2007).

Por último, las variables numéricas, como ya indicamos, serán categorizadas, estimando a continuación la V de Cramer y su p asociada, que nos indican si una categoría supone un riesgo o una protección significativamente mayor que el resto, y la tau b de Kendall y su p asociada, que expresa la existencia o no de un "orden significativo" entre las distintas categorías de la variable.

Tabulación de datos:

La tabulación de los datos de cada una de las variables se los efectuó mediante el programa estadístico SPSS, 15.0. Éste es un sistema global que sirve para el análisis de datos y puede adquirir cualquier tipo de archivo, utilizarlos para generar informes tabulares, gráficos y diagramas de distribución y tendencias, estadísticos descriptivos y análisis estadísticos complejos, para este estudio se utilizaran estadísticas descriptivas básicas (Castañeda et al, 2010).

CAPÍTULO III. Resultados y Discusión

En este estudio de las 28 unidades de manejo de vida silvestre que manejan cérvidos se logró tomar muestras en 14 unidades, abarcando un 50 % de las UMVS que maneja cérvidos, en el resto de la UMVS que no se muestrearon fue por problemas de infraestructura y de disposición para la tomas de muestras, pues algunas de las UMVS no contaban con la infraestructura adecuada para la facilitación de la toma de muestra.

En la UMVS muestreadas se logró tomar un total de 53 muestras de sangre de cérvidos, de las 42 necesarias para este estudio. En la Tabla 1 se muestran las UMVS muestreadas y las especies.

Tabla 1: Unidades de Manejo de Vida Silvestres muestreadas.

Unidad de manejo de vida silvestre (UMVS)	Provincia	Especie	Número de Individuos
Amazonas	El Oro	<i>Odocoileus virginianus</i>	1
		<i>Mazama americana</i>	2
Bosque Tropical	El Oro	<i>Odocoileus virginianus</i>	3
Parque Histórico de Guayaquil	Guayas	<i>Odocoileus virginianus</i>	3
Envases del Litoral	Guayas	<i>Odocoileus virginianus</i>	2

Resultados y Discusión

Tabla 1 (continuación)

Unidad de manejo de vida silvestre (UMVS)	Provincia	Especie	Número de Individuos
AMARU	Azuay	<i>Odocoileus virginianus</i>	2
Yurak Alpa	Azuay	<i>Odocoileus virginianus</i>	5
EMAC	Guayas	<i>Odocoileus virginianus</i>	6
Zoocriadero San Sebastián	Cotopaxi	<i>Odocoileus virginianus</i> <i>Mazama americana</i>	5 3
Agrinac – Terracultivos	Cotopaxi	<i>Odocoileus virginianus</i> <i>Mazama rufina</i>	3 3
Zoológico Guayabamba	Pichincha	<i>Odocoileus virginianus</i>	4
Casa del Venado	Pichincha	<i>Odocoileus virginianus</i>	3
El venado	Orellana	<i>Odocoileus virginianus</i>	2
Finca de Militar	Santo Domingo	<i>Odocoileus virginianus</i> <i>Mazama americana</i>	1 3
Venado de Cola Blanca	Pichincha	<i>Odocoileus virginianus</i>	2

Con todas las muestras tomadas se procedió a los análisis de ELISA y al análisis de las encuestas hechas a cada UMVS, con el fin de contestar a las preguntas planteadas en el estudio:

3.1 ¿Se encuentra presente el Virus de la Diarrea Vírica Bovina en Cérvidos en cautiverio en las UMVS en Ecuador?

Con ayuda de placas de ELISA se pudo determinar la presencia del virus de la Diarrea Vírica Bovina (VDVB), se realizó una doble replicación por cada suero problema con la finalidad de tener datos más exactos, en la Tabla 2 se exponen el resultado de la media de las dos placas.

Se observó la placa y se determinó el *Cut off positivo* **0,56** y el *Cut off negativo* **0,61**. Con ayuda del *Cut off*, se observó 25 individuos infectados con el VDVB: E, F, G y H 1; C, D, E y F 2; B, C E y G 3; B, C, D, E, F y G 4; A, D E y G 5; B, E y G 6, en el caso de B6 que tiene un Abs de **0,562**, se lo toma positivos ya que se acerca al *Cut off positivo* ya determinado y se lo puede ver como un Cérvido que se está infectando con el VDVB. El ELISA se basa por los antígenos virales inactivados y al ser contacto la sangre con anticuerpos de VDVB se activan, al ver una menor cantidad de anticuerpos frente al virus la muestra de sangre se va acercar al valor negativo (B6) pero no se aleja del umbral de

Resultados y Discusión

positivo como los demás negativos, por lo tanto el error de la placa es de +0,01 para positivos, por tal motivo determinamos a B6 positivo.

Tabla 2: Placa de ELISA Cérvidos

	1	2	3	4	5	6	7
A	0,087	0,647	0,578	0,8385	<u>0,3645</u>	0,6985	0,7865
B	1,121	1,088	<u>0,411</u>	<u>0,351</u>	0,85	<u>0,562</u>	0,639
C	1,7315	<u>0,5595</u>	<u>0,299</u>	<u>0,473</u>	0,814	0,7355	0,87
D	0,667	<u>0,4735</u>	0,571	<u>0,3245</u>	<u>0,366</u>	0,5935	0,817
E	<u>0,5285</u>	<u>0,5275</u>	<u>0,445</u>	<u>0,279</u>	<u>0,5505</u>	<u>0,3705</u>	0,66
F	<u>0,49</u>	<u>0,2515</u>	0,5715	<u>0,3865</u>	0,6555	0,6245	0,8385
G	<u>0,301</u>	0,639	<u>0,0625</u>	<u>0,503</u>	<u>0,3945</u>	<u>0,5455</u>	0,6595
H	<u>0,45</u>	0,6305	0,719	0,585	0,6185	0,6295	0,849

Un estudio en donde utilizaron 325 muestras de suero recogidas en 2009 en Nueva York, muestras procedentes de cazadores de ciervos y 291 ciervos capturados vivos de Pennsylvania observaron que solo 21 de 325 dieron positivos en Nueva York para el VDVB y 1 de 291 dio positivo en Pennsylvania para el virus (Kirchgessner, 2010). En este estudio se pudo recolectar un total de 53 muestras de sangre de cérvidos en cautiverio y nos dio como resultado 25 positivas de 53 muestras.

3.2 ¿Los cérvidos son seroprevalentes para el VDVB?

La seroprevalencia se la determino por medio del kit en la placa de ELISA, (Tabla 1), obteniendo 25 individuos infectados dándonos una seroprevalencia del **47,2% (25/53)**.

En un estudio realizado en Nueva York calcularon una seroprevalencia VDVB de 6,46% (21/325); y en Pennsylvania, se determinó una seroprevalencia de menos de 1% (1/291) (Kirchgessner, 2010). Al comparar con la seroprevalencia de los cérvidos de 47,2% (25/53) se puede determinar que los cérvidos de las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMVS) en Ecuador son seroprevalentes.

