26536

Reg 63814

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA
25 ENE. 1999

SEROPOSITIVIDAD AL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA EN ANIMALES SACRIFICADOS EN CUATRO MATADEROS DE LA SABANA DE BOGOTA

GUSTAVO A. CHAVES R. 14881009

MARTINA E. TORRES CANO 14892102

Trabajo de grado para optar el título de
Médico Veterinario.

Director
JORGE E. ALMANSA
Médico Veterinario

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

1996

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

DIRECTIVAS

RECTOR:	Hno HERNANDO SEBA LOPEZ
VICE-RECTOR:	Hno LUIS HUMBERTO BOLIVAR
SECRETARIO GENERAL:	JUAN DURAN MANTILLA
DECANO DE LA FACULTAD:	Dr GONZALO LUQUE F.
SECRETARIO ACADEMICO:	Dr JOSE IGNACIO RAMOS
DIRECTOR DE TESIS:	Dr JORGE ALMANSA

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

APROBACION

DIRECTOR

JORGE ALMANSA M.

SECRETARIO ACADEMICO

COMITE DE GRADO

JURADO

DRA. LILIANA BERNAL

JURADO

DR. RAFAEL NEIRA

AGRADECIMIENTOS

JORGE ALMANZA. Médico Veterinario. Area de Biotecnología. Corpoica- Ceisa.

HERNANDO FLORES. Médico Veterinario. Area de Ecofisiología. Corpoica- Tibaitata.

OLGA MARIÑO. Bacteriologa. Corpoica- Ceisa.

LEONARDO MARIÑO. Microbiológo. Universidad de los Andes.

ASTRID DE GERALDINO. Area de Biometria. Corpoica- Tibaitata.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron con la realización de este proyecto.

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

ARTICULO 94 DEL REGLAMENTO ESTUDIANTIL DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE 1996

Los trabajos de grado no deben contener ideas que sean contrarias a la doctrina de la Iglesia Católica en asuntos de dogma y de moral.

ARTICULO 95 DEL REGLAMENTO ESTUDIANTIL DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE 1996

Ni la universidad, ni el asesor, ni el jurado calificador son responsables de las ideas expuestas por el graduando.

TABLA DE CONTENIDO

		Pág
INTRODUCCION		1
1.	GENERALIDADES	3
1.1	HISTORIA DE LA LEUCOSIS BOVINA EN COLOMBIA	6
1.2	VIRUS DE LA LEUCEMIA BOVINA (VLB)	7
1.2.1	Clasificación del VLB	8
1.2.2	Características del VLB	9
1.3	PATOGENIA	12
1.4	TRANSMISION DEL VLB	16
1.4.1	Modos de Transmisión	18
1.4.1.1	Transmisión Vertical.	18
1.4.1.1.1	Transmisión por leche y calostro	19
1.4.1.1.2	Transmisión por embriones	19
1.4.1.2	Transmisión Horizontal	20
1.4.1.2.1	Transmisión por contacto	21
1.4.1.2.2	Transmisión por secreciones y excreciones	22
1.4.1.2.3	Transmisión por sangre	23

1.4.1.2.3.1 Modos de transferir sangre infectada 24
1.4.1.2.3.2 Descorne 25
1.4.1.2.3.3 Marcación 25
1.4.1.2.3.4 Palpación Rectal 26
1.4.1.2.3.5 Transmisión por insectos 26
1.5 DIAGNOSTICO 28
1.5.1 Métodos Indirectos. 28
1.5.1.1 Lesiones macro y microscópicas 28
1.5.1.2 Métodos Serológicos 28
1.5.1.2.1 Inmunodifusión Doble en gel de agar (ID) 29
1.5.1.2.2 Inmunofluorescencia 29
1.5.1.2.3 Fijación de complemento 29
1.5.1.2.4 Radioinmunoensayo (RIA) 29
1.5.1.2.5 Elisa 29
1.5.1.3 Estudios sobre proteínas Séricas 30
1.5.2 Métodos Directos. 30
1.5.2.1 Formación de sincitios 30
1.5.2.2 Métodos biológicos 30
1.5.2.3 Microscopía electrónica 31
1.5.2.4 Anticuerpos monoclonales 31
1.5.2.5 Anticuerpos monoclonales contra antígenos asociados a Tumor 31
1.5.2.6 Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) 31
1.6 CONTROL DE LA LEUCOSIS BOVINA. 32
1.6.1 Para haciendas libres. 34
1.6.2 Para haciendas infectadas 35

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

2.	**MATERIALES Y METODOS**	36
2.1	**COLECCION DE SUEROS BOVINOS**	36
2.2	**PRUEBA DE INMUNODIFUSION DOBLE (ID)**	37
2.2.1	**Materiales**	38
2.2.2	**Metodología**	38
2.2.2.1	Preparación del Agar	38
2.2.2.2	Preparación de las placas para Inmunodifusión	39
2.2.2.3	Adición de Reactivos	39
2.2.3	**Interpretación**	40
2.3	**PRUEBA ROSA DE BENGALA.**	41
2.3.1	**Composición**	41
2.3.2	**Indicación**	41
2.3.3	**Administración**	41
2.3.4	**Metodología**	42
2.3.5	**Resultados**	42
2.4	**ANALISIS ESTADISTICOS**	43
3.	**RESULTADOS**	44
4.	**DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS**	57
5.	**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**	63
BIBLIOGRAFIA		66

LISTA DE TABLAS

Pág

TABLA 1. Seropositividad a la prueba de ID, para LBE por grupos de edad. n=440. 46

TABLA 2. Distribución de las muestras según su procedencia y los resultados a la prueba de ID para LBE. 48

TABLA 3. Asociación entre Brucellosis y LBE. 49

TABLA 4. Asociación entre gestación y LBE. 50

TABLA 5. Asociación entre neoplasias y LBE. 50

TABLA 6. Asociación entre alteraciones del sistema circulatorio y LBE. 51

TABLA 7. Asociación entre alteraciones del sistema locomotor y LBE. 51

TABLA 8. Asociación entre alteraciones del sistema digestivo y LBE. 52

TABLA 9. Asociacion entre alteraciones de otros sistemas y LBE. 52

TABLA 10. Asociación entre alteraciones del sistema reproductivo y LBE. 53

TABLA 11. Asociación entre alteraciones dermatológicas y LBE. 55

LISTA DE GRAFICAS

Pág

GRAFICA 1. Estructura tipica de un Retrovirus 10

GRAFICA 2. Patogenia de un retrovirus en la célula hospedadora y su salida. 13

GRAFICA 3. Seropositividad a LBE por ID. 45

GRAFICA 4. Seropositividad a la prueba de ID para LBE por grupos de edad. 47

GRAFICA 5. Asociación entre alteraciones del sistema reproductivo y LBE. 54

GRAFICA 6. Asociación entre alteraciones dermatológicas y LBE. 56

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

RESUMEN

El virus de la Leucosis Bovina (VLB), es el agente etiológico de la Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) o Linfosarcoma Bovino, entidad conocida como una enfermedad linfoproliferativa que afecta animales adultos (mayores de 2 años). La infección con BLV no está asociada con sígnos clínicos de enfermedad en la mayoría del ganado, solo un 30-60% de los animales desarrolla Linfocitosis persistente (LP) y solo un 5-10% desarrolla la fase neoplásica manifiesta por Leucemia y/o Linfosarcoma.

Los Sígnos clínicos de la LBE dependen del órgano afectado, rata de crecimiento del tumor y el grado de diseminación del proceso maligno.
Dentro del cuadro clínico se presentan, neoplasias retrobulbares, disturbios reproductivos, respiratorios, urinarios, disminución de la producción de leche, aumento de tamaño de uno o varios ganglios linfáticos periféricos, masas tumorales que conllevan a desordenes según el tejido implicado. Los tumores que invaden el abomaso, causan obstrucciones que conllevan a anorexia y pérdida de peso. Los tumores localizados en el cordón espinal ocasionan disturbios nerviosos. Los tumores ubicados en el miocardio se asocian a falla cardiaca.
En la actualidad existe preocupación por parte de algunos asistentes técnicos de la Sábana de Bogotá con respecto al posible impacto de la LBE sobre la vida media productiva de las vacas lecheras y su estado sanitario general.

La transmisión del virus puede ser vertical u horizontal, siendo esta última el modo de diseminación más habitual, ya que, en la mayoría de los casos, los bovinos se infectan por exposición a linfocitos infectados, considerados como las células blanco del virus. Este modo

de transmisión puede llevarse a cabo por transfusiones, vacunaciones, insectos hematófagos y en general todas aquellas prácticas de manejo que permitan el contacto con sangre infectada por parte de los animales susceptibles.

En el presente trabajo se analizaron 440 muestras de suero provenientes de hembras bovinas de raza Holstein, llevadas a sacrificio por diversas razones. Las muestras se tomaron al azar en cuatro mataderos ubicados en la Sábana de Bogotá y luego se les practicaron pruebas de inmunodifusión para LBE y Rosa de Bengala para Brucella. Al momento del sacrificio se tomaron datos con respecto a la edad, motivo del sacrificio, se realizó una evaluación clínica y las visceras y canales se revisarón cuidadosamente para determinar la posible presencia de masas tumorales.

Se presentarón porcentajes de serología positiva para LBE de 57.5% y de 49% para Brucella.
Se discuten los resultados obtenidos y las asociaciones observadas, así como las posibles razones para que un porcentaje tan elevado de hembras con edades muy por encima de la vida media productiva, estén siendo sacrificadas.

INTRODUCCION

En Colombia la Leucemia Bovina ha sido reconocida desde 1969, y aún cuando ha habido percepciones distintas a cerca de su importancia para la ganadería, especialmente en el ganado de leche, la infección parece estar ampliamente diseminada en las poblaciones de ganado vacuno, razón principal para iniciar esfuerzos que conduzcan a reconocer su real importancia, su distribución y su posible impacto en aspectos de sanidad y producción.

Dado que algunos asesores veterinarios han expresado su inquietud con respecto a la posible disminución en la vida media productiva del ganado lechero de la Sabana de Bogotá, ocasionado posiblemente por la alta prevalencia de algunas enfermedades infecciosas entre las que la LBE podría jugar un papel relevante, se realizó el presente trabajo.

Para su ejecución se tomarón como referencia cuatro (4) mataderos de la Sabana de Bogotá (Facatativá, Funza,Zipaquirá y Tenjo), recolectandose sangre de 450 animales para análisis por Inmunodifusión Doble para Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) y correlacionando los resultados obtenidos con parámetros como la edad, condición corporal, estado de preñez, presencia de neoplasias macroscópicas, alteraciones en los sistemas circulatorio, reproductivo, locomotor, tegumentario y digestivo entre otros.

LEUCOSIS BOVINA ENZOOTICA

GENERALIDADES

La Leucosis Bovina o Linfosarcoma Bovino, incluye tumores linfoides, linfocitosis e infección subclínica con virus de la Leucemia Bovina (BLV) (59). Comprende dos entidades patológicas diferentes desde el punto de vista de su origen y epidemiología. La Leucosis Bovina Esporádica no se relaciona con un agente etiológico conocido, afecta animales jóvenes y se han descrito tres formas básicas de presentación; Linfosarcoma Tímico, Dérmico y Juvenil. En general son de ocurrencia rara (3,4,6,39,55,59,75,77,78).

De otra parte la Leucosis Bovina Enzoótica, (LBE) se relaciona con un retrovirus oncogénico tipo C, afecta animales adultos (mayores de dos años) y puede provocar graves pérdidas económicas. Los animales afectados suelen

permanecer aparentemente sanos pero ser serológicamente positivos, pueden presentar linfocitosis persistente (LP) o pueden presentar la fase neoplásica de la enfermedad, manifiesta por Leucemia o Linfosarcoma y cuyo cuadro clínico varía ampliamente de acuerdo con la localización de las masas tumorales (4,53,59,63).

Esta entidad ha ido adquiriendo importancia económica y durante los últimos años ha aumentado el interés en ella, a causa de que dicho agente (considerado inmunodepresivo) está ampliamente diseminado en las poblaciones de ganado vacuno (58).

La prevalencia de la infección, en hatos de ganado lechero sin programas de control, puede ser del 60 a 90% (32). La proporción de reactores en hatos lecheros es generalmente mayor en los subgrupos de animales mayores comparado con los jóvenes. Esto puede explicar, en parte, el porqué de la mayor prevalencia en hatos lecheros que en las ganaderías de carne, teniendo en cuenta además el contacto estrecho entre los animales y las posibles diferencias raciales en cuanto a susceptibilidad y resistencia al proceso (32,58,62).

Los signos clínicos de la LBE dependen del órgano

afectado, de la tasa de crecimiento de los tumores y del grado de diseminación del proceso maligno. El cuadro clínico típico se presenta con enflaquecimiento, pérdida de peso, anemia, disminución de la producción de leche y aumento de uno o varios ganglios linfáticos periféricos, exoftalmo (50), tumores en el miocardio, desórdenes circulatorios, respiratorios, reproductivos (15), urinarios o neurológicos cuando estos tejidos estan especificamente afectados (13,32,38,49,53,57).

La transmisión del virus de la Leucosis Bovina puede ser vertical u horizontal (57). La transmisión horizontal, parece ser el modo de diseminación más habitual del VLB, y más importante que la vertical, ya que se realiza por transfusiones, premuniciones, vacunaciones, prácticas de obstetricia e insectos hematófagos, entre otros (57,62). En la mayoría de los casos, los bovinos se infectan por exposición a linfocitos infectados y no a partículas virales (13).

Debido a que el virus se transmite por contacto, la identificación correcta de los reactores y la pronta eliminación de éstos sin tener en cuenta la presencia o no de cualquier manifestación clínica sería la base de un programa de erradicación y control ideal. El paso inicial

para el control es el exámen serológico de todos los bovinos de la finca, siendo la prueba más utilizada la Inmunodifusión Doble en Agar (ID) (13,57). Este es un método indirecto para el diagnóstico de LBE, fundamentado en la presencia de anticuerpos. Otros métodos se basan en cambios morfológicos tales como Neoplasias, en el análisis del Hemograma, (linfocitosis persistente), en alteraciones en el perfil de las proteínas séricas o Electroforetograma y otros estudios serológicos que buscan detectar anticuerpos contra antígenos virales, como Fijación de Complemento y Elisa que son menos utilizados (3).

La investigación en Leucosis Bovina Enzoótica, ha adquirido mayor relevancia a consecuencia de los hallazgos sobre el origen del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), el cuál, como es ampliamente conocido, es tambien un retrovirus.

1.1 HISTORIA DE LA LEUCOSIS BOVINA EN COLOMBIA.

En Colombia el primer reporte de la LB, data de 1959 (46), y ya en 1967 se reunió el primer seminario sobre la enfermedad. En 1978 se reportó el primer caso de Linfosarcoma juvenil en el Municipio de Facatativá

(Cund), y en ese mismo año se reportó y describió la forma adulta o Enzoótica en un Bovino en el municipio de Sopó.

En 1980, Parra et al, realizarón un muestreo serológico en la Sabana de Bogotá com el objeto de establecer el posible grado de difusión de Leucosis Bovina, dando una estimación puntual del 36,44% de reactores positivos (63).

Trabajos epidemiológicos, realizados hace algunos años muestran una prevalencia del 25.9%, 14.4% y 15.3% para las regiones Andina, Caribe y Pie de monte llanero respectivamente (46).

En Colombia se ha encontrado que de los animales serologicamente positivos, un 6 a 7%, presentan Linfocitosis persistente (LP), sin detrimiento aparente de las condiciones físicas del animal (57).

1.2 VIRUS DE LEUCEMIA BOVINA (VLB).

El VLB es un retrovirus exógeno responsable de la Leucosis Bovina Enzoótica, la cuál se conoce como una enfermedad neoplásica común del ganado (52).

La familia Retroviridae está compuesta por tres subfamilias.

1) Oncovirinae: Virus productores de tumores.

2) Lentivirinae: Producen importantes enfermedades crónicas en las ovejas, cabras, caballos, primates, gatos, vacas y humanos; esta subfamilia también incluye el agente etiológico del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

3)Spumavirinae: No son patógenos (37).

La nueva clasificación de los Retrovirus, según el Comité Internacional para Taxonomía de Virus (ICTV), ha dividido los Retrovirus en 7 géneros.

1-Lentivirus

2-Spumavirus

3-Virus relacionados MLV (virus de leucemia murina).

4-Virus tipo B mamíferos

5-Virus tipo D

6-Virus relacionados ALV (virus de leucosis aviar).

7-HTLV-BLV (Virus de leucemia humana de células T - Virus de leucemia Bovina).

1.2.1. Clasificación del VLB:

FAMILIA: Retroviridae

GENERO: HTLV-BLV

ESPECIE: HTLV-I,II, BLV

El término Retro (=inverso) deriva de la presencia de la enzima transcriptasa reversa o inversa (TI) (ADN-polimerasa dependiente de ARN). Los Retrovirus constituyen una familia de virus capaz de transformar la célula huésped y simultáneamente producir partículas virales (42).

1.2.2 Características del VLB:

MORFOLOGIA: Aspecto redondo

DIAMETRO: 90-110 nm.

SIMETRIA: Compleja

MADURACION: Por gemación externa.

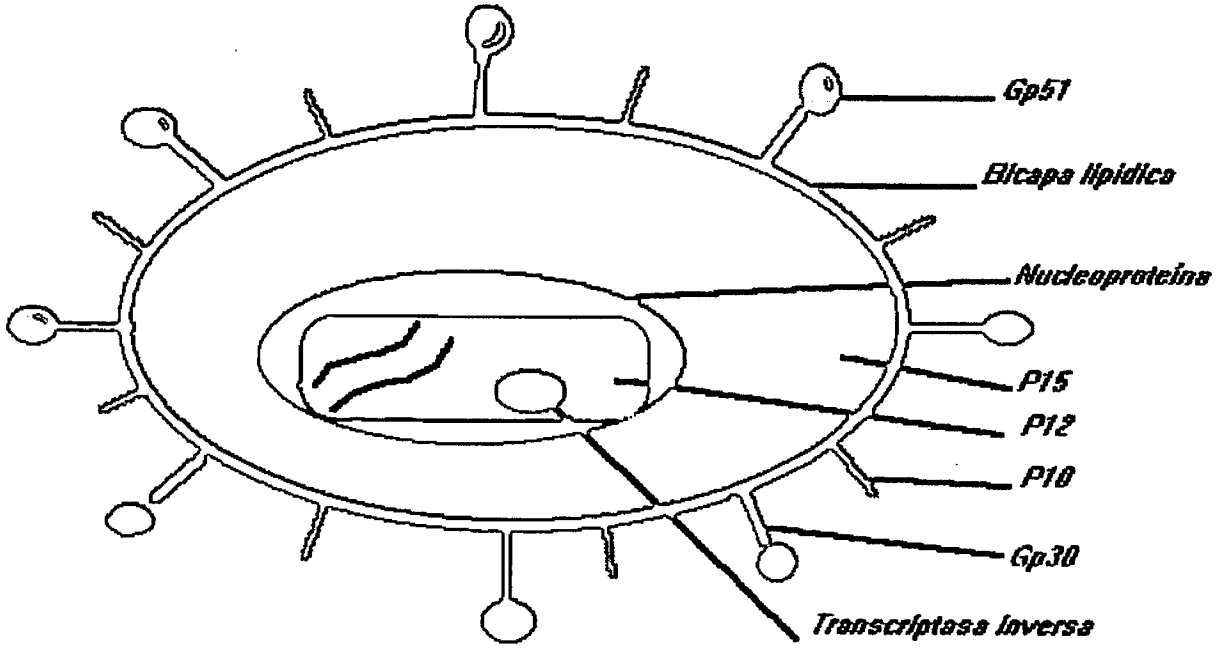
ARN: Tira única, diploide.

ENZIMA: Transcriptasa inversa o revertasa (TI)

Presencia de envoltura, nucleoide central, nucleocápside helicoidal envuelta en cápside icosaédrico (ver gráfica 1).

El genoma es diploide y contiene al menos tres genes.

* Gen Gag:(antígeno específico de grupo, es decir, los anticuerpos reaccionan con las proteínas en forma cruzada con otros virus de la misma especie animal) codifica las proteínas del núcleo vírico (20). Contiene las proteínas estructurales P24, P15, P12.



GRAFICA 1. Estructura tipica de un Retrovirus.

-La P24: Es la mayor constituyente de la cápside del VLB, es neutra y moderadamente hidrofílica.

-La P15: Es la fosfoproteína de mayor concentración en el VLB y parece que existen dos poblaciones diferentes, una unida a la bicapa lipídica de la envoltura y otra unida en baja proporción al RNA.

-La P12: Se une al RNA del virus y es la mayor constituyente del genoma.

* Gen Pol: Codifica la transcriptasa inversa (polimerasa)

* Gen Env: Codifica las proteínas de la envoltura. Codifica para una proteína precursora de 72.000 daltons, la cuál da origen a dos proteínas de envoltura glicosiladas, la Gp51 y la Gp 30, se encuentran en relación 1:1 unidas por enlaces disulfuro (3,4). Es importante aclarar que el antígeno Gp51 es equivalente al Gp58 nombrado en la literatura americana.

Los anticuerpos dirigidos contra las glicoproteínas de la envoltura reaccionan solamente con el mismo virus, (son específicas de tipo) (20).

El virus se inactiva por rayos ultravioleta, congelación y descongelación repetidas, calentamiento a 56 C por 30 minutos ó 80 C por 1 minuto. No se halla relacionado serológicamente con los otros virus tipo C (avíario y

mamífero). Se encuentra relacionado genética y antigénicamente con el Virus de Leucemia Ovina (reacción inmunológica cruzada) (53).

El VLB ha sido identificado como un virus adquirido exógenamente y sin oncogen típico transformante. Los dos puntos relacionados a continuación indican la ausencia de dicho gen:

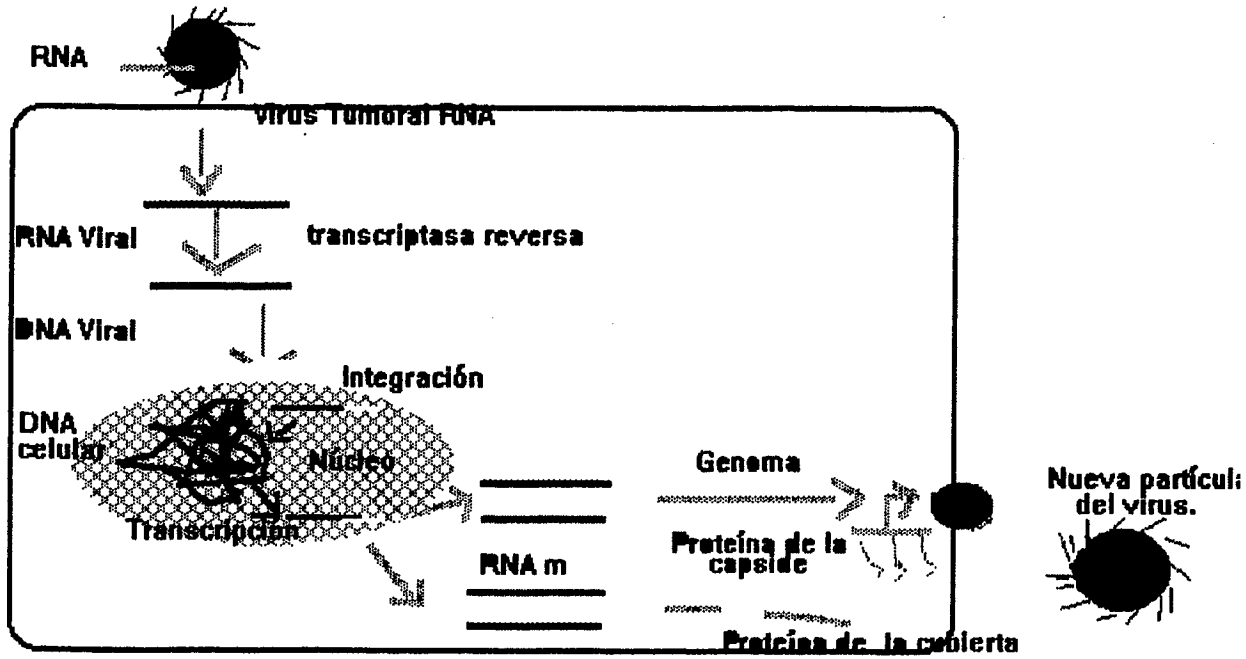
1) Existen muchos portadores clínicamente sanos en áreas enzoóticas y la tasa de aparición de tumores es menor del 10% de los animales infectados.

2) El prolongado período de latencia, generalmente mayor de 1 año, en el desarrollo de la enfermedad (2).

1.3 PATOGENIA.

Una vez el VLB entra a su célula blanco, (pro-linfocito B), el ARN del virión se libera, y se transcribe en ADN mediante la Transcriptasa inversa TI, dando lugar a un provirus del virus de Leucosis Bovina, que se integra al genoma de las células infectadas (3,4,9,59). (ver gráfica 2).

En el interior de la célula hospedera, el provirus no tiene poder antigénico; sigue la multiplicación de los



GRAFICA 2. Patogenia de un retrovirus en la célula hospedadora y su salida.

linfocitos B y puede transmitirse a otros hospederos, por la transferencia de estas células. El provirus, por inducción del ARNm, puede iniciar la replicación de viriones en el citoplasma. Cuando los viriones abandonan la célula, las proteínas antigénicas, fundamentalmente la Gp 51, pueden inducir la producción de anticuerpos en el huésped (9).

Los linfocitos infectados de los animales seropositivos, represan la transcripción del genoma del VLB a través de algún mecanismo que aún no esta bien establecido.

Al perderse el sistema de represión en los linfocitos infectados inoculados de un huésped susceptible, el provirus se expresaría de una manera muy rápida, antes de caer ante los sistemas de defensa del nuevo huésped. Partículas virales recientemente ensambladas estarían disponibles para infectar células blanco. La viremia sólo puede detectarse después en los primeros 10-12 días de la infección, precediendo a la aparición de anticuerpos neutralizantes (67); contrariamente a como sucede con otros retrovirus, en los cuáles la viremia ocurre y persiste, la viremia en LB ocurre solamente en las fases tempranas de la infección (34).

En la fase siguiente, el virus se torna activo e induce la formación de anticuerpos, con o sin diseminación celular en el sistema linfático y con o sin linfocitosis persistente. Lo más frecuente es que esta fase persista durante toda la vida del animal. En algunos casos, se instala la tercera fase, con la que se inicia una proliferación neoplásica y evoluciona en forma de infiltraciones tumorales, que adquieren generalmente la forma de linfosarcoma en los bovinos adultos (9).

Aún cuando los trabajos iniciales establecieron al linfocito B como sitio de alojamiento y replicación del VLB, recientemente se ha demostrado su integración a linfocitos T, macrófagos y células epiteliales. Se desconoce la partícula receptora para el VLB. El virus saldría del linfocito infectante y entraría en la nueva célula huésped en donde por medio de la enzima TI se desarrollarían provirus que entrarían al núcleo para insertarse indiferentemente, en varios puntos del genoma. Simultáneamente se pueden ensamblar nuevas partículas virales y desprenderse por botonamiento hacia la corriente sanguínea; otra posible vía, sería el atrapamiento de linfocitos infectantes por macrófagos y la expresión en éstos del agente viral. La integración del provirus en el DNA del huésped, permite la expresión

de la proteína transactivante P34, la cuál parece conduce más tarde y sólo en algunos casos, a transformación celular. Se ha visto que entre más permisivos sean los linfocitos B al VLB, existe una mayor probabilidad de transformación, tal como sucede con los ovinos. Se ha establecido que el VLB conlleva a un aumento en la proporción de linfocitos B en animales seropositivos. Dicha estimulación policlonal conduce frecuentemente a LP, en la cual la mayoría de los linfocitos son de tipo B (3,4).

El virus no infecta todas las células y no ha podido ser detectado en los tumores; se encontró que el provirus no se integra en el mismo sitio del genoma en todas las células infectadas, sino en muchos sitios dentro del genoma; esto indica que la activación o inactivación de muchos genes celulares, podrían ser los responsables del crecimiento tumoral (56).

1.4 TRANSMISION DE VLB

Se ha observado que la difusión de la forma enzoótica, se realiza por contacto entre animales enfermos y sanos a pesar de que el mecanismo exacto no se ha determinado (63). La transmisión natural del virus, dependería del

paso de linfocitos infectados de un animal positivo, a uno negativo (67).Sin embargo los recientes reportes, sobre la presencia cíclica de partículas virales en secreción muconasal y la comprobación de replicación viral en células epiteliales, sugiere otras posibles formas de transmisión (23).

Se considera que las partículas virales se reproducen muy rara vez "in vivo", por lo cual parece lógico asumir que, en la mayoría de los casos, los bovinos se infectan por exposición a linfocitos infectados y no a partículas virales libres (13).

Una vez el animal se infecta, desarrolla respuesta inmune al virus, y los anticuerpos son detectables de 3-4 meses post-infección. Tras la aparición de anticuerpos en el suero se establecería un período pre-canceroso, en el cual los animales se encuentran aparentemente sanos, pero presentan un conteo alto de linfocitos (LP); el tiempo varía de pocos meses a años, antes de que el animal infectado entre al estado final de la enfermedad clínica, claramente definida como Linfosarcoma o Leucemia Linfocítica.

Algunos autores dividen la forma de transmisión del VLB en tres tipos principales: La primera, ocurriría en

ganado susceptible, luego de la infección con linfocitos infectados. La segunda, por transfusión de sangre y la forma final, cuando durante la preñez, el virus cruza la barrera placentaria e infecta el feto.

El mecanismo de transmisión, Madre-feto no ha sido completamente entendido, pero podría ocurrir durante la inmunosupresión temporal que se produce en la madre gestante. Durante este período el virus sería arrojado en secreciones (18). Sin embargo, una atención de estricta higiene durante la manipulación del parto y la separación de madres positivas y negativas, especialmente durante el pre-parto, podría disminuir la contaminación con el VLB en el hato (65).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

1.4.1 Modos de Transmision:

La transmisión del Virus puede ser vertical u horizontal.

1.4.1.1 Transmisión vertical. Se define como la infección diaplacentaria intrauterina de los fetos por vacas infectadas, sin importar que estén padeciendo la enfermedad o tengan únicamente la infección latente. Este tipo de transmisión puede ocurrir hasta en un 18% de madres seropositivas (57).

Algunos experimentos de transmisión, sugieren que los

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

descendientes de vacas con linfosarcoma, deben considerarse como infectados o sospechosos de estarlo. La transmisión directa del VLB de vacas a los fetos por infección intrauterina, ayudaría a explicar la incidencia de la enfermedad en ciertas familias (62).

1.4.1.1.1 Transmisión por leche y calostro. Se sabe que tanto en la leche como en calostro se pueden eliminar linfocitos infectados con el virus; sin embargo, varios experimentos han demostrado que los anticuerpos presentes en el calostro, pueden neutralizar las posibles partículas virales vehiculizadas en los linfocitos de éste; además se ha comprobado la buena inmunidad conferida por estos anticuerpos calostrales a las crías durante 4 a 6 meses aproximadamente, tiempo en el cuál comienzan a desaparecer. Así, el riesgo de transmisión a través de la leche sería bajo (57).

A pesar de que se han encontrado leucocitos infectados con Virus de Leucemia Bovina en la leche y el calostro, parece ser que tales secreciones, provenientes de madres infectadas no son el medio de transmisión más importante, debido posiblemente a la interferencia por parte de los anticuerpos neutralizantes presentes en ellas (37).

1.4.1.1.2 Transmisión por embriones. El VLB aparentemente

no es incorporado en los gametos bovinos, por lo tanto el trasplante de embriones a partir de vacas donantes infectadas, no transmite la infección a los terneros incubados en vacas nodrizas negativas."In vitro" se ha establecido que los embriones con zona pelúcida intacta retienen la partícula viral en la zona y de esta forma no infectan a vacas receptoras negativas (58).

1.4.1.2. Transmisión horizontal. La transmisión horizontal es más importante que la vertical.La exposición natural al VLB en el ganado es predominantemente por este tipo de transmisión (16,17).

Los linfocitos son las células hospederas del VLB, ello indica que se requiere una transferencia de linfocitos infectados para la transmisión de animal a animal. (37). La evidencia sugiere que la transmisión de la infección por VLB ocurre preferencialmente en forma horizontal y pos-natal. Varios estudios llevan a la hipótesis de que una variedad de tejidos bovinos (células epiteliales), secreciones corporales y excreciones son fuentes de linfocitos infectados con VLB y consecuentemente servirían como medio adecuado de transmisión de virus (23,36).

1.4.1.2.1 Transmisión por contacto. El contacto físico es requerido para la transmisión de la infección con el VLB, lo cual podría ser facilitada por la alta densidad poblacional del ganado, y por compartir el sitio de maternidad y las pasturas, los animales sanos con el ganado infectado. Algunos estudios afirman que las vacas vacías están en mayor riesgo de infectarse que las vacas preñadas, dado que el comportamiento durante el estro en vacas vacías predispone a un mayor contacto con otras vacas (17). Los materiales biológicos provenientes de animales infectados podrían a su vez ser infectantes, secreciones y excreciones estarían limitados en su capacidad infectiva por la cantidad de linfocitos presentes en ellas.

Entre la lista de posibles materiales infectivos se cuentan: Sangre, saliva, secreción nasal, lavado broncoalveolar, semen, heces,lavado uterino, leche, calostro y orina.

Se sabe que tras la transmisión por contacto entre ganado adulto no siempre hay presentación de síntomas clínicos en los animales recientemente infectados. Se conoce también que las vacas seropositivas no eliminan el virus en forma permanente, a pesar de lo cual, en épocas libres de vectores puede aumentar el número de animales

afectados, lo que se ha considerado como evidencia de la transmisión por contacto (58).

1.4.1.2.2 Transmisión por secreciones y excreciones: Aparentemente las secreciones y excreciones no albergan el virus libre, salvo durante algunos períodos. Sin embargo, si tales materiales son de tipo exudativo, pueden contener linfocitos, los que pueden constituirse en vehículos para la transmisión por contacto.

Si un animal presenta linfocitosis (>10000 linfocitos/mm3), la cantidad de sangre requerida para infectar a otros animales a partir de ella, puede ser menor (17).

Recientemente se detectó VLB en secreciones nasales y en la saliva de animales seropositivos, pero tras la inoculación de la suspensión celular, no se reprodujo la enfermedad en ovejas, a pesar de utilizar grandes volúmenes de la secreción (17,36,44).

El virus se detecta en lavado broncoalveolar, secreciones traqueales, células de fluido uterino, pero no muestra infectividad. No se detectó en heces, escamas de piel, hígado, riñón, páncreas, glándulas salivares, testículos,

ovarios, orina y glándula mamaria de animales infectados (17). Se ha demostrado la infectividad de lavados uterinos, debido a que estos fluidos se contaminan accidentalmente con sangre, subsecuente a la injuria traumática.

En el semen se puede eliminar el virus, pero parece no ser un medio importante para la transmisión (37), ya que hay evidencia de la existencia de inhibidores del VLB. La posible asociación con la transmisión se debe a contaminación con sangre, por la manipulación de la uretra y glándulas accesorias (36).

1.4.1.2.3 Transmisión por sangre. El medio de transmisión que más frecuentemente se ha estudiado es la sangre. Un trabajo realizado, utilizó 10 ul (45240 linf) ó 1 ul de sangre de animales seropositivos. Se inocularon a grupos de vacas por diferentes vías (Id, Sc, Iv e Im). y se diagnosticaron usando ID. Después de un período de 1 a 4 semanas post-inoculación, las serologías analizadas resultaron positivas (17,36).

La inoculación de 2500 linfocitos (contenidos en 0.0005 ml de sangre) de un animal leucémico, induce infección, por esto debe evitarse transferir aún pequeñas cantidades

de sangre infectada a animales susceptibles (59,62).
No se detectó infectividad en los componentes no celulares de la sangre (Plasma y suero) (18).

1.4.1.2.3.1 Modos de transferir sangre infectada.
Se ha encontrado asociación entre la vacunación contra Babesiosis, usando una vacuna preparada con base en sangre infectada y la aparición en el ganado de signos clínicos relacionados con la Leucosis.

En 1986, el aumento en la incidencia de infección con VLB en una zona de México, fué atribuida al uso de un lote de vacunas (contra fiebre de garrapatas) contaminadas con el virus (Vacuna contra Anaplasma y Babesia). La contaminación se produjo por la utilización de una vaca lechera infectada esplenectomizada para producir la vacuna contra Anaplasma centrale.

La técnica usual de administración de la prueba de tuberculina no produce transmisión de VLB, pero ésta ocurre cuando las agujas son infectadas deliberadamente con sangre de un animal infectado.
El procedimiento usado para la vacunación contra Brucellosis no está asociado con la transmisión de VLB (17).

Se ha comprobado que la intervención humana en el manejo, modo de vida de los animales y prácticas veterinarias tales como inyecciones por cualquier ruta, vacunación, descorne, castraciones, marcaciones,remoción de pezones supernumerarios, palpaciones rectales, test de Tuberculosis, transfusión sanguínea, influyen en la transmisión del VLB (36,76).

1.4.1.2.3.2 Descorne. El descorne, comparando dos procedimientos diferentes: 1- Cauterización y desinfección, 2- Remoción de los vasos sanguíneos y empleando un grupo control no descornado, arrojó porcentajes de transmisión del 0%, 31.8% y 5% respectivamente. Se concluyó que el VLB sería transmitido durante el descorne y que la combinación de medidas de asépsia y hemostasia previene la infección (33,36).

1.4.1.2.3.3 Marcación: Las áreas corporales más frecuentemente empleados para realizar marcaciones son las orejas y la boca, que son altamente vascularizadas. La presión aplicada por el instrumento durante el procedimiento, fácilmente interrumpe la integridad de los vasos sanguíneos. Así, los linfocitos de un animal infectado podrían ser transmitidos a un animal seronegativo por la contaminación de los instrumentos

empleados (33).

1.4.1.2.3.4 Palpación Rectal. Durante la palpación rectal, las hemorragias frecuentemente son copiosas por trauma de los vasos sanguíneos de la mucosa. La omisión en el cambio de manga entre palpaciónes puede influir en la transmisión de VLB, especialmente si la manga es contaminada con sangre (41).

En un estudio realizado por Hopkins y col (29) se utilizaron animales serológica y antigénicamente negativos, para la instilación rectal de sangre infectada, usando dos sistemas; uno atraumático (inoculando sangre con un catéter) y otro con leve trauma (mediante palpación rectal con un guante mojado con 2 ml de sangre). La seroconversión ocurrió 4-5 semanas post-inoculación en algunos de los animales utilizados, lo cual es comparable cuando se inocula 1 ul de sangre infectada vía parenteral (Im, Iv, Sc e Id) (29).

El potencial de la transmisión rectal del VLB sólo se ha reconocido recientemente.

1.4.1.2.3.5 Transmisión por insectos. Se ha sospechado que insectos hematófagos pueden transmitir VLB.

En varios estudios, algunas especies de mosquitos (Anopheles spp,) Tabanus (T. nigrovittatus,T abactor), moscas (Stomoxys calcitrans, Haematobia irritans, Chrysops spp) y garrapatas hembras (Boophilus microplus), infectados con VLB han transmitido la enfermedad en ovejas (17,36,45,64). Pero la transferencia de sangre por insectos no parece ser un modo de transmisión usual bajo condiciones de campo. Los mosquitos, sin embargo no son considerados como vectores, ya que, ellos usualmente obtienen su alimento completo de la sangre de un animal. Estos ensayos demuestran que la transmisión mecánica puede ocurrir con cantidades pequeñas de sangre (59).

Se concluye que el número de mordidas requeridas para producir la transferencia de sangre desde un animal seropositivo a uno susceptible y causar la transmisión de VLB depende de:

- La cantidad de sangre retenida en la boca del insecto.
- Infectividad de la vaca donadora.
- La susceptibilidad del animal receptor.
- Los hábitos de comida y otras características del vector que favorezcan la transmisión (36).

1.5 DIAGNOSTICO

Existen varias formas de diagnosticar LBE, las cuáles se pueden dividir en indirectas y directas.

1.5.1 Métodos Indirectos.

Identifican eventos relacionados con la presencia de VLB, tales como:

1.5.1.1 Lesiones macro y microscópicas. El linfosarcoma bovino asociado a LBE, se presenta en animales mayores de dos años, usualmente como neoplasias multicéntricas que infiltran ganglios linfáticos, así como también otros órganos. La localización de tumores linfáticos es una constante y generalmente la mayoría de ellos están afectados, siendo los ilíacos, intratoráxicos y mesentéricos los mas frecuentemente involucrados. Otros órganos en donde se encuentran masas neoplásicas son Bazo, Timo, Médula ósea, Hígado, Corazón (73), Pulmón, Abomaso, Utero, Riñones, Vejiga Urinaria y Tonsilas Faríngeas. En algunas ocasiones se producen crecimientos neoplásicos en tejido retro orbital.

1.5.1.2 Métodos serológicos. Buscan detectar anticuerpos contra antígenos del VLB.

1.5.1.2.1 Inmunodifusión Doble en gel de agar. (ID). Por su bajo costo y fácil desarrollo, es la técnica más utilizada en el mundo, pero no es suficientemente sensible, especialmente para detectar anticuerpos en muestras de leche (7,68).

1.5.1.2.2 Inmunofluorescencia. A pesar de ser sensible y especifica no se recomienda para ser utilizada a gran escala, por ser laboriosa, costosa y subjetiva.

1.5.1.2.3 Fijación de Complemento. Los resultados obtenidos por esta prueba no parecen ser satisfactorios debido posiblemente a la actividad anticomplementaria de gran número de sueros, o a la incompatibilidad entre Inmunoglobulinas (Ig) bovinas y complemento de cobayo.

1.5.1.2.4 Radioinmunoensayo. (RIA). Es una técnica altamente sensible para detectar anticuerpos séricos. pero es muy sofisticada y requiere de equipos muy costosos (26).

1.5.1.2.5 Elisa. Las reacciones se detectan por sistemas ópticos. Emplea desde el Ag creado Gp51 hasta sistemas mas sensibles con anticuerpos monoclonales contra esa glicoproteína. Puede ser muy sensible, específica, rápida

y segura para la medición de anticuerpos. Es la prueba factible para detectar infecciones iniciales y evaluar hatos libres de la enfermedad (39,40,54,68).

1.5.1.3. Estudios sobre Proteínas séricas. Se basan en observaciones realizadas buscando cambios en los patrones electroforéticos relacionados con fases terminales del proceso, con miras a ayudar a establecer, cuando ciertos cuadros clínicos corresponden a la enfermedad (31).

1.5.2 Métodos directos:

Detectan el agente viral o antígenos asociados a tumor y entre ellos se cuentan.

1.5.2.1 Formación de sincitios. Se basa en la característica peculiar del VLB de producir policariocitosis (unir células y conformar así células gigantes con varios núcleos) es decir de inducir la formación de sincitios en células indicadoras.

1.5.2.2 Métodos biológicos. Debido a que la oveja es un animal de alta susceptibilidad a la infección y capacidad transformante por el VLB, ya que, todas las ovejas inoculadas con VLB por cualquier vía desarrollan anticuerpos específicos y todas mueren por tumores, esta

especie puede ser empleada en pruebas biológicas.

1.5.2.3 Microscopía electrónica. La formación de partículas virales puede ser inducida en cultivos celulares de linfocitos infectados y visualizarse directamente al microscopio electrónico.

1.5.2.4 Anticuerpos monoclonales (Ac-m) contra antígenos virales. Estos anticuerpos de reciente producción, han permitido mejorar técnicas inmunoenzimáticas de diagnostico serológico.

1.5.2.5. Anticuerpos monoclonales contra antígenos asociados a Tumor.(ATT). Estos Ac-m, dan la posibilidad de establecer o no la transformación celular lo que permite diferenciar la fase tumoral de otras fases de la LBE. El ATT podría ser un marcador de células tumorales de la enfermedad (1,60).

1.5.2.6. Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR). Esta prueba es capaz de detectar DNA proviral en muestras muy pequeñas de DNA. La prueba se revela utilizando sondas genéticas de VLB en análisis de hibridación. Es la prueba más sensible desarrollada hasta el momento (3,4).

1.6 CONTROL DE LA LEUCOSIS BOVINA:

Las medidas podrán abarcar desde el fusil sanitario en áreas de baja prevalencia o dispuestas a asumir los altos costos, hasta programas de largo plazo en ganaderías más afectadas.

Aún cuando los programas de erradicación parecen ser los de mejores resultados en períodos cortos de tiempo, su costo resulta sin duda muy elevado. Así, varios investigadores han propuesto prevenir la distribución de VLB a través de medidas de manejo entre las cuales vale la pena destacar:

-Mantener grupos separados de animales seropositivos y seronegativos.
-Eliminar todos aquellos animales que presenten LP por representar un elevado riesgo para la distribución de la LBE.
-Debido a que los machos parecen ser más susceptibles a la infección, separar todos los terneros nacidos de madres positivas, en un solo grupo, dentro del cual estarían también los animales nacidos de hembras en fases neoplásicas.
-Las vacas seropositivas deberán ser colocadas en parideras individuales, a fin de disminuir el riesgo de

que la sangre derramada durante el parto pueda ocasionar nuevas infecciones.

-Los animales nacidos de vacas seropositivas serán separados de éstas muy pronto después del parto y alimentados con calostro y leche de vacas negativas.
-Mantener los terneros separados individualmente disminuye el riesgo de infección durante el período neonatal.
-Tomar todas las medidas requeridas para prevenir la transmisión iatrogénica del VLB en procesos quirúrgicos, de muestreo, alimentación, etc.
-Conservar las normas de higiene y desinfección regular de equipos y establos.
-Probar serológicamente todos los animales que podrían entrar en el rebaño, eligiendo siempre aquellos que han sido negativos, al menos, en dos pruebas realizadas en un intervalo de dos meses.
-Realizar control de moscas y de artrópodos.
-Establecer un plan de chequeo serológico periódico para todo el rebaño.
-Eliminar preferencialmente todos aquellos animales que resulten seropositivos (4).

Desde el punto de vista de control de la leucosis bovina

es importante recalcar que en la mayoría de los casos, la infección viral es clínicamente inaparente, dando como resultado un estado de portador persistente. Debido a que la infección es transmitida principalmente por contacto, la identificación correcta y la pronta remoción de los bovinos infectados, que estén presentando o no manifestaciones clínicas, son consideraciones esenciales para el establecimiento de un programa de control (60).

1.6.1 Para haciendas libres:

Practicar por lo menos un examen anual de todos los animales de la hacienda, para detectar a la mayor brevedad animales reactores.

-Usar agujas hipodérmicas individuales para cada animal en prácticas de vacunación o tratamientos masivos (agujas desechables o hervidas).

-No permitir la entrada de bovinos sin un examen previo. Este examen se puede practicar simultáneamente con el de brucellosis utilizando suero de la sangre de los bovinos que se van a introducir a la hacienda.

-Hacer control periódico de vectores(moscas y mosquitos picadores).

1.6.2 Para haciendas infectadas:

Los ganaderos deberán comenzar el programa de control examinando el 100% de los bovinos, para clasificar los animales en dos grupos: Reactores y no reactores.

El grupo de los no reactores deberá recibir un tratamiento similar al de los hatos libres, pero con la diferencia de que las terneras recibirán una alimentación con base en leche hervida, leche en polvo o reemplazadores de la leche.

El grupo de los reactores deberá someterse a un seguimiento intensivo, con el objeto de detectar aquellos animales con ganglios linfáticos superficiales aumentados de tamaño, sobre todo los ganglios linfáticos supramamarios, las vacas con diarreas rebeldes a los tratamientos convencionales, las vacas que presentan diarreas y timpanización alterna, y las vacas que manifiesten caquexias progresivas sin causa aparente.

Todas las vacas reactoras a la prueba de inmunodifusión deben ir al matadero, lo mismo las terneras reactoras a la prueba de ID (62).

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 COLECCION DE SUEROS BOVINOS.

Se colectaron 450 muestras de sangre de vacas Holstein, en cuatro (4) mataderos de la Sabana de Bogotá, distribuidas así: Funza (234 muestras), Facatativá (81 muestras), Tenjo (50 muestras) y Zipaquirá (75 muestras).

La sangre se extrajo de la vena Coxígea ventral, recolectándose en tubos al vacío sin anticoagulante; anotándose las características de cada animal, como la edad, condición corporal, presencia de neoplasias macroscópicas, estado de preñez, alteraciones en los sistemas Circulatorio, Reproductivo, Digestivo, Locomotor y Tegumentario entre otros.

Posteriormente se centrifugó para obtener el suero, y luego se congeló hasta la fecha en la cuál se realizó la prueba de Inmunodifusión Doble, para detectar anticuerpos

contra el VLB y se efectuó la prueba de Rosa de Bengala para detectar la presencia de anticuerpos contra la Brucella.

2.2 PRUEBA DE INMUNODIFUSION DOBLE ID.

La prueba de Inmunodifusión doble es un método diagnóstico, también llamado AGID (Inmunodifusión doble en gel de agar), que debido a su simplicidad se puede realizar sin necesidad de mayor infraestructura. Dicho test, continúa siendo un indicador confiable de infección con BLV, presentando un alto grado de especificidad debido en parte a la estabilidad del genoma viral (19).

Cuando un anticuerpo (excepción hecha