

ANEXOS

~ Anexo I

Tabla A1.1 Descripción de la procedencia y fecha de recepción de los casos clínicos evaluados en el presente trabajo.

Casos clínicos procedentes de España			
<i>Nº de caso</i>	<i>Comunidad Autónoma</i>	<i>Provincia</i>	<i>Fecha recepción (Mes/Año)</i>
1	Cataluña	Lérida	04/2019
2	Cataluña	Lérida	04/2019
3	Cataluña	Lérida	03/2019
4	Castilla-La Mancha	Toledo	03/2019
5	Aragón	Huesca	03/2019
6	Comunidad Foral de Navarra	Navarra	03/2019
7	Aragón	Huesca	03/2019
8	Cataluña	Gerona	02/2019
9	Cataluña	Gerona	02/2019
10	Aragón	Zaragoza	02/2019
11	Comunidad Foral de Navarra	Navarra	02/2019
12	Cataluña	Lérida	01/2019
13	Aragón	Huesca	01/2019
14	Castilla y León	Salamanca	01/2019
15	Aragón	Zaragoza	01/2019
16	Aragón	Zaragoza	01/2019
17	Comunidad Foral de Navarra	Navarra	01/2019
18	Aragón	Zaragoza	01/2019
19	Aragón	Zaragoza	01/2019
20	Cataluña	Gerona	01/2019
21	Aragón	Zaragoza	01/2019
22	Aragón	Zaragoza	01/2019
23	Aragón	Zaragoza	01/2019
24	Cataluña	Lérida	12/2018
25	Aragón	Zaragoza	12/2018
26	Cataluña	Lérida	12/2018
27	Comunidad Foral de Navarra	Navarra	12/2018
28	Cantabria	Cantabria	12/2018
29	Cataluña	Lérida	12/2018
30	Cataluña	Lérida	11/2018
31	Cataluña	Lérida	11/2018
32	Cataluña	Lérida	11/2018
33	Andalucía	Sevilla	11/2018
34	Castilla-La Mancha	Cuenca	11/2018
35	Comunidad Foral de Navarra	Navarra	10/2018
36	Aragón	Zaragoza	10/2018
37	Cataluña	Tarragona	10/2018

Tabla A1.1 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España			
<i>Nº de caso</i>	<i>Comunidad Autónoma</i>	<i>Provincia</i>	<i>Fecha recepción (Mes/Año)</i>
38	Castilla y León	Soria	10/2018
39	Cataluña	Tarragona	10/2018
40	Cataluña	Gerona	10/2018
41	Aragón	Zaragoza	10/2018
42	Galicia	La Coruña	09/2018
43	Principado de Asturias	Asturias	09/2018
44	Cataluña	Barcelona	09/2018
45	Principado de Asturias	Asturias	09/2018
46	Comunidad Foral de Navarra	Navarra	09/2018
47	Castilla y León	León	08/2018
48	Cataluña	Lérida	08/2018
49	Cataluña	Lérida	08/2018
50	Aragón	Zaragoza	08/2018
51	Extremadura	Cáceres	07/2018
52	Cantabria	Cantabria	07/2018
53	Cataluña	Gerona	07/2018
54	Aragón	Zaragoza	07/2018
55	Comunidad de Madrid	Madrid	07/2018
56	Cataluña	Lérida	06/2018
57	Aragón	Huesca	06/2018
58	Cataluña	Lérida	06/2018
59	Cataluña	Gerona	06/2018
60	Cataluña	Gerona	06/2018
61	Comunidad de Madrid	Madrid	05/2018
62	Castilla y León	Segovia	05/2018
63	Aragón	Zaragoza	05/2018
64	Castilla y León	León	04/2018
65	Cataluña	Barcelona	03/2018
66	Extremadura	Cáceres	02/2018
67	Castilla-La Mancha	Toledo	12/2017
68	Cataluña	Gerona	12/2017
69	Cataluña	Barcelona	12/2017
70	Castilla-La Mancha	Toledo	11/2017
71	Aragón	Zaragoza	11/2017
72	Aragón	Zaragoza	10/2017
73	Cataluña	Lérida	10/2017
74	Aragón	Huesca	09/2017
75	Cantabria	Cantabria	08/2017
76	Cataluña	Gerona	08/2017
77	Extremadura	Cáceres	08/2017
78	Extremadura	Badajoz	08/2017

Tabla A1.1 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España			
<i>Nº de caso</i>	<i>Comunidad Autónoma</i>	<i>Provincia</i>	<i>Fecha recepción (Mes/Año)</i>
79	Cantabria	Cantabria	08/2017
80	Cantabria	Cantabria	07/2017
81	Aragón	Zaragoza	07/2017
82	Aragón	Zaragoza	07/2017
83	Cataluña	Barcelona	06/2017
84	Castilla y León	Burgos	05/2017
85	Galicia	La Coruña	04/2017
86	Cataluña	Gerona	03/2017
87	Cataluña	Lérida	01/2016
88	Cataluña	Barcelona	01/2017
89	Galicia	Pontevedra	12/2016
90	Aragón	Huesca	12/2016
91	Andalucía	Córdoba	11/2016
92	Principado de Asturias	Asturias	10/2016
93	Comunidad de Madrid	Madrid	09/2016
94	Aragón	Zaragoza	08/2016
95	Principado de Asturias	Asturias	08/2016
96	Cataluña	Lérida	07/2016
97	Castilla y León	Burgos	05/2016
98	Castilla y León	Valladolid	05/2016
99	Castilla-La Mancha	Toledo	04/2016
100	Cataluña	Lérida	02/2016
101	Castilla y León	Valladolid	12/2015
102	Castilla y León	León	12/2015
103	Castilla y León	Ávila	12/2015
104	Galicia	La Coruña	10/2015
105	Galicia	La Coruña	10/2015
106	Castilla y León	Soria	07/2015
107	Comunidad de Madrid	Madrid	04/2015
108	Andalucía	Sevilla	03/2015
109	Extremadura	Cáceres	03/2015
110	Cataluña	Lérida	03/2015
Casos clínicos procedentes de Portugal			
<i>Nº de caso</i>	<i>Distrito</i>		<i>Fecha recepción (Mes/Año)</i>
111	Oporto		02/2019
112	Oporto		11/2018
113	Évora		11/2018
114	Évora		11/2017
115	Oporto		10/2017
116	Oporto		09/2016
117	Évora		10/2015

Tabla A1.1 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de Portugal		
<i>Nº de caso</i>	<i>Distrito</i>	<i>Fecha recepción (Mes/Año)</i>
118	Évora	07/2015
119	Lisboa	03/2015

Tabla A1.2 Descripción de la edad y del tipo de patología detectada en el animal del que procede el caso clínico así como del tipo de muestra que se tomó. Además, se incluyen los valores del Cq del ensayo general de *Pestivirus* y se indica si las muestras están infectadas por agentes patógenos asociados al complejo respiratoria bovino (CRB).

Casos clínicos procedentes de España					
<i>Nº de caso</i>	<i>Edad del animal</i>	<i>Patología detectada en el animal</i>	<i>Tipo de muestra</i>	<i>Cq del ensayo general de Pestivirus</i>	<i>CRB^(*)</i>
1	Menos de 45 días	Digestiva	Hisopos	34,3	Sí
2	Feto	Aborto	Pool de órganos	24,8	No
3	Menos de 45 días	Respiratoria	Pulmones	32,0	Sí
4	Más de 45 días	Digestiva	Heces	35,9	No
5	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	35,9	Sí
6	Menos de 45 días	Respiratoria	Lavados	25,7	Sí
7	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	26,2	Sí
8	Más de 45 días	Digestiva	Pool de órganos	28,3	No
9	Desconocida	Digestiva	Heces	31,4	No
10	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	25,0	Sí
11	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	31,8	Sí
12	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	23,0	Sí
13	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	33,0	Sí
14	Feto	Aborto	Placenta	27,4	No
15	Menos de 45 días	Respiratoria	Lavados	33,6	Sí
16	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	32,8	Sí
17	Menos de 45 días	Respiratoria	Pulmones	22,2	Sí
18	Más de 45 días	Respiratoria	Hisopos	29,4	Sí
19	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	27,3	Sí
20	Menos de 45 días	Respiratoria	Pulmones	1ª Extracción: 34,0 2ª Extracción: 35,5	Sí
21	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	24,2	Sí
22	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	37,6	Sí
23	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	22,1	Sí
24	Desconocida	Digestiva	Heces	28,9	No
25	Desconocida	Respiratoria	Pool de órganos	29,9	Sí
26	Menos de 45 días	Digestiva	Pool de órganos	30,9	No
27	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	32,3	Sí
28	Desconocida	Otras	Leche	29,4	No
29	Más de 45 días	Digestiva	Heces	25,5	Sí

Tabla A1.2 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España					
Nº de caso	Edad del animal	Patología detectada en el animal	Tipo de muestra	Cq del ensayo general de Pestivirus	CRB ^(*)
30	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	37,0	Sí
31	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	20,0	Sí
32	Desconocida	Respiratoria	Lavados	34,4	Sí
33	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	36,3	Sí
34	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	36,9	Sí
35	Menos de 45 días	Digestiva	Heces	29,5	Sí
36	Menos de 45 días	Respiratoria	Raspados	24,8	Sí
37	Menos de 45 días	Digestiva	Hisopos	34,1	Sí
38	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	1ª Extracción: 30,6 2ª Extracción.1: 32,9 2ª Extracción.2: 31,9	Sí
39	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	20,1	Sí
40	Más de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	35,8	No
41	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	31,5	Sí
42	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	29,3	Sí
43	Más de 45 días	Digestiva	Heces	19,0	No
44	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	37,0	Sí
45	Más de 45 días	Digestiva	Heces	18,8	No
46	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	25,3	Sí
47	Feto	Aborto	Hisopos	31,7	No
48	Más de 45 días	Digestiva	Hisopos	24,3	No
49	Más de 45 días	Digestiva	Hisopos	26,5	No
50	Más de 45 días	Respiratoria	Pool de órganos	26,5	Sí
51	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	21,2	No
52	Desconocida	Otras	Sangre	26,1	No
53	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	35,2	Sí
54	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	25,5	Sí
55	Desconocida	Digestiva	Intestino Delgado	21,9	No
56	Menos de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	25,3	No
57	Desconocida	Otras	Leche	34,1	No
58	Más de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	35,1	No
59	Más de 45 días	Respiratoria	Pool de órganos	28,6	Sí
60	Más de 45 días	Respiratoria	Pool de órganos	25,9	Sí
61	Menos de 45 días	Respiratoria	Pulmones	22,9	Sí
62	Menos de 45 días	Digestiva	Hisopos	27,4	No
63	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	36,1	Sí
64	Menos de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	36,0	No
65	Más de 45 días	Otras	Suero	24,3	No
66	Desconocida	Reproductiva	Hisopos	28,7	No
67	Menos de 45 días	Respiratoria	Pool de órganos	27,3	Sí

Tabla A1.2 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España					
Nº de caso	Edad del animal	Patología detectada en el animal	Tipo de muestra	Cq del ensayo general de Pestivirus	CRB ^(*)
68	Menos de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	30,3	No
69	Más de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	29,4	No
70	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	18,6	Sí
71	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	27,4	Sí
72	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	22,9	Sí
73	Menos de 45 días	Digestiva	Heces	34,9	No
74	Desconocida	Respiratoria	Lavados	28,3	Sí
75	Desconocida	Otras	Sangre	25,9	No
76	Menos de 45 días	Digestiva	Pool de órganos	25,1	No
77	Desconocida	Digestiva	Intestino Delgado	24,2	No
78	Desconocida	Otras	Suero	25,0	No
79	Más de 45 días	Otras	Sangre	28,1	No
80	Desconocida	Otras	Sangre	25,0	No
81	Desconocida	Digestiva	Abomaso	26,0	No
82	Desconocida	Respiratoria	Lavados	33,5	Sí
83	Más de 45 días	Digestiva	Pool de órganos	22,5	No
84	Desconocida	Respiratoria	Hisopos	30,2	Sí
85	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	28,0	Sí
86	Menos de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	37,6	No
87	Menos de 45 días	Digestiva	Heces	36,7	No
88	Más de 45 días	Digestiva	Pool de órganos	26,4	No
89	Desconocida	Otras	Sangre	23,7	No
90	Feto	Aborto	Pool de órganos	22,5	No
91	Desconocida	Reproductiva	Leche	1ª Extracción: 33,8 2ª Extracción: 29,0	No
92	Feto	Aborto	Pool de órganos	19,0	No
93	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	31,3	Sí
94	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	32,9	Sí
95	Menos de 45 días	Respiratoria	Pulmones	31,4	No
96	Menos de 45 días	Respiratoria	Lavados	32,4	Sí
97	Menos de 45 días	Respiratoria	Pulmones	26,3	No
98	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	24,2	No
99	Más de 45 días	Respiratoria	Lavados	18,2	Sí
100	Feto	Aborto	Hisopos	37,5	No
101	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	24,0	No
102	Desconocida	Reproductiva	Hisopos	1ª Extracción: 29,9 2ª Extracción: Neg	No
103	Feto	Aborto	Pool de órganos	35,6	No
104	Más de 45 días	Otras	Cartílagos	37,6	No
105	Más de 45 días	Otras	Suero	22,6	No

Tabla A1.2 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España					
Nº de caso	Edad del animal	Patología detectada en el animal	Tipo de muestra	Cq del ensayo general de Pestivirus	CRB ^(*)
106	Más de 45 días	Respiratoria	Pulmones	25,4	Sí
107	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	23,9	Sí
108	Más de 45 días	Digestiva	Heces	37,0	No
109	Desconocida	Otras	Cartílago auricular	25,3	No
110	Más de 45 días	Digestiva	Intestino Delgado	34,7	Sí
Casos clínicos procedentes de Portugal					
Nº de caso	Edad del animal	Patología detectada en el animal	Tipo de muestra	Cq del ensayo general de Pestivirus	CRB ^(*)
111	Desconocida	Otras	Torunda	36,2	Sí
112	Desconocida	Respiratoria	Pulmones	27,2	Sí
113	Más de 45 días	Digestiva	Pool de órganos	36,2	No
114	Feto	Aborto	Placenta	27,7	No
115	Feto	Aborto	Pool de órganos	30,3	No
116	Desconocida	Respiratoria	Gasa	31,0	Sí
117	Desconocida	Otras	Suero	21,8	No
118	Desconocida	Otras	Suero	26,9	No
119	Menos de 45 días	Digestiva	Heces	30,1	No

(*) Los agentes patógenos identificados que se relacionan con el CRB son Coronavirus bovino, Virus respiratorio sincitial bovino, Herpesvirus bovino tipo I, Parainfluenza tipo 3, *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* o *Mannheimia haemolytica*.

Tabla A1.3 Descripción de los distintos órganos que constituyen el pool de órganos de las muestras indicadas en la Tabla A1.2.

Casos clínicos procedentes de España	
Nº de caso	Órganos
2	Placenta, Pulmón, Hígado, Contenido del Estómago, Encéfalo
8	Intestino Delgado, Estómago
25	Pulmones, Tráquea
26	Órganos del aparato Digestiva
50	Pulmones, Lavados
59	Pulmones, Corazón
60	Pulmones, Tráquea
67	Pulmones, Tráquea
76	Intestinos, Cuajar
83	Pulmón, Hígado, Intestino
88	Intestino Delgado, Bazo, Ciego
90	Pulmón, Hígado, Contenido Estómago, Encéfalo
92	Pulmón, Hígado, Contenido Estómago, Encéfalo

Tabla A1.3 (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España	
Nº de caso	Órganos
103	Pulmón, Hígado, Contenido Estómago, Encéfalo
Casos clínicos procedentes de Portugal	
Nº de caso	Órganos
113	Oreja, Contenido Estómago, Estómago
115	Hígado, Contenido del Estómago, Encéfalo, Cordón umbilical

~ Anexo II

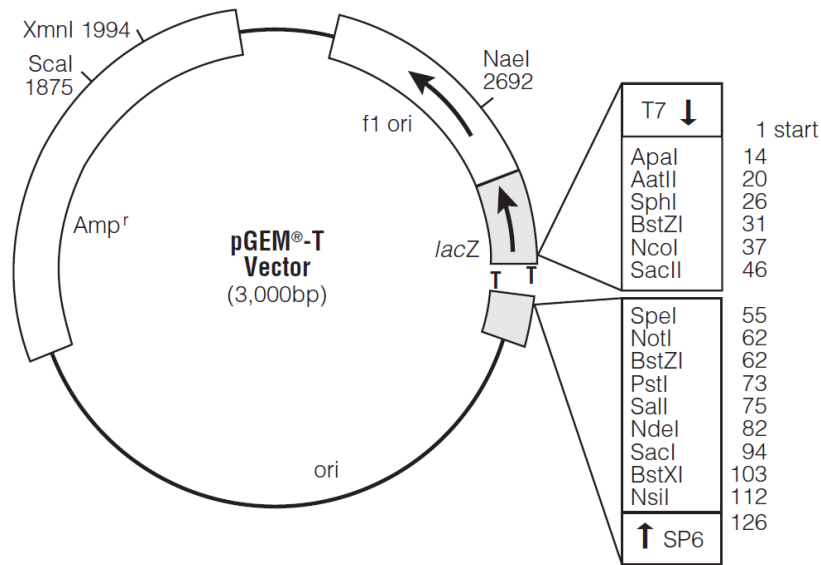


Figura A2.1 Mapa del vector pGEM-T.

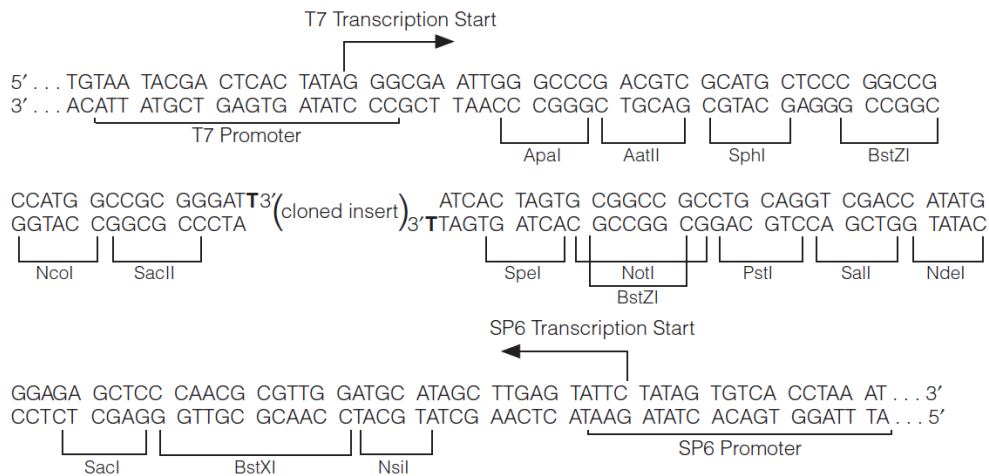


Figura A2.2 Promotor y sitio de clonación múltiple del vector pGEM-T.

Tabla A2. Puntos de referencia del vector pGEM-T.

	Posición en el vector
Sitio inicio de la transcripción de la T7 RNA polimerasa	1
Sitio de clonación múltiple	10-113
Promotor de la SP6 RNA polimerasa (-17, +3)	124-143
Sitio inicio de la transcripción de la SP6 RNA polimerasa	126
Sitio de hibridación de los cebadores pUC/M13 Reverso	161-177
Codón de inicio del gen <i>lacZ</i>	165
Operador <i>lac</i>	185-201
Región que codifica la β -lactamasa	1322-2182
Región del fago F1	2365-2820
Secuencias del operon <i>lac</i>	2821-2981, 151-380
Sitio de hibridación de los cebadores pUC/M13 Directo	2937-2957
Promotor de la T7 RNA polimerasa	2984-3

~ Anexo III

Tabla A3. Genotipo del virus BVDV detectado en las muestras de los casos clínicos evaluados en el presente estudio. Se realizó una RT-qPCR de las muestras utilizando dos ensayos, uno para determinar la presencia de BVDV-1 (Cq BVD1) y otro para BVDV-2 (Cq BVD2). También se incluyen los valores del Cq del ensayo general de *Pestivirus* (Cq PESTI) previamente descritos en la Tabla A1.2 del *Anexo I*.

Casos clínicos procedentes de España							
Nº de caso	Cq PESTI	Cq BVD1	Cq BVD2	Nº de caso	Cq PESTI	Cq BVD1	Cq BVD2
1	34,3	34,3	Neg	56	25,3	25,8	Neg
2	24,8	25,6	Neg	57	34,1	33,2	Neg
3	32,0	Neg	Neg	58	35,1	Neg	31,3
4	35,9	34,8	Neg	59	28,6	27,2	Neg
5	35,9	36,0	Neg	60	25,9	23,9	Neg
6	25,7	25,9	Neg	61	22,9	20,5	Neg
7	26,2	27,3	Neg	62	27,4	27,9	Neg
8	28,3	28,8	Neg	63	36,1	36,9	Neg
9	31,4	37,9	Neg	64	36,0	35,2	Neg
10	25,0	28,8	Neg	65	24,3	28,9	Neg
11	31,8	32,2	Neg	66	28,7	27,3	Neg
12	23,0	26,6	Neg	67	27,3	26,9	Neg
13	33,0	33,7	Neg	68	30,3	27,9	Neg
14	27,4	27,8	Neg	69	29,4	28,7	Neg
15	33,6	33,6	Neg	70	18,6	16,2	Neg
16	32,8	33,1	Neg	71	27,4	27,1	Neg
17	22,2	23,0	Neg	72	22,9	23,7	Neg
18	29,4	27,1	Neg	73	34,9	36,2	Neg
19	27,3	29,4	Neg	74	28,3	27,1	Neg
20 (1ª Ex)*	34,0	37,4	34,9	75	25,9	26,8	Neg
20 (2ª Ex)*	35,5	36,1	32,2	76	25,1	26,3	Neg
21	24,2	25,1	Neg	77	24,2	25,4	Neg
22	37,6	37,6	Neg	78	25,0	25,4	Neg

Tabla A3. (Continuación)

Casos clínicos procedentes de España							
<i>Nº de caso</i>	<i>Cq PESTI</i>	<i>Cq BVD1</i>	<i>Cq BVD2</i>	<i>Nº de caso</i>	<i>Cq PESTI</i>	<i>Cq BVD1</i>	<i>Cq BVD2</i>
23	22,1	20,7	Neg	79	28,1	28,9	Neg
24	28,9	29,3	Neg	80	25,0	25,9	Neg
25	29,9	28,5	Neg	81	26,0	24,1	Neg
26	30,9	30,3	Neg	82	33,5	35,3	Neg
27	32,3	31,1	Neg	83	22,5	20,8	Neg
28	29,4	Neg	Neg	84	30,2	31,3	Neg
29	25,5	29,8	Neg	85	28,0	28,4	Neg
30	37,0	36,9	Neg	86	37,6	36,7	Neg
31	20,0	17,9	Neg	87	36,7	37,9	Neg
32	34,4	34,9	Neg	88	26,4	26,6	Neg
33	36,3	37,9	Neg	89	23,7	24,9	Neg
34	36,9	36,7	Neg	90	22,5	Neg	Neg
35	29,5	28,1	Neg	91 (1ª Ex)*	33,8	Neg	Neg
36	24,8	24,9	Neg	91 (2ª Ex)*	29,0	29,8	Neg
37	34,1	35,2	Neg	92	19,0	21,8	Neg
38 (1ª Ex)*	30,6	37,5	Neg	93	31,3	22,8	Neg
38 (2ª Ex.1)*	32,9	Neg	Neg	94	32,9	31,6	Neg
38 (2ª Ex.2)*	31,9	Neg	Neg	95	31,4	29,5	Neg
39	20,1	20,2	Neg	96	32,4	31,9	Neg
40	35,8	35,4	Neg	97	26,3	24,6	Neg
41	31,5	30,9	Neg	98	24,2	22,8	Neg
42	29,3	30,0	Neg	99	18,2	17,7	Neg
43	19,0	20,2	Neg	100	37,5	36,2	Neg
44	37,0	28,4	Neg	101	24,0	24,8	Neg
45	18,8	19,3	Neg	102 (1ª Ex)*	29,9	Neg	Neg
46	25,3	25,6	Neg	102 (2ª Ex)*	Neg	-	-
47	31,7	31,3	Neg	103	35,6	35,4	Neg
48	24,3	25,6	Neg	104	37,6	37,0	Neg
49	26,5	26,2	Neg	105	22,6	27,3	Neg
50	26,5	25,9	Neg	106	25,4	24,0	Neg
51	21,2	22,9	Neg	107	23,9	24,9	Neg
52	26,1	25,2	Neg	108	37,0	37,9	Neg
53	35,2	36,7	Neg	109	25,3	30,1	Neg
54	25,5	26,9	Neg	110	34,7	33,9	Neg
55	21,9	21,2	Neg	-	-	-	-
Casos clínicos procedentes de Portugal							
<i>Nº de caso</i>	<i>Cq PESTI</i>	<i>Cq BVD1</i>	<i>Cq BVD2</i>	<i>Nº de caso</i>	<i>Cq PESTI</i>	<i>Cq BVD1</i>	<i>Cq BVD2</i>
111	36,2	35,3	Neg	116	31,0	Neg	29,7
112	27,2	26,0	Neg	117	21,8	22,1	Neg
113	36,2	35,5	Neg	118	26,9	25,7	Neg
114	27,7	31,9	Neg	119	30,1	28,8	Neg
115	30,3	26,9	Neg	-	-	-	-

(*) Ex: Extracción.

~ Anexo IV

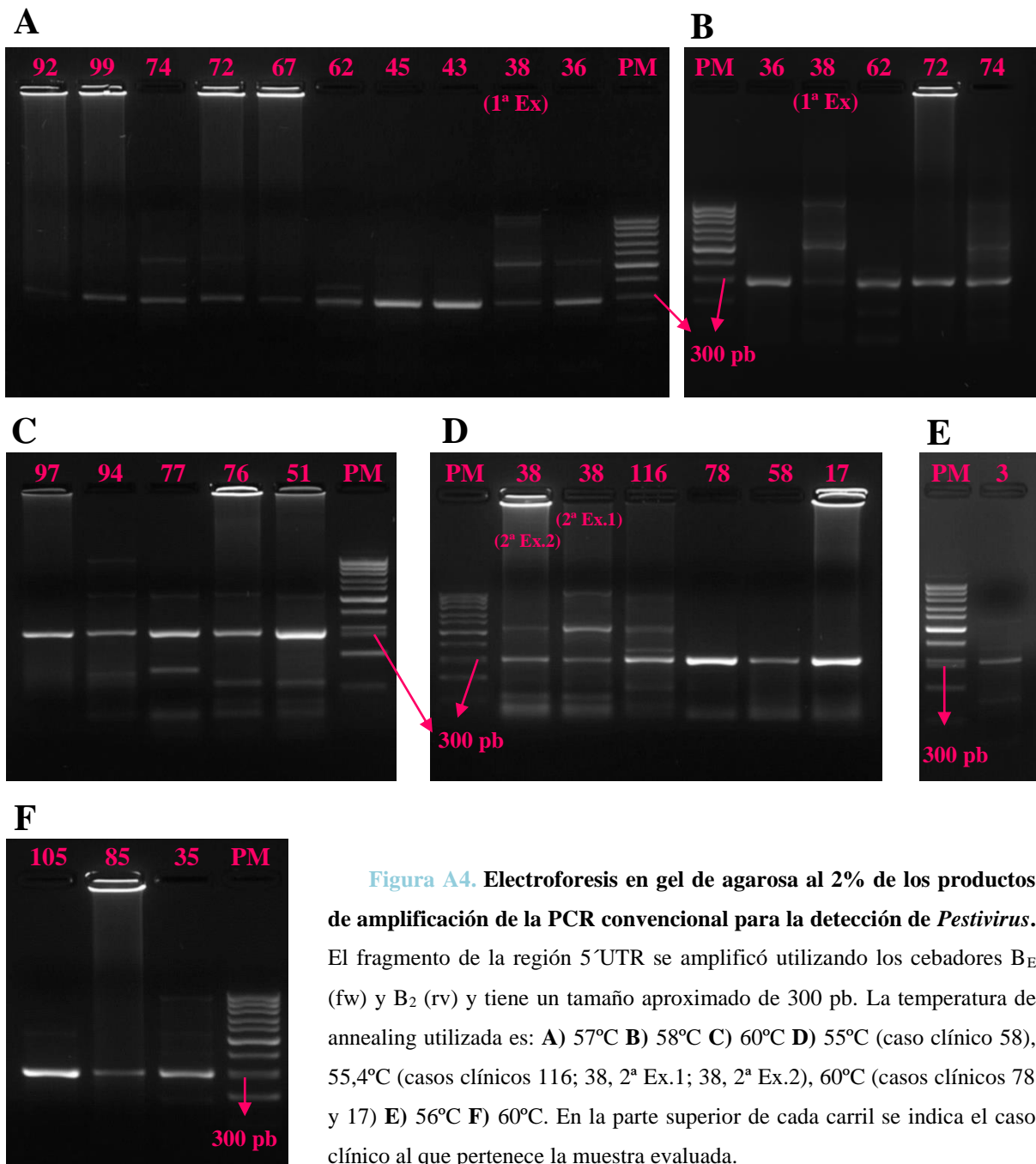


Figura A4. Electroforesis en gel de agarosa al 2% de los productos de amplificación de la PCR convencional para la detección de *Pestivirus*. El fragmento de la región 5'UTR se amplificó utilizando los cebadores B_E (fw) y B₂ (rv) y tiene un tamaño aproximado de 300 pb. La temperatura de annealing utilizada es: **A)** 57°C **B)** 58°C **C)** 60°C **D)** 55°C (caso clínico 58), 55,4°C (casos clínicos 116; 38, 2ª Ex.1; 38, 2ª Ex.2), 60°C (casos clínicos 78 y 17) **E)** 56°C **F)** 60°C. En la parte superior de cada carril se indica el caso clínico al que pertenece la muestra evaluada.

~ Anexo V

A continuación se ofrece una lista de las secuencias consenso de la región 5' UTR de los virus detectados en las muestras analizadas mediante secuenciación de Sanger. La nomenclatura de las secuencias se basa en el número de caso clínico seguido de varias letras que hacen referencia al lugar geográfico del que proceden (*Ast: Asturias; Bad: Badajoz; Bar: Barcelona; Bur: Burgos; Cac: Cáceres; Can: Cantabria; Cor: Córdoba; Ger: Gerona; Hues: Huesca; LaCo: La Coruña; Ler: Lérida; Mad: Madrid; Nav: Navarra; Pon: Pontevedra; Por: Portugal; Sal: Salamanca; Seg: Segovia; Sor: Soria; Tar: Tarragona; Tol: Toledo; Vall: Valladolid; Zar: Zaragoza*).

>116_Por

```
CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAAAGAGGGGACTAGCGGTAGCAGTGAGTTCATTGGA
TGGCCGAATCCCTGAGTACAGGGAAGTCGTCAATGGTTCAACACTCTGGCAGTGAAAGA
GTCTTGAGATGCCATGTGGACGAGGGCATGCCACGGCACATCTTAACCTATGCGGGGG
TTGCGTAGGTGAAAGCACCATTTATATGGTGTGATGAACACAGCCTGATAGGGTGTAGC
AGAGACCTGCTATCCCGCTAGTAAAACTCTGCTGTACATGGCAC
```

>109_Cac

```
CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGGTTCG
TTCAGGTGAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGTGCTGCAGAG
GCCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC
```

>105_LaCo

```
TTAGTAGGACTAGCAAATGAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGATGGCTGAA
GCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTCGACGCTTAGGATGATAAGCCTCGAGATG
CCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGAGCGGGGGTTCGCTCAGGCG
AAAACGGTCTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGTGCTGCAGAGGCCCACTG
TATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC
```

>101_Vall

```
CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGATAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGAACGGGGGGTTCG
TCAGGTGAAAACGGTTTGACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGTGCTGCAGAGG
CCCACTGTAYTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC
```

>99_Tol

```
CATGCCCTTAGTAGGACTAGCATATTGGGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTAGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTCGACGCCTCAGAATGTAGGCC
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGGCGGGGGTTCG
TCAGGTAAAAGCGGGTAAACCGTTACTAGCACAGCCTGATAGGGTGTGCTGCAGAGGCCA
CTGGACTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC
```

>97_Bur

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAATGGTTTGACGCTTGTATGACAAGCCTC
AAGATGCCATGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGGCGGGGGTCGCT
CAGGTGAAACGGTTCAACCAACCGCTACGGATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCC
CACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>93_Mad

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATGAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACGGGGTAGTCGTCAAGTGGTTTCGACACCTAGGATGGTAGGTCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACGTCTTAGCCTGAGCGGGGGTCGC
CCAGGTGAAAGCGGTAAGACATAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTAAATGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>92_Ast

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTTCGACGCTTGGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGAACAGGGGGTCG
TTCAGGTGAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCACTGTAAACGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>91_Cor

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAACGAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGAT
GGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTTCGACGCTTAATATGATAAGCCTC
GAGATGCCACGTGGACGAGGGCACGCCACAGCACATCTTAACCTGAGCGGGGGTCGCT
CGGGCGAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGC
CCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>90_Hues

ATGTGCACTCTGCAGGCATGGTGATTTGGGAAGTGTGTGCATTTGTGGGTGTGGGCAAGA
ATCGGTGTGCTGTGTGTCATGCCCTTTATAGGACTAGCAAACGGGAGGACTAGCCATCAT
GGTGAGGTACCTGAGCGGTCTAAGCCCTGAGTACAGGGCAGTCGTCAAGTTCGACAC
TAACCTGGCTTAGTCTCGAGATGCTACGTGGACGAGGGCATGCCCGTGACACGCTTTAGC
CCCAGCGGGGGTCGTTGGGGTGAAAACACCTTACGGTGCTGGTATCACAGCCTGATAGG
GTGCTGCAGAGGCCCATGAATAGGCTAGTATAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>89_Pon

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAAGTGGTTTCGACGCTTTGGAGGACAAGCC
TCGAGGTGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGGTCG
TTCAGGTGAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>85_LaCo

CCTTTAGTAGGACTAGCAAACAAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGATGGC
TGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAATGGTTTGACGCTTGTATGACAAGCCTCAAGA
TGCCATGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGGCGGGGGTCGCTCAGG

TGAAACGGTTCAACCAACCGCTACGGATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCCCACT
GTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>84_Bur

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCATAATGAGGGGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTTAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCACTGGTTCGACGCCTTGGAAAAATAAGG
TCTCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCACGCCAAAGCGCATCTTAACCTGAGCGGGGGT
CGCTCAGGCGAAAACAGTTTAACCAACTGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAG
AGGCCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>83_Bar

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATGAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCACTGGTTCGACGCCTTGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCG
TTCAGGTAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>78_Bad

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCACTGGTTCGACGCCTTGGGAGAAAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCG
TTCAGGTGAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>77_Cac

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCACTGGTTCGACGCCTTGGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCG
CTCAGGTGAAAACGGTTTAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>76_Ger

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAATGGTTTGACGCCTTGTATGACAAGCCTC
AAGATGCCATGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGGCGGGGGTTCGTT
CAGGTGAAACGGTTTAACCAACCGCTACGGATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCC
CACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>74_Hues

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAACAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCACTGGTTCGACGCCTTCGGATGACAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCGTT
TCAGGTGAAAACGGTTTAATCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCCACTGCATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>72_Zar

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCACTGGTTCGACGCCTTCGTGCGACAAGCCT

CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGAGCGGGGGTCGT
TCAGGTGAAAACGGTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>70_Tol

CCTTCAGTAGGACTAGCATAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGATGGC
TGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGATAAGCCTCGA
GATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGGTCGTTCA
GGTGAACCGGTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCC
ACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>67_Tol

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCAACAGTGGTGAGTCCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTGTATGACAAGCCTC
AAGATGCCATGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGGGCGGGGGTCGTT
CAGGTGAAGCGGTTCAACCAACCGTTACGGATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCC
CACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>62_Seg

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGAGCGGGGGTCG
TTCAGGTAAAACGGTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>58_Ler

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAAGGAGGGGACTAGCGGTAGCAGTGAGTTCATTGGA
TGGCCGAATCCCTGAGTACAGGGAAGTCGTCAGTGGTTCGACACTCCATCAGTTGAGGA
GTCTCGAGATGCCATGTGGACGAGGGCATGCCCACGGCACATCTTAGCCTGTGCGGGGG
TTGCATAGGTGAAAGCACCATTTCGTGGTGCTATGGACACAGCCTGATAGGGTGTAGCAG
AGACCTGCTATCCCGCTAGTAAAACTCTGCTGTACATGGCAC

>55_Mad

CCTTTAGTAGGACTAGCATAATGAGGAGGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGATGGC
TTAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACACCTTGGCTTAAAGGTCTCGAG
ATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCAAAGCACATCTTAACCTGAGCGGGGGTCGCCAG
GTGAAAACAGTTTAACTAACTGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCCCA
CTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>54_Zar

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAATGAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGCAGTCGTCAGTGGTTCGACACCTAGGATGGTAGGTC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAGCCTGAGCGGGGGTCG
CCCAGGTGAAAGCGGTAAAGACAGACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGA
GGCCACTGTAATGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>52_Can

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTCGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTCG
TTCAGGTAAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>51_Cac

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAGATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTCAGATGACAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTCGT
TCAGGTCAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>48_Ler

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATGAGGGGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGCAGTCGTCAGTGGTTCGACACCTAGGATGATAGGTC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAGCCTGAGCGGGGGTCG
CCCAGGTGAAAGCGGTGGAACAGACTGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCCACTGCAATGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>46_Nav

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAACGAGGAGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGAT
GGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTAGTATCACGAGCCTC
GAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGAGCAGGGGGTCGCT
CAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCCACTGGATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>45_Ast

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCATAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGATAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTCGT
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>43_Ast

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCATAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGATAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTCGT
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>42_LaCo

TTAGTAGGACTAGCAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGATGGCTGA
AGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTCGGAGGACAAGCCTCGAGAT
GCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACAGGGGTCGTTTCAGGT
GAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCCCACT
GTAATGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>39_Tar

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATAAGGAGGGTAGCGACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGTGTGACAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTAAGCGGGGGTTCG
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCCACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTATCGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>38.1_Sor

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTATGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTGGGAGGACAAGCC
TCGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCG
TTCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACATATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAG
GCCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>36_Zar

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCATTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGGATGATAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAGCCTGGACGGGGGTTCG
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTATGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>35_Nav

CATGCCCTTTTAGGACTAGCAAAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTCGGATGACAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCG
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>31_Ler

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATAAGGGGGGTAGCAACAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTTGACGCTTTGTGTGACAAGCCT
CAAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAACCTGAGCGGGGGTTCG
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCCACGGATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>29_Ler

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCATAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTTGGAGGATAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCGTGCCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTTCG
TCAGGTGAAAACGGTTTAAACCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCACTGTATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>17_Nav

CCTTTAGTAGGACTAGCAAATGAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGATGGC
TGAAGCCCTGAGTACAGGGCAGTCGTCAGTGGTTCGACACCTAGGATGGTAGGTCTCGA
GATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCCACAGCACATCTTAGCCTGAGCGGGGGTTCGCCA
GGTGAAGCGGTAAAGACAGACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGGCC
CACTGTAATGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>14_Sal

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAATAAGGGGGGTAGCATCAGTGGTGAGTTCGTTGGA
TGGCTGAAGCCCTGAGTACAGGGTAGTCGTCAGTGGTTCGACGCTTCGGATGACAAGCCT
CGAGATGCCACGTGGACGAGGGCATGCCACAGCACATCTTAACCTGGACGGGGGTCGT
TCAGGTGAAAACGGTTAATCAACCGCTACGAATACAGCCTGATAGGGTGCTGCAGAGG
CCCACTGCATTGCTACTAAAAATCTCTGCTGTACATGGCAC

>3_Ler

CATGCCCTTAGTAGGACTAGCAAAAAGAGGGGACTAGCGGTAGCAGTGAGTTCATTGGA
TGGCCGAATCCCTGAGTACAGGGAAGTCGTCAATGGTTCACACTCTGGCAGTGAAAGA
GTCTTGAGATGCCATGTGGACGAGGGCATGCCACGGCACATCTTAACCTATGCGGGGG
TTGCGTAGGTGAAAGCACCATTTATATGGTGTGATGAACACAGCCTGATAGGGCGTAGC
AGAGACCTGCTATCCCGCTAGTAAAACTCTGCTGTACATGGCAC

~ Anexo VI

Tabla A6. Determinación, a nivel de subgenotipo, del tipo de *Pestivirus* presente en las muestras de los casos clínicos seleccionados para el estudio de secuenciación. Mediante PCR convencional se amplificó un fragmento (de aproximadamente 300 pb) de la región 5'UTR y, tras comprobar que aparecía la banda de interés en un gel de agarosa al 2%, se obtuvo la secuencia consenso mediante secuenciación de Sanger.

Nº de caso	Procedencia del caso clínico	Subgenotipo	% Similitud	Nº Acceso GenBank muestra homóloga	Procedencia muestra homóloga
91	Córdoba	BVDV-1b	97,8%	MG434586	Italia
90	Huesca	BDV-4	100,0%	LT629130	España (Pirineos)
74	Huesca	BVDV-1b	98,2%	LT901735	Reino Unido
72	Zaragoza	BVDV-1b	98,6%	KC695814	EE.UU.
54	Zaragoza	BVDV-1e	98,9%	MG434588	Italia
36	Zaragoza	BVDV-1b	97,8%	LT901736	Reino Unido
52	Cantabria	BVDV-1b	98,9%	MG434595	Italia
97	Burgos	BVDV-1b	98,9%	JN715000	Polonia
84	Burgos	BVDV-1a	97,1%	LT902377	Reino Unido
14	Salamanca	BVDV-1b	98,6%	LT901735	Reino Unido
62	Segovia	BVDV-1b	98,6%	LT901736	Reino Unido
38.1	Soria	BVDV-1b	98,2%	LT901736	Reino Unido
38.2	Soria	-	-	-	-
101	Valladolid	BVDV-1b	98,2%	FJ387323	EE.UU.
99	Toledo	BVDV-1f	96,3%	JN715018	Polonia
70	Toledo	BVDV-1b	98,6%	LT901736	Reino Unido
67	Toledo	BVDV-1b	97,7%	JN715000	Polonia
83	Barcelona	BVDV-1b	99,3%	FJ387328	EE.UU.
76	Gerona	BVDV-1b	98,1%	JN715047	Polonia
58	Lérida	BVDV-2a	99,6%	KJ616409	Polonia
48	Lérida	BVDV-1e	96,4%	MG434593	Italia

Tabla A6. (Continuación)

Nº de caso	Procedencia del caso clínico	Subgenotipo	% Similitud	Nº Acceso GenBank muestra homóloga	Procedencia muestra homóloga
31	Lérida	BVDV-1b	98,2%	MG434583	Italia
29	Lérida	BVDV-1b	98,6%	LT901736	Reino Unido
3	Lérida	BVDV-2b	100,0%	AY944277	Portugal
39	Tarragona	BVDV-1b	97,5%	KC695814	EE.UU.
93	Madrid	BVDV-1e	97,1%	MG434588	Italia
55	Madrid	BVDV-1a	98,2%	LT902241	Reino Unido
46	Navarra	BVDV-1b	98,2%	MG434586	Italia
35	Navarra	BVDV-1b	98,2%	MG434595	Italia
17	Navarra	BVDV-1e	98,6%	MG434588	Italia
78	Badajoz	BVDV-1b	98,9%	LT902267	Reino Unido
109	Cáceres	BVDV-1b	99,6%	JN377414	EE.UU.
77	Cáceres	BVDV-1b	98,9%	LT901736	Reino Unido
51	Cáceres	BVDV-1b	98,6%	LT902251	Reino Unido
105	La Coruña	BVDV-1b	97,0%	GU395535	EE.UU.
85	La Coruña	BVDV-1b	98,1%	JN715047	Polonia
42	La Coruña	BVDV-1b	98,5%	MG434595	Italia
89	Pontevedra	BVDV-1b	99,3%	LT901736	Reino Unido
92	Asturias	BVDV-1b	97,8%	LT901736	Reino Unido
45	Asturias	BVDV-1b	98,9%	LT901736	Reino Unido
43	Asturias	BVDV-1b	98,9%	LT901736	Reino Unido
116	Oporto, Portugal	BVDV-2b	99,6%	AY944277	Portugal

~ Anexo VII

Tabla A7. Matriz de identidad (en %) de las secuencias de los virus BVDV-1 detectados en las muestras evaluadas. La matriz fue generada con el programa SDT v 1.2 mediante el alineamiento de las secuencias consenso de la región 5'UTR.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1	100,0																			
2	96,0	100,0																		
3	91,5	91,7	100,0																	
4	91,5	90,8	99,3	100,0																
5	89,7	90,6	98,2	97,4	100,0															
6	91,5	91,7	99,3	98,5	98,2	100,0														
7	91,6	92,1	97,1	96,3	96,7	97,8	100,0													
8	92,3	92,4	96,4	95,6	95,3	96,7	97,1	100,0												
9	92,3	92,1	95,7	94,9	93,8	95,7	97,1	97,1	100,0											
10	92,3	93,5	95,3	94,5	94,9	96,0	96,8	97,1	96,0	100,0										
11	90,9	92,8	94,2	93,4	93,8	94,9	95,3	96,0	95,3	97,8	100,0									
12	91,1	91,9	94,8	94,4	94,4	95,5	95,2	96,3	94,4	97,8	98,9	100,0								
13	92,0	93,9	96,0	95,2	94,9	96,0	95,7	96,4	95,7	98,2	98,2	98,5	100,0							
14	90,1	92,1	94,6	93,8	94,6	95,3	94,9	95,3	93,9	97,1	97,1	97,4	98,2	100,0						
15	92,0	93,2	94,9	94,1	94,6	95,7	95,7	96,0	94,9	98,9	97,5	98,2	98,6	97,5	100,0					
16	91,2	92,4	95,3	94,5	94,9	96,0	95,7	96,8	94,9	98,9	97,8	98,9	98,9	97,8	99,3	100,0				
17	90,9	91,7	94,9	94,9	94,6	95,7	95,3	96,0	94,6	97,1	96,8	97,8	97,8	96,8	97,5	98,2	100,0			
18	91,2	92,1	95,3	94,5	94,9	96,0	95,7	96,4	94,9	97,5	97,1	98,2	98,2	97,1	97,8	98,6	99,6	100,0		
19	90,5	92,4	95,6	93,8	95,3	96,4	96,0	96,8	95,3	97,8	97,5	97,8	98,6	97,5	98,2	98,9	98,6	98,9	100,0	
20	90,9	91,7	94,9	94,1	94,6	95,7	95,3	96,0	94,6	97,5	96,8	97,8	97,8	96,8	97,8	98,6	97,8	98,2	98,6	98,6
21	92,3	93,5	96,0	95,2	95,7	96,7	96,8	97,1	96,0	98,6	97,8	98,5	98,9	97,8	98,9	98,9	97,8	98,2	98,6	98,6
22	91,6	92,8	95,3	94,5	94,9	96,0	96,0	96,4	95,3	98,6	97,8	98,5	98,9	97,8	98,9	98,9	97,8	98,2	98,6	98,6
23	91,6	92,8	94,2	93,4	93,8	94,9	95,7	96,0	94,9	98,2	97,8	97,8	97,8	96,8	97,8	97,8	96,8	97,1	97,5	97,5
24	92,3	92,7	94,1	94,1	93,8	94,9	94,9	95,3	94,1	97,4	96,7	97,8	97,8	96,7	97,8	97,8	96,7	97,1	96,4	96,4
25	92,3	93,5	94,9	94,1	94,6	95,7	95,7	96,0	94,9	98,2	97,5	98,2	98,6	97,5	98,6	98,6	97,5	97,8	98,2	98,2
26	92,3	93,5	94,9	94,1	94,6	95,7	95,7	96,0	94,9	98,2	97,5	98,2	98,6	97,5	98,6	98,6	97,5	97,8	98,2	98,2
27	92,0	93,2	94,6	93,8	94,2	95,3	95,3	95,7	94,6	97,8	97,1	97,8	98,2	97,1	98,2	98,2	97,1	97,5	97,8	97,8
28	92,3	93,5	94,9	94,1	94,6	95,7	96,4	96,8	95,7	97,8	97,1	97,8	98,2	97,1	98,2	98,2	97,5	97,8	98,2	98,2
29	91,2	92,1	94,6	93,8	94,2	95,3	95,3	95,3	94,6	97,1	96,4	97,0	97,5	96,4	97,5	97,5	97,1	97,5	97,8	97,8
30	94,1	95,2	95,5	95,1	93,7	95,5	95,2	96,3	95,9	96,3	95,2	95,2	96,3	94,4	95,9	95,6	95,2	95,6	95,2	95,2
31	92,3	94,9	94,9	94,8	93,1	94,9	94,6	95,7	95,3	94,9	93,9	93,7	94,9	93,1	94,6	94,2	94,6	94,2	94,6	94,6
32	92,7	93,5	95,3	95,2	93,5	95,3	94,9	96,0	95,7	95,3	94,9	94,8	95,3	93,5	94,9	94,6	95,3	94,9	94,9	94,9
33	92,3	91,4	91,3	90,4	90,6	90,9	91,3	92,1	91,3	92,8	92,4	92,3	92,8	91,0	92,4	92,1	92,1	92,4	92,4	92,4
34	92,7	90,9	90,8	90,8	90,1	90,4	90,8	91,6	90,8	92,3	92,0	92,3	92,3	90,5	92,0	91,6	91,6	92,0	90,9	90,9
35	91,6	90,6	90,6	89,7	89,9	90,2	90,6	91,4	90,6	92,1	91,7	91,5	92,1	90,3	91,7	91,4	91,0	91,4	91,7	91,7
36	93,1	92,1	91,3	90,4	90,6	90,9	91,3	91,7	91,3	92,1	91,7	91,5	92,1	90,3	91,7	91,4	91,7	92,1	91,7	91,7
37	89,6	90,1	88,6	88,1	87,5	89,0	88,0	90,9	88,7	90,5	89,1	89,9	90,5	89,4	90,9	90,9	90,1	90,5	90,1	90,1

- 1) BVDV1a_55_Mad
- 2) BVDV1a_84_Bur
- 3) BVDV1b_97_Bur
- 4) BVDV1b_85_LaCo
- 5) BVDV1b_67_Tol
- 6) BVDV1b_76_Ger

- 7) BVDV1b_31_Ler
- 8) BVDV1b_72_Zar
- 9) BVDV1b_39_Tar
- 10) BVDV1b_62_Seg
- 11) BVDV1b_92_Ast
- 12) BVDV1b_42_LaCo

- 13) BVDV1b_77_Cac
- 14) BVDV1b_38.1_Sor
- 15) BVDV1b_83_Bar
- 16) BVDV1b_52_Can
- 17) BVDV1b_74_Hues
- 18) BVDV1b_14_Sal

Tabla A7. (Continuación)

20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37		
																			1
																			2
																			3
																			4
																			5
																			6
																			7
																			8
																			9
																			10
																			11
																			12
																			13
																			14
																			15
																			16
																			17
																			18
																			19
100,0																			20
97,8	100,0																		21
97,8	99,3	100,0																	22
96,8	98,2	98,2	100,0																23
96,7	98,2	98,2	97,8	100,0															24
97,5	98,9	98,9	98,6	99,3	100,0														25
97,5	98,9	98,9	98,6	99,3	100,0	100,0													26
97,1	98,6	98,6	98,2	98,9	99,6	99,6	100,0												27
97,5	98,6	98,6	97,8	97,8	98,6	98,6	98,2	100,0											28
97,1	97,8	97,8	97,5	97,4	98,2	98,2	97,8	97,8	100,0										29
95,6	96,3	95,6	95,9	95,9	96,3	96,3	95,9	95,6	95,6	100,0									30
94,9	94,9	94,2	94,6	94,1	94,9	94,9	94,6	94,2	94,2	97,8	100,0								31
94,6	95,3	94,6	94,2	93,8	94,6	94,6	94,2	94,2	93,9	96,7	96,8	100,0							32
91,7	92,1	92,1	93,2	91,6	92,4	92,4	92,1	92,1	92,8	93,7	92,1	91,7	100,0						33
91,2	91,6	91,6	92,7	92,0	92,0	92,0	91,6	91,6	92,3	93,7	91,6	91,2	99,6	100,0					34
91,0	91,4	91,4	92,8	90,9	91,7	91,7	91,4	91,4	92,1	93,0	91,3	91,0	98,6	98,2	100,0				35
91,0	92,1	91,4	92,1	90,9	91,7	91,7	91,4	91,4	92,1	93,7	92,1	92,1	97,8	97,4	96,0	100,0			36
90,5	90,5	89,8	90,1	90,0	90,9	90,9	90,5	90,1	89,4	91,4	90,8	90,8	90,5	90,0	90,1	90,1	100,0		37

- 19) BVDV1b_35_Nav
- 20) BVDV1b_51_Cac
- 21) BVDV1b_109_Cac
- 22) BVDV1b_89_Pon
- 23) BVDV1b_101_Vall
- 24) BVDV1b_70_Tol
- 25) BVDV1b_45_Ast

- 26) BVDV1b_43_Ast
- 27) BVDV1b_29_Ler
- 28) BVDV1b_78_Bad
- 29) BVDV1b_36_Zar
- 30) BVDV1b_105_LaCo
- 31) BVDV1b_91_Cor
- 32) BVDV1b_46_Nav

- 33) BVDV1e_54_Zar
- 34) BVDV1e_17_Nav
- 35) BVDV1e_93_Mad
- 36) BVDV1e_48_Ler
- 37) BVDV1f_99_Tol

~ Anexo VIII

Tabla A8. Matriz de identidad (en %) de secuencias de los virus BVDV-2 detectados en las muestras evaluadas. La matriz fue generada con el programa SDT v 1.2 mediante el alineamiento de las secuencias consenso de la región 5'UTR.

	1	2	3
1	100,0		
2	99,6	100,0	
3	93,9	93,5	100,0

1) BVDV2b_116_Por

2) BVDV2b_3_Ler

3) BVDV2a_5_Ler