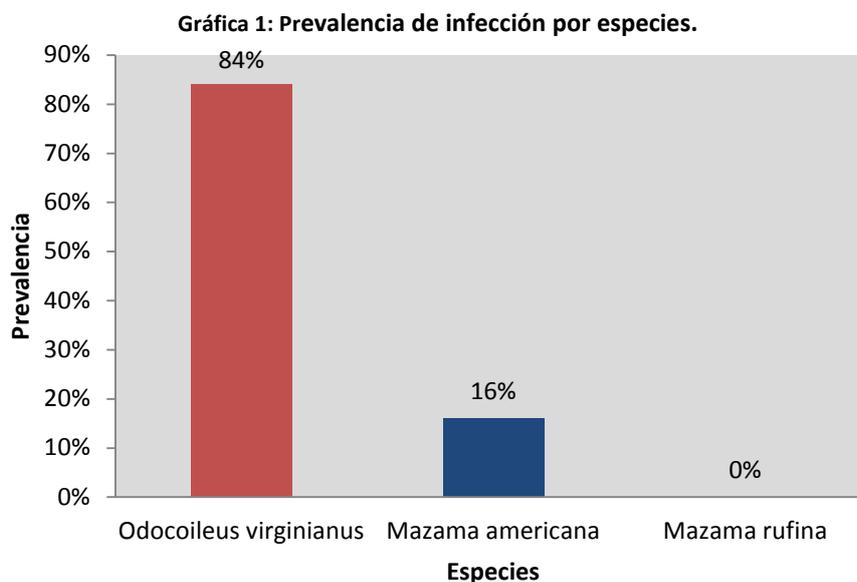
Un estudio realizado en explotaciones lecheras en Ecuador (Saa, 2009) determinó la dispersión del VDVB en 74,5%, la mayoría de UMVS se encuentran cerca de las explotaciones ganaderas, al ser un virus que ha tomado diferentes formas de dispersiones desde aéreas hasta contacto con organismo infectados, en tan solo 53 muestras de sangre su obtuvo un 47,2% de prevalencia del virus en cérvidos, se sabe en bovinos todo el cuadro de patologías, desde abortos hasta enfermedades respiratorias, en el caso de los cérvidos estos no presentan ningún cuadros patológicos, la única manera de determinar si los cérvidos están infectados es mediante de pruebas

serológicas o de análisis histoquímicos, además ninguna de las UMVS tiene un programa de vacunación para los cérvidos como resultado los cérvidos se convierten en una forma más de supervivencia del virus.

Al ser un virus que ha tomado diferentes vías de propagación, su supervivencia se ve reflejada al infectar a cérvidos y al pasar la barrera de especies y según Grondahl que determinó el alcance del virus a las familias: Antilocapridae, Bovidae, Camelidae, Giraffidae, Tragulidae y Cervidae en el rango de infección del Virus de la Diarrea Vírica Bovina.

En el estudio se logró tomar muestras de las tres especies más manejadas en las UMVS, tomando un total: en *O. virginianus* 42 muestras, *M. americana* 8 y *M. rufina* 3 muestras de sangre.

La especie *O. virginianus* se encuentra en mayor frecuencia en las UMVS, y se vio más afectada por el virus con un 84% de infección, seguida por *M. americana* con un 16% de infección, no se encontró evidencia del virus para *M. rufina* como se observa en el Gráfico 1.



3.3 ¿Cuáles son los principales factores de riesgo para la transmisión del virus?

De acuerdo con la pregunta planteada, en primer lugar el análisis descriptivo de la encuesta epidemiológica nos ayudó a determinar cuáles son el principal foco vírico implicado en el Diarrea Vírica Bovina (VDVB). En segundo lugar se realizó un análisis bivalente, recogiendo solo aquellas variables significativamente asociadas a la dispersión y prevalencia del VDVB. A continuación se realizó el análisis descriptivo de

Resultados y Discusión

todas las variables recopiladas en la encuestas. El análisis descriptivo se analizó en cada una de las variables en forma independiente. En el caso de los resultados serológicos se obtiene las prevalencias, tomando los sueros como unidad. Las variables incluidas en la encuesta son las denominadas independientes, pudiendo clasificarlas en numéricas y categóricas. En este sentido, para el análisis de las variables numéricas se ha obtenido la media, la mediana, la varianza y los valores máximos y mínimos, que se exponen en la Tablas 3.

Tabla 3: Análisis descriptivo de las variables numéricas.

Variable	Media	Mediana	Moda	Varianza	Mínimo	Máximo
Aptitud	3,95	4,00	6	4,232	1	6
Modo de Obtención de las Especies	4,23	7,00	7	9,087	1	7
Número de Cérvidos	4,12	3,00	3	2,797	2	7
Especies Presentes	7,00	9,00	9	10,031	2	10
Cuántas veces cambian el agua	2,35	2,00	2	0,232	2	3
Temperatura	2,45	2,00	2	0,251	2	3
Humedad	2,49	2,00	2	0,254	2	3
Ventilación	2,77	3,00	3	0,180	2	3
Iluminación	2,03	2,00	2	0,030	2	3
Disponibilidad de una ambiente, espacio y estructura para permitir el ejercicio.	2,71	3,00	3	0,210	2	3
Disponibilidad de una ambiente, espacio y estructura para su reposo	2,32	2,00	2	0,222	2	3
Los alojamientos cuentan con condiciones higiénicas adecuadas	2,91	3,00	3	0,085	2	3
Alimentación	3,78	4,00	4	0,172	3	4
Tipo de alimentación	1,46	1,00	1	0,721	1	3
Comederos	1,60	2,00	2	0,244	1	2
Vacunas	3,83	4,00	4	0,143	3	4
Desparasitación	1,60	2,00	2	0,244	1	2
Donación de especies entre UMVS	1,17	1,00	1	0,143	1	2
Contacto con granjas bovinas	1,26	1,00	1	0,196	1	2
Enfermedades presentes	5,85	7,00	7	4,507	2	7
Los venados viven acompañados	1,49	1,00	1	0,754	1	3
Los venados salen al exterior	1,06	1,00	1	0,059	1	2
Los venados tiene contacto con personas	1,20	1,00	1	0,163	1	2

En el análisis descriptivo se pudo determinar las variables Aptitud, UMVS y Especies como variables independientes, siendo el resto variables dependientes. En la Tabla 4 y 5 se expone la distribución de las frecuencias de las variables independientes categóricas (por UMVS y por individuos respectivamente).

Resultados y Discusión

En la Tabla 4 la variable Aptitud en la categoría **Zoológico** es la de mayor frecuencia con el 35,8% y las de menor frecuencia son: los **Centros de rescate** y **Zoocriaderos** con el 20,8%. En las UMVS el centro de rescate **Venado de cola blanca** se pudo tomar a siete individuos la muestras que corresponde a un 13,2 %, seguido por **EMAC** y **San Sebastián** con seis individuos que corresponde al 11,3% y los centros **Envases del Litoral**, **AMARU** y **El venado** en los cuales se tomaron muestras a dos individuos que corresponden al 3.8% de frecuencia. En la variable modo de obtención de especies la categoría **Compra** tubo una frecuencia de 43.3% en relación con **Otros** modos de obtención que tuvo un valor bajo de 18,9%.

La Tabla 5 se exponen las variables independientes por individuos, siendo estas variables Especie y Sexo, en donde la variable **Especies** se presentan en mayor frecuencia la especie *O. virginianus* con el 79,2% seguida por *M. americana* con el 15,1% y *M. rufina* con el 5,7% de frecuencia. La variable **Sexo** las hembras tiene un 54,7% de frecuencia y los machos con el 45,3%.

Tabla 4: Análisis descriptivo de las variables independientes categóricas en UMVS

Variable	Categoría	Número de Animales	Frecuencia %
Aptitud	Centro de rescate	11	20,8
	Otros	12	22,6
	Zoológico	19	35,8
	Zoocriadero	11	20,8
UMVS	Amazonas	3	5,7
	Bosque Tropical	3	5,7
	Parque Histórico de Guayaquil	3	5,7
	Envases del Litoral	2	3,8
	AMARU	2	3,8
	Yurak Alpa	5	9,4
	EMAC	6	11,3
	Zoocriadero San Sebastián	6	11,3
	Agrinac – Terracultivos	4	7,5
	Zoológico Guayabamba	4	7,5
	Casa del Venado	3	5,7
	El venado	2	3,8
	Finca de Militar	3	5,7
	Venado de Cola Blanca	7	13,2
Modo De Obtención De Las Especies	Compra	23	43,4
	Decomiso	20	37,7
	Otros	10	18,9

Resultados y Discusión

Tabla 5: Análisis descriptivo de las variables independientes categóricas por individuos

Variable	Categoría	Número de Especies	Frecuencia %
Especies	<i>Odocoileus virginianus</i>	42	79,2
	<i>Mazama americana</i>	8	15,1
	<i>Mazama rufina</i>	3	5,7
Sexo	Macho	24	45,3
	Hembra	29	54,7

En el análisis bivariante las variables categóricas anteriormente descritas (incluidas las numéricas categorizadas) fueron sometidas a un análisis bivariante frente a las variables independientes de seropositividad, para el VDVB. Así, se calculó la Phi para variables dicotómicas y la V de Cramer para las variables con más de dos categorías, ambas con su p asociada para un nivel de confianza del 95%. Para las variables dicotómicas se calculó la Odds Ratio y su intervalo de confianza (I.C) para un nivel de significancia del 95%. Las variables seleccionadas, con sus valores de Phi o V de Cramer y su p asociada, así como los valores de Odds Ratio con el I.C., que se exponen en las Tablas 5 y 6.

Tabla 5: Variables seleccionadas en el análisis bivariante para VDVB

Variable	Phi o V Cramer	P	OR	IC
Provincia	0,716	0	0	0
Especie	0,86734456	0	0	0
Cantón	0,909	0	0	0
Modo de obtención de las especies				
Compra	0,151	0,225	1,302	0,863 - 1,964
Decomiso	0,151	0,225	0,984	0,342 - 2,531
Número de Cérvidos	0,157	0,217	1,553	0,777- 3,104
Los cérvidos tienen contacto con las personas				
Si	0,223	0,072	1,253	1,004 - 1,563
No	-0,223	0,072	0,673	0,235 - 1,742
Disponibilidad de agua limpia				
Si	-0,319	0,01	0,621	0,405 - 0,953
No	0,319	0,01	2,563	1,223 - 5,367
Cuántas veces cambia el agua				
2 veces al día	0,101	0,418	0,314	0,284 - 1,524
<i>Ad libitum</i>	0,101	0,418	0,453	0,124 - 1,564
Temperatura				
Buena	0,211	0,089	1,367	0,534 - 1,584
Mala	-0,211	0,089	1,594	0,942 - 2,698

Resultados y Discusión

Tabla 5 (continuación)

Variable	Phi o V Cramer	P	OR	IC
Humedad				
Buena	0,012	0,924	1,025	0,617 - 1,704
Mala	0,012	0,924	0,324	0,199 - 1,632
Ventilación				
Buena	0,233	0,06	0,834	0,324 - 1,524
Mala	-0,233	0,06	0,917	0,813 - 1,034
Iluminación				
Buena	0,268	0,031	0,546	0,264 - 1,142
Mala	0,268	0,031	1,342	0,813 - 1,034
Disponibilidad de un ambiente, espacio y estructura para permitir el ejercicio necesario				
Si	0,352	0,005	0,201	0,051 - 0,796
No	-0,352	0,005	1,566	1,178 - 2,081
Disponibilidad de un ambiente, espacio y estructura para permitir su reposo				
Si	-0,622	0	0,5	0,335 - 0,746
No	0,622	0	0,43	0,532 - 1,335
Los alojamientos no cuentan con unas condiciones higiénicas adecuadas				
Si	-0,419	0,001	0,534	0,125 - 1,534
No	0,419	0,001	1,577	1,25 - 1,99
Condiciones corporales				
Malas	0,53	0	10,25	2,503 - 41,969
Buenas	0,53	0	0,526	0,35 - 0,789
Alimentación				
Mala	0,375	0,003	4,271	1,503 - 12,136
Buena	0,375	0,003	0,646	0,454 - 0,92
Alimentación con forraje verde (alfalfa, pastos varios, leguminosas varias),				
	0,347	0,019	1,342;	1,055 - 1,708
Comederos				
Si	-0,364	0,003	0,311	0,121 - 0,794
No	0,364	0,003	1,798	1,236 - 2,616
Desparasitación				
Si	-0,495	0	0,142	0,037 - 0,55
No	0,495	0	2,211	1,507 - 3,243

Resultados y Discusión

Tabla 5 (continuación)

Variable	Phi o V Cramer	P	OR	IC
Donación de especies entre UMVS				
Si	0,175	0,158	1,174	0,959 - 1,438
No	-0,175	0,158	0,523	0,231 - 1,536
Contacto con granjas bovinas				
Si	0,165	0,183	1,22	1,217 - 1,606
No	-0,165	0,183	1,56	0,124 - 1,436
Enfermedades respiratorias presentes				
	0,268	0,031	1,342	1,055 - 1,708
Los cérvidos viven acompañados				
No	-0,599	0	0,438	0,271 - 0,707
Si	0,599	0	11,958	2,969 - 48,171
Los venados salen al exterior				
Si	0,069	0,576	0,964	0,839 - 1,108
No	0,069	0,576	1,52	0,525 - 2,543

A continuación se señala la inclusión de cada variable y el modo en que actúan sus categorías, según el valor de la Odds Ratio y su intervalo de confianza. En este sentido, tal y como se indicó en la sección de materiales y métodos, un valor de Odds Ratio inferior a la unidad nos indica que la variable independiente supone un factor de protección para la infección estudiada, mientras que valores superiores a la unidad revelan a la variable como un factor de riesgo. Los factores de protección o riesgo serán más fuertes a medida que sus valores se encuentren más alejados de la unidad, por debajo o por encima respectivamente (Thrusfield, 2007).

Por su parte, los límites de confianza expresa la significación de la Odds Ratio, para que una variable resulte significativa como factor de riesgo o de protección, los límites no deben comprender la unidad. En el caso de los factores de riesgo, ambos límites se situarán por encima de la unidad, mientras que en los factores de protección, ambos límites se encontrara por debajo de este valor (Thrusfield, 2007).

Para el VDVB en la UMVS se determinaron los principales factores de riesgos, siendo estos:

Respecto a la variable **Las personas tiene contacto con los cérvidos**, un factor de riesgo (1,253; I.C 1,004 - 1,563), al tener las personas contacto con otras especies presentes en las UMVS y al determinar que es un virus que puede vivir en un medio aéreo, las personas se vuelven otro vector para transmitir el virus, más si existen otras

especies del orden Artiodáctyla (vacas, ovejas) las cuales el virus las utiliza de reservorio para su supervivencia (Anexo 4).

La variable **No disposición de agua limpia**, se vuelve un factor de riesgo (2,563; I.C 1,223 - 5,367), al tener animales ya enfermos con el virus, la saliva queda en el agua, con lo cual esta se infecta con el virus y obtenemos un foco de infección al no hacer el cambio de agua, el VDVB usa estrategia para sobrevivir, y pueden habitar diferentes medios ya sea aéreo o medio acuosos, el cambio de agua se vuelve un factor de protección (0,621; I.C 0,405 - 0,953) ya que se asegura una eliminación de un foco de infección para el virus (Brodersen, 2004).

La **Disponibilidad de una ambiente, espacio y estructura para permitir el ejercicio necesario**, se vuelve un factor de protección (0,201; I.C 0,051 - 0,796) ya que permite que el cérvido no permanezca estático, Ortega S. (2007), describe que los cérvidos al no tener suficientes espacio para su movimiento, causa depresión y los vuelve más vulnerables a las enfermedades, lo cual el no tener el espacio suficiente se vuelve un factor de riesgo (1,566; I.C 1,178 - 2,081).

Así mismo, se observa que la **Disponibilidad de una ambiente, espacio y estructura para permitir su reposo**, es una variable de protección (0,5; I.C 0,335 - 0,746), ya que permite al cérvido mantener un estado bueno entre el ejercicio y el reposo para su salud y su bienestar físico

Las dos variables anteriores junto con la variable **Mala condición corporal**, se convierten en un factor de riesgo (10,25; I.C 2,503 - 41,969) y una buena condición se vuelve un factor de protección (0,526; I.C 0,35 - 0,789) Recuerda (2003) y Ortega S. (2007), quienes aseguran el bienestar animal, y lo determinan como un factor para que los animales en malas condiciones sean propensos a enfermedades.

Con respecto a la variable **Los alojamientos no cuentan con unas condiciones higiénicas adecuadas**, es un factor de riesgo (1,577; I.C 1,25 - 1,99), ya que ayuda a la permanencia del virus y a su proliferación, ya que afecta directamente al cérvido en especial a su estado de salud y deprime al animal hasta el punto de bajar sus defensas y así el virus puede infectar con mayor facilidad a cérvido Recuerda (2003).

En la variable **Mala Alimentación**, es factor de riesgo (4,271; I.C 1,503 - 12,136), ya que la desnutrición de los cérvidos provoca que se vuelvan más vulnerable a las enfermedades y sus defensas bajen, ya que no cuentan con los nutrientes suficientes para su desarrollo y necesidades básicas como son el ejercicio, y sus condiciones corporales se ve afectada, volviéndolos más delgados y raquíticos. Si el virus encuentra

un huésped en malas condiciones comienza un programa de multiplicación masivo por lo cual el virus se vuelve más potente en la hora de infectar y se propaga más rápido para su supervivencia Paton DJ. (1995). Una buena alimentación se convierte en un factor de protección (0,646; I.C 0,454 - 0,92), como se observó en muchos cérvidos con el virus, no presentan síntomas algunos o iguales a los descritos para bovinos, pero mantiene al virus en ellos, y el virus se propaga más lento, ya que tiene un huésped sano y puede esperar para infectar a las especies más vulnerables, como son el caso de bovinos, ovinos y caprinos.

Al igual que la variable anterior, la variable **Alimentación con forraje verde (alfalfa, pastos varios, leguminosas varias)**, es factor de riesgo (1,342; I.C 1,055 - 1,708) ya que muchas de las UMVS, traen los forrajes de lugares externos, y estos se encuentran en lugares donde existen bovinos, siendo estos una foco principal de contagio del virus, pues el VDVB tienen mayor afinidad a atacar a los bovinos, y estudios han descrito un alto porcentaje de prevalencia en estos animales para este virus (Saa, 2009).

El **Contacto con granjas bovinas** es una factor de riesgo (1,22; I.C 1,217 - 1,606), estudios ya realizados en Ecuador, demuestran un alto porcentaje de prevalencia (37,28%) y de dispersión (74,50%), para el virus a nivel nacional (Saa, 2009), la mayoría de las UMVS se encuentran cerca de explotaciones de ganado bovino, por lo cual el virus tiene un fácil acceso a infectar a los cérvidos, el contacto con las explotaciones, ayuda a la supervivencia del virus, pues con este estudio se determinó que el virus no afecta a los cérvidos, solo los utiliza como un hospedador, en cambio los bovinos son los más afectados por el virus. Aunque se vacune el ganado contra el virus, el ciclo se mantiene si existen cérvidos cerca de las explotaciones ganaderas y así el virus continuara con su desarrollo e infección.

Al **No contar con comederos**, representan un factor de riesgo (1,798; I.C 1,236 - 2,616), ya que los alimentos en el suelo se pueden infectar por medio de orina o heces (Houe, 1995), ya que el virus puede estar en estado latente y una vez ingerido por el cérvido este comienza su ciclo y el tener comederos los cuales son limpiados frecuentemente los convierte en un factor de protección (0,311; I.C 0,121 - 0,794).

Con respecto a la variable **Sin desparasitación**, se vuelve un factor de riesgo (2,211; I.C 1,507 - 3,243), y el estar desparasitados se vuelve un factor de protección (0,142; I.C 0,037 - 0,55), ya que un cérvido en buen estado mantiene al VDVB en un estado pasivo, y si el cérvido comienza a decaer el VDVB comienza un estado de propagación y de infección.

Resultados y Discusión

Al igual la variable **Enfermedades respiratorias presentes**, se vuelven un factor de riesgo (1,342; I.C 1,055 - 1,708), en el ganado bovino uno de los síntomas es las enfermedades respiratorias, el VDVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: estado inmune del hospedador con es el vector de vacunas, factores estresantes como las variables de ambientes para su reposo y para su ejercicio y otros patógenos concurrentes como los vectores de los comederos, el tipo de alimentación (Bielefeldt Ohmann H. 1995), todas estos factores interactúan entre sí, para volver al cérvido más vulnerables al virus y para poderse expandir con mayor facilidad no solo entres cérvidos, sino al tener explotaciones de ganado bovino cercar infectar a estas. El no presentar un cuadro patológico en los cérvidos se hace más difícil el saber si estos están infectados o no, algunos de ellos muestran una leve enfermedad respiratoria que indica la presencia del virus, pero la mayoría

La variable **Los cérvidos viven acompañados**, se muestra como un factor de riesgo (11,958; I.C 2,969 - 48,171), en especial si los cérvidos conviven con especies como vacas, ovejas o cerdos. La mayoría de las UMVS mantienen a los cérvidos con más especies ya sean gallinas, avestruces, conejos, perros, vacas ver Anexo 4, siendo las vacas un foco principal para la infección del VDVB, como ya se lo ha mencionado anteriormente, y el no tener ninguna especie conviviendo con ellos se vuelve un factor de protección (0,438; I.C 0,271 - 0,707), como se ve en el Anexo 5, los cérvidos que viven solos, y con sus misma especie tiene condiciones físicas más saludables.

Tabla 6: Variables seleccionadas en el análisis bivariante para VDVB por individuos

Variable	Phi o V Cramer	P	OR	IC
Especie	0,006	0,965	1,011	0,637 - 1,603
Edad entre los 6 – 13 años	0,312	0,023	3,6	1,385 - 9,357
Sexo				
Macho	-0,034	0,803	0,873	0,286 - 2,666
Hembra	0,034	0,803	1,108	0,517 - 2,372
Sistema de Mantenimiento en cautiverio	0,156	0,257	1,263	1,093 - 1,46

Al hacer el análisis por individuos, se pueden rescatar dos variables: **Edad** y **Sistema de mantenimiento**, que actúan como factores de riesgo para los cérvidos.

La variable **Edad entre los 6 – 13 años**, es un factor de riesgo (3,6; 1,385 - 9,357), el virus infecta a sus hospedadores a una edad adulta, en donde se convierten en animales portadores (IPI) en el caso de los cérvidos y en animales infectados como es el caso de los bovinos (Schweizer, 2006). La edad juega un papel muy importante en la

supervivencia del virus, en cérvidos no se observó crías infectadas con el virus pues se sabe en estudios realizados en bovinos que si la madre posee el virus, esta se lo pasa a la cría en el sexto mes de embarazo y la cría puede morir o nacer siendo esta IPI (Schweizer, 2006). En este estudio se observó que solo los cérvidos adultos presentan el virus, ayudando a determinar que los cérvidos son usados como hospedadores, hasta encontrar a las especies en las cuales el virus causa daño (vacas, ovejas, cerdos).

Los alojamientos cumplen un rol importante en la infección de los cérvidos, así la variable **Sistema de Mantenimiento en Cautiverio**, se vuelve un factor de riesgo (1,263; 1,093 - 1,46), al no contar con la infraestructura adecuada, en especial si se tiene a los cérvidos en estado de privación de libertad, aunque últimamente se han mejorado el manejo de especie en cautiverio, los cérvidos que son criados en cautiverio o como lo hacen en los zocriadero, no presentan e virus, pero animales que han pasado parte de su vida en su ambiente natural y luego son puestos en cautiverio muestran la enfermedad, ya que entran en un estado de estrés y depresión (Suárez, 2004).

CAPÍTULO IV. Conclusiones

- Estudios ya realizados demuestran que la dispersión del virus de la Diarrea Vírica Bovina es alta en Ecuador 74,5% para bovinos, por lo tanto varias especies se ven emergentes a infectarse con el virus, este estudio determinó una familia más en la lista de infectados con el virus, la familia Cervidae, la cual no presenta síntomas frente al virus ni un cuadro patológico.
- Por medio de ELISA, se determinó la presencia del VDVB, en los cérvidos que se encuentran en cautiverio, siendo un virus que no causa ningún daño a los cérvidos, como se lo determino en este estudio.
- El problema radica en los programas de reintroducción de cérvidos de muchas UMVS, ya que no saben si los cérvidos son portadores o no del virus. Además los cérvidos reintroducidos tienen el comportamiento de moverse en busca de alimento y terminan teniendo contacto con explotaciones ganaderas, ya que esta explotaciones están cerca de las Áreas protegidas en las cuales se practica la reintroducción de especies, aquí es donde el virus puede infectar a los bovinos por medio de los cérvidos infectados y así el ciclo del virus se mantiene estable.

Conclusiones

- Los cérvidos tiene un 47,2% de prevalencia para el virus de la Diarrea Vírica Bobina, ya que se encontró registros de individuos infectados (25/53), la presencia del virus en los cérvidos, demuestra la escala de infección del mismo y se puede comprobar que el virus traspasa la barrera de la especie para su supervivencia, y con esto demostrar que el virus toma varias rutas para su supervivencia, en este caso los cérvidos.
- Las variables estudiadas define las características generales de las UMVS y las especies de cérvidos en Ecuador, relacionadas con el hospedador, los factores medioambientales, las instalaciones y el manejo, incluyendo además el grado de aplicación de diferentes medidas sanitarias y de bioseguridad propias del manejo en cautiverio y en estado libre en cada Unidad de Manejo de Vida Silvestre.
- La variable **Contacto con granjas bovinas** que es un factor de riesgo (1,22; I.C 1,217 - 1,606), resume como los cérvidos se contagian; la mayoría de granjas bovinas vacunan a sus animales contra el DBV, sin saber que el contacto con cérvidos, o el simple hecho que el virus pase en forma aérea, vuelve a infectar al ganado ya que el virus utiliza a los cérvidos para su supervivencia y al tener contacto cérvido-bovino-cérvido se vuelve el ciclo para el virus.
- El modelo de análisis bivalente constituido para la dispersión del Virus de la Diarrea Vírica Bovina, en el cual actúan como variables significativas: *Disponibilidad de una ambiente, espacio y estructura para permitir el ejercicio necesario, Disponibilidad de una ambiente, espacio y estructura para permitir su reposo, Los alojamientos cuentan con unas condiciones higiénicas adecuadas, Condiciones corporales, Alimentación, Tipo de alimentación, Comederos, Vacunas, Desparasitación, Los cérvidos tienen contacto con las personas, Disponibilidad de agua limpia, Cuantas veces cambia el agua, Enfermedades presentes y Los cérvidos viven acompañados.* Por su parte, en el modelo diseñado por individuos se ven dos variables significativas: *Edad y Sistema de Mantenimiento*
- Todas la variables demuestran la existencia del virus de la Diarrea Vírica Bovina en cérvidos, y así determinamos los principales focos de infección, en este caso el estar cerca de fincas de ganado bovino y la edad del cérvido, las cuales son las más relevantes en este estudio. Al no tener un cuadro de síntomas en los cérvidos el estudio del virus solo se lo puede hacer por medio de obtención de muestras en este caso muestras de sangre para poder determinar si los cérvidos están o no infectados con el virus.
- Todas las UMVS no cuentan con programas de vacunación para los cérvidos, por temor a que estos mueran ya que son muy nerviosos y se estresan con facilidad,

Conclusiones

por lo tanto se vuelve un punto fácil para el contagio del virus. Como ya lo mencioné muchas UMVS optan por programas de reintroducción, sin saber si el cévido o los cévidos están o no infectados con el virus.

- Este estudio demuestra una prevalencia alta (42,7%) y la presencia de anticuerpo frente al VDVB en los cévidos, el problema mayor está en las explotaciones ganaderas, pues esta enfermedad baja las defensas del animal lo cual provoca la muerte del mismo, afectando económicamente a los ganaderos, los cuales piensan que ya vacunado a los animales no van a volver a adquirir la enfermedad, pero con este estudio se sabe que los cévidos son portadores del virus y muchas UMVS están cerca de fincas ganaderas volviéndolo un ciclo de infección, si vemos los hábitos de los cévidos, este se moviliza por comida y se ve que muchos de ellos conviven con ganado que este cerca de su hábitat, compartiendo bebederos y la comida, convirtiendo todo esto en un ciclo cerrado para la supervivencia del Virus de la Diarrea Vírica Bovina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson E.C., Rowe L.W. 2007. The prevalence of antibody to the viruses of bovine virus diarrhoea, bovine herpes virus 1, rift valley fever, ephemeral fever and bluetongue and to *Leptospira* sp. in freeranging wildlife in Zimbabwe, *Epidemiol. Infect.* 121:441–449.
2. Baker JC. 1987. Bovine viral diarrhoea virus: A review. *JAVMA* 190: 1449–1458.
3. Baule C. 2000. Molecular characterization of bovine viral diarrhoea virus, an important pathogen of cattle. *Acta Universit. Agric. Sueciae* 95: 9–38
4. Becher P, M Orlich, A D Shannon, G Horner, M König, H J Thiel. 1997. Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *J Gen Virol* 78, 357-1366.
5. Becher P, M Orlich, A Kosmidou, M König, M Baroth, H J Thiel. 1999. Genetic diversity of pestiviruses: identification of novel groups and implications for classification. *Virology* 262, 64-71.
6. Belcher, P., Orlich, M., Kosmidou, A., König, M., Baroth, M., Thiel, H. 1999. Genetic diversity of prestiviruses: identification of novel groups and implications for classification. *Virology* 262, 64-71.

Bibliografía

7. Bielefeldt Ohmann H. 1995. The pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection. *Food Anim. Pract.* 11: 447–476.
8. Brodersen BW, Kelling CL. 1998. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infections on respiratory tract and enteric diseases in calves. *Am. J. Vet. Res.* 59: 1423–1430
9. Brodersen BW. 2004. Immunohistochemistry used as a screening method for persistent bovine viral diarrhoea virus infection. *Vet Clin Food Anim* 20:85-93
10. Cano-Vindel, A. 2006. Desarrollos actuales en el estudio del control emocional. *Ansiedad y Estrés*, 9, 203-229.
11. Carrasco L., y José Ma. Almendral del Río. 2006. Virus Pátogenos. Red Hélice. Fundación BBVA.
12. Castañeda, M; Cabrera y A Navarro, Y. 2010. SPSS. Procesamiento de datos y análisis estadísticos utilizando.
13. Cerviño M., E. Calvo. 2007. Síndrome Respiratorio Bovino, Schering Plough. Departamento Técnico de Schering Plough
14. Corapi W V, R O Donis, E Dubovi. 1990. Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhoea virus. *Am J Vet Res* 51, 1388- 1394.
15. Donis RO. 1995. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. *Food Anim. Pract.* 11: 393–423
16. Dubovi EJ. 1994. Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle. *Food Anim. Pract.* 10: 503–514
17. Ellsworth, D.L., R.L. Honeycutt, N.J. Silvy, M.H. Smith, J.W. Bickham , W.D. Klimstra. 1994. White-tailed deer restoration to the south-eastern United States: evaluating genetic variation. *J. Wildl. Manag.* 58: 686-697.
18. Evermann, J., Ridpath, J. 2002. Clinical and epidemiological observations on BVDV in the northwestern United States. *Vet Microbiol.* 28:129-39.
19. Fulbright, T. E., y J. A. Ortega-S. 2007. Ecología y manejo de venado cola blanca. Texas: Texas A y M University Press
20. González-Ramírez, M.T. & Landero-Hernández, R. 2006. Síntomas psicósomáticos y teoría transaccional del estrés. *Ansiedad y Estrés*, 12, 45-61.
21. Grondahl C., Uttenthal A., Houe H., Rasmussen T.B., Hoyer M.J., Larsen L.E. 2003. Characterisation of a pestivirus isolated from persistently infected mousedeer (*Tragulus javanicus*), *Arch. Virol.* 148:1455–1463.
22. Grooms DL. 1998. Role of bovine viral diarrhoea virus in the bovine respiratory disease complex. *Bov. Pract.* 32: 7–12.

Bibliografía

23. Houe H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: 521–547
24. Houe H. 1999. Epidemiological features and economic importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89–107.
- Bolin SR, Ridpath JF. 1992. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in calves. *Am. J. Vet. Res.* 53: 2157–2163
25. Janeway y P. Travers. 1994. *Inmunobiology: the immune system in health and disease*, Current Biology/Garland.
26. Jarvinen, J. 2006. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in US alpacas. *IV World Camelids Congress*. Santa María, Catamarca, Argentina.
27. Kelling CL. 1996. The effects of BVDV infection on cattle. *Vet. Med.* 91: 862–863
28. Kirchgessner Megan. 2010. Interspecies Transmission of Bovine Viral Diarrhoea Virus and *Coxiella burnetii*: Prevalence, Distribution and Spatial Epidemiology in White-Tailed Deer in the Northeastern United States.
29. Lazarus, R. S. 1990. Stress, coping and illness. In H. S. Friedman (Ed.) *Personality and disease*. Wiley series on health psychology/behavioral medicine (pp. 97-120). Oxford, England: John Wiley & Sons.
30. Loken, T. 1995. Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep, *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 11:597–614.
31. Médail F. & Quezel P. 1997. Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean Basin. *Annals of Missouri Bot. Garden* 84: 112-127
32. Ministerio del Ambiente de Ecuador (MAE), 2008. Situación actual de los Centros de Rescate de Vida Silvestre en el Ecuador. Dirección Nacional de biodiversidad. Unidad de Vida Silvestre.
33. Moennig V, Liess B. 1995. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Food Anim. Pract.* 11: 477–487.
34. Nettleton PF, Entrican G. 1995. Ruminant Pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151: 615–642
35. Nettleton, P.F. 1990. Pestivirus infections in ruminants other than cattle, *Rev. Sci. Tech.* 9:131–150.
36. Paton DJ. 1995. Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112: 215–236.
37. Saltos, N.; Vázquez, L. 2009. Ecuador: su realidad. 17 ed Quito, EC, Fundación de Investigación y Promoción Social “Jose Peralta”. p . 159, 187, 189, 190 198, 199, 202.

Bibliografía

38. Schweizer M., Matzener P., Pfaffen G., Stalder H., Peterhans E. 2006. "Self" and "nonself" manipulation of interferon defense during persistent infection: bovine viral diarrhea virus resists alpha/beta interferon without blocking antiviral activity against unrelated viruses replicating in its host cells, *J. Virol.* 80:6926–6935.
39. Suárez, V. H; Olaechea, F. V; Rossanigo, C. E y Romero J. R. 2004. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América
40. Thrusfield M. 2007. *Veterinary Epidemiology*. Third Edition. Blackwell Publishing Estados Unidos.
41. Tirira, D.G. 2011. Libro Rojo de los mamíferos del Ecuador. 2da. edición. Versión 1 (2011). Fundación Mamíferos y Conservación, Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Ministerio del Ambiente del Ecuador. Quito. <www.librorojo.mamiferosdeecuador.com>.
42. Vilcek S, AJ Herring, PF Nettleton, JP Lowings, DJ Paton. 1994. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch Virol* 136, 309-323.
43. Vilcek, S., Nettleton, P. 2006. Pestiviruses in wild animals. *Vet Mic.* 116: 1-12.
44. Webster, R.G., y A. Granoff. 1994. *Encyclopedia of Virology*, 3 vols, Academic Press.
45. Xue W, F Blecha, HC Minocha. 1990. Antigenic variations in bovine viral diarrhea viruses detected by monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 28, 1688-1693.

ANEXOS

Anexos

Anexo 1: Unidades de Manejo de Vida Silvestre que poseen cérvidos.

Tabla 6: Zoológicos en Ecuador que presentan cérvidos

No	REGIÓN	PROVINCIA	CANTÓN	PARROQUIA	DIRECCIÓN	NOMBRE	CATEGORÍA	RESPONSABLE	TELÉFONO
1	Costa	El Oro	Arenillas	Arenillas	Km 1.5 vía a Alamor	Granja la Colina	Zoológico	Blgo. Julio Baquerizo	O94500309
2	Costa	Guayas	Guayaquil	Tarqui	Km 23 Vía Daule	El Pantanal	Zoológico	Dr. Nelson Chiriboga	(04)2267047
3	Costa	Guayas	Samborondón		Km 1 vía Samborondón	Parque Histórico de Guayaquil	Zoológico	Dra. Anna Piña	94244438
4	Sierra	Azuay	Cuenca	Paccha	Autopista Cuenca - Azogues Barrio Higospamba	AMARU	Zoológico	Blgo. Ernesto Arbeláez	O92684383
5	Sierra	Azuay	Cuenca	Tarqui	Tañiloma. 20 min de Cuenca	Yurak Allpa	Zoológico	Alberto Vele	2 878241 085652133
6	Sierra	Azuay	Santa Isabel	Unión	Sector Cataviña	Hacienda Corasari "Mazorca de Oro"	Zoológico	Sr. Yordano Torres	2862111 087237214
7	Sierra	Cotopaxi	Latacunga	José Guango Bajo		Agrinac - Tierra Cultivos	Zoológico	Ing. Freddy Imbaquingo	(O3)2 710525
8	Sierra	Loja	Loja	El Valle	La Banda	Orillas del Zamora	Zoológico	Ing. Klever Piedra	2570407
9	Sierra	Pichincha	Quito	Guayllabamba	El Aguacate, Dumichupa y Pircapamba	Guayllabamba	Zoológico	Vet. Pablo Arias	O91995947
10	Oriente	Orellana	Fco. De Orellana	Pto. Fco. De Orellana		Zoológico el Venado	Zoológico		
11	Oriente	Morona Santiago	Sucúa	Sucúa		Hábitat Zoo	Zoológico	Sr. César Torres	

Anexos

Tabla 7: Zoocriaderos en Ecuador que presentan cérvidos

No.	REGIÓN	PROVINCIA	CANTÓN	PARROQUIA	DIRECCIÓN	NOMBRE	CATEGORÍA	RESPONSABLE	TELÉFONO
1	Costa	Guayas	Guayaquil	Tarqui	Km 11.5 vía Daule	Envases del Litoral	Zoocriadero	Ing. José Polid	(04) 2 101400
2	Sierra	Cotopaxi	Latacunga	Guaytacama		San Sebastián	Zoocriadero	Ing. Juan Carlos Vásquez	092486579
3	Sierra	Cotopaxi	Latacunga	Poalo	Hacienda Tilipulito	La Palmira	Zoocriadero	Agr. Wilmer Vinuesa	099544593
4	Sierra	Pichincha	Rumiñahui		Chisinchi	Zoocriadero Venado C.B "M.G. LANDS"	Zoocriadero		
5	Sierra	Tungurahua	Tisaleo	Alobamba	Virginia	Zoocriadero Venado C.B "Carihuirazo"	Zoocriadero		096899075
6	Sierra	Tungurahua	Pillaro	San Andrés	Andahualo Bajo	Zoocriadero Venado C.B "Cerro Hermoso"	Zoocriadero		(07)2 740778 091717826
7	Sierra	Pichincha	Cayambe	Cangahua	Guachala	Casa del Venado	Zoocriadero	Sr. Julio Villalba	094636311

Anexos

Tabla 8: Centros de rescate en Ecuador que presentan cérvidos

No.	REGIÓN	PROVINCIA	CANTÓN	PARROQUIA	DIRECCIÓN	NOMBRE	CATEGORÍA	RESPONSABLE	TELÉFONO
1	Costa	El Oro	Piñas	Piedras	Sitio las Flores	Amazonas	Centro de rescate	Sr. Bolívar Aguirre (Propietario) Sr. Aníbal Almeida (Responsable)	072921804
2	Costa	Guayas	Guayaquil	Chongón	Km 24 vía a la Costa	NARAYANA	Centro de rescate	Dra. Paulina Ruiz	097415950
3	Costa	Manabí	Portoviejo	12 de Marzo	Km 1.5 vía a Crucita	Nuestra Fauna	Centro de rescate	Vet. Carlos Solórzano	091604617
4	Costa	Manabí	Bahía de Caraquez	Leonidas Plaza	km 4 1/2	Parque Saiananda	Centro de rescate	Sr. Alfredo Harmsen	Hostería (05)2398331 (05)2398147
5	Sierra	Azuay	Cuenca	El Valle	Colapamba	EMAC	Centro de rescate	Blga. Ligia Carrión	2 896071 094728010
6	Sierra	Cotopaxi	Latacunga	Mulaló		Ilitio	Centro de rescate	Sebastián Kohng	091466578
7	Sierra	Imbabura	Ibarra	La Victoria		Guayabillas	Centro de rescate	Ing. Oscar Cauca (Administrador)	092039460
8	Sierra	Loja	Loja	Vilcabamba		El Molino	Centro de rescate		3025170 085098375
9	Sierra	Imbabura	Ibarra	San Miguel de Ibarra		"Guayabillas"	Centro de rescate	Ing. Oscar Cauca	092939460
10	Sierra	Tungurahua	Tisaleo	La Matriz		Centro de Rescate de venado cola blanca	Centro de rescate	Sr. Luis Córdova Núñez	

Anexo 2: Protocolo para el Inmunoensayo

La técnica a utilizarse para el Inmunoensayo está determinad por el kit y esta es:

- Previamente al inicio del ensayo, los reactivos se equilibraron a temperatura ambiente (excepto el conjugado que debe mantenerse a 4° C).
- Adición del suero problema: se dispense 100 μ l de la disoluciones de 1/10 de los sueros y de los controles en cada uno de los pocillos.
- Primera incubación: se taparo la placa y se incubó durante una hora a 37°C.
- Adición del conjugado: sin retirar los sueros, se añadió 50 μ l de conjugado de cada pocillo. Las placas se agitaron suavemente para que se mezclen bien los reactivos, evitando que se mezcle el contenido de los pocillos.
- Segunda incubación: se mantuvo la placa durante una hora a temperatura ambiente.
- Lavados: cinco veces consecutivas, añadiendo 300 μ l con el lavado automático.
- Adición del sustrato (TMB): se añadió 100 μ l de sustrato en cada pocillo.
- Tercera incubación: la reacción se mantuvo durante un período de 15 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad.
- Adición de la solución de frenado (ácido sulfúrico 3 N: este paso se realizó inmediatamente después del anterior y en el mismo orden, con objeto de frenar la reacción lo más simultáneamente posible.
- Lectura de la placa: a 450 nm (Lector EL x800).

En caso de reacción, se observó una coloración azul que se torna amarilla al adicionarse la solución de frenado. Se apreciará una reacción mayor (por lo tanto, mayor intensidad en la coloración), en aquellos casos en que las muestras de suero no contengan anticuerpos, según se describió en el fundamento de la técnica. Se tomó en cuenta las instrucciones del kit, para determinar si el test queda valido o no, en la placa se colocara según el kit los sueros controles A1 positivo, B1 negativo y C1 blanco

Para la interpretación de las absorbancias se empleó los valores de absorbancia del control negativo, para lo cual se calcularon los *Cut off*:

$$Cut\ off\ positivo = 0,5 \times Abs\ media\ control\ negativo$$

$$Cut\ off\ negativo = 0,55 \times Abs\ media\ control\ negativo$$

En donde las muestras se consideran positivas cuando el valor de absorbancia (Abs) sea inferior al *cut off positivo* y negativo cuando sea superior al *cut off negativo*.

Anexo 3: Encuesta

Universidad Técnica Particular de Loja Laboratorio de Sanidad Animal y Zoonosis		
ID. (No. Encuesta): _____		Propietario: _____
Encuestador: _____		Fecha de visita: _____
U.M.V.S.		
Aptitud:	Centro de rescate () Centro de manejo () Centro recreacional ()	Zoológico () Zoocriadero () Otro: _____
Provincia:	Cantón:	Parroquia:
Dirección:		
Modo de obtención de las especies: Decomiso () Encuentro () Entrega voluntaria () Donación () Nacido en cautiverio () Otros: _____		
Tamaño útil de UMVS (Ha):		Tamaño total de UMVS (Ha):
Número de animales:		Número de Cérvidos:
Especies Presentes:	<i>Hippocamelus antisensis</i> () <i>Odocoileus virginianus peruvianus</i> () <i>Odocoileus virginianus ustus</i> () <i>Pudu mephistophiles</i> ()	<i>Mazama americana</i> () <i>Mazama Rufina</i> () <i>Mazama nemorivaga</i> () ()
Teléfono:	Mail:	
Responsable:		
Coordenadas:		

A. CALIDAD AMBIENTAL Y MANEJO

- | | |
|--|---|
| <p>1. ¿Los cérvidos disponen de agua limpia?
1.1 Si ()
1.2 No ()</p> <p>3. Niveles de temperatura
3.1 Excelentes ()
3.2 Buenos ()
3.3. Malos ()</p> <p>5. Ventilación
5.1 Excelente ()
5.2 Buena ()
5.3 Mala ()</p> <p>7. ¿Los cérvidos disponen de un ambiente, espacio y estructura suficientes para permitir el ejercicio necesario para garantizar su bienestar?
7.1 Excelentes ()
7.2 Buenos ()
7.3 Malos ()</p> <p>8. ¿Los cérvidos disponen de un ambiente, espacio, estructura y material suficientes para permanecer en reposo?
8.1 Excelentes ()
8.2 Buenos ()
8.3 Malos ()</p> <p>9. ¿Los alojamientos cuentan con unas condiciones higiénicas adecuadas para la especie?
9.1 Excelentes ()
9.2 Buenos ()
9.3 Malos ()</p> | <p>2. ¿Cuántas veces?
2.1 1 vez al día ()
2.2. 2 veces al día ()
2.3 <i>ad libitum</i> ()</p> <p>4. Niveles de humedad
4.1 Excelentes ()
4.2 Buenos ()
4.3 Malos ()</p> <p>6. Iluminación
6.1 Excelente ()
6.2 Buena ()
6.3 Mala ()</p> |
|--|---|

Anexos

10. Condiciones corporales

- 10.1 Excelentes ()
10.2 Buenos ()
10.3 Malos ()

11. Alimentación

- 11.1 Excelente ()
11.2 Buena ()
11.3 Mala ()

12. Tipo de alimentación

- 12.1 Forraje verde (alfalfa, pastos varios, leguminosas varias) ()
12.2 Balanceado: Si () No ()
12.3 Tipo de balanceado: Comercial () Fabricación propia ()
12.4 Frutas ()
12.5 Pastoreo ()

13. Comederos

- 13.1 Si ()
13.2 No ()

14. Vacunaciones

- 14.5 Aftosa ()
14.6 DVB ()
14.7 Otras: _____

15. Desparasitación

- 15.1 Si ()
15.2 No ()
15.3 Producto: _____

16. Donación de especies externas entre UMFS

- 16.1 Si ()
16.2 No ()

17. Contacto con granjas cercanas (con bóvidos)

- 17.1 Si ()
17.2 No ()

18. Distancia más cercana a otra UMVS (Km): _____

19. Presenta enfermedades o síntomas como:

- 19.1 Abortos (%) _____
19.2 Síndrome respiratorio (%) _____
19.3 Mortalidad (%) _____
19.4 Diarreas (%) _____
19.5 Otros (%) _____

B. SEGURIDAD DE LOS ALOJAMIENTOS

20. ¿Los cérvidos viven solos o acompañados de otros animales silvestres? ¿Cuántos?

- 20.1 Solo ()
20.2 Acompañado ()
20.3 Otras especies (Cuáles) _____ Número: _____
_____ Número: _____

21. ¿Los cérvidos pueden salir al exterior?

- 21.1 Si ()
21.2 No ()

22. ¿Se puede establecer contacto personal con los cérvidos?

- 22.1 Si ()
22.2 No ()

Anexo 4: Contacto Persona - Cérvido



Figura 6. Contacto directo con cérvido *Odocoileus virginianus*. Centro de Rescate "Amazonas"



Figura 7. Contacto directo con cérvido. Zoocriadero "Envases del litoral".



Figura 8. Contacto directo con cérvidos, libres en toda la UMVS. Zoocriadero "La casa del venado"



Figura 9. Contacto directo con cérvidos. Zoocriadero "San Sebastián".



Figura 10. *Mazama americana*. Contacto directo. Zoológico "El venado". Francisco de Orellana



Figura 11. Cérvido *Odocoileus virginianus*. Zoológico "AMARU". Manga de manejo.

Anexo 5: Alojamientos de cérvidos compartido con otras especies



Figura 12: Cérvidos libres en la UMVS. Comederos. Compartidos con gallinas. Zocriadero "La Casa del Venado"



Figura 13. Alojamiento del cérvido compartido con gallinas Zocriadero "La Casa del Venado"



Figura 14. Cérvido compartiendo alojamiento con un conejo. Centro de Rescate "Envases del Litoral"



Figura 15. Alojamiento del cérvido, junto con avestruz. Zoológico "Yurak Alpa".



Figura 16. Cérvido compartiendo alojamiento con gallinas. "Restaurante Yurak Alpa".

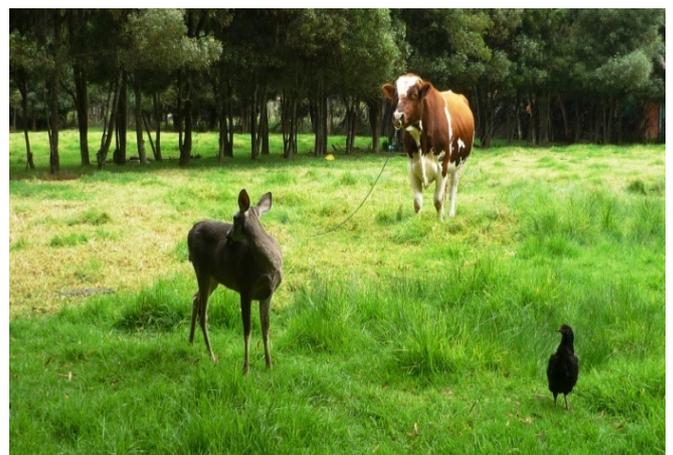


Figura 17. Cérvido compartiendo alojamiento con gallinas y vacas. "Restaurante Yurak Alpa".



Figura 18: Cérvidos libres en la UMVS. Viviendo con vacas Zocriadero "La Casa del Venado"



Figura 19. Alojamiento del cérvido compartido con avestruz "Eljuri"



Figura 20: Cérvidos libres en la UMVS. Viviendo con vacas y gallinas. Zocriadero "La Casa del Venado"



Figura 21: Cérvidos viviendo con vacas. "Restaurante Yurak Alpa".



Figura 22. Explotaciones ganaderas cercanas a las UMVS

Anexo 6: Alojamiento de los cérvidos que viven solo con los de su misma especie



Figura 23. Alojamiento del centro "El venado"



Figura 24. Alojamiento del "Zocriadero San Sebastián"



Figura 25. Alojamiento del centro "Bosque Tropical"



Figura 26. Alojamiento del "EMAC".



Figura 27. Alojamiento del Zoológico "AMARU"



Figura 28. Alojamiento del Zoológico "Yurak Alpa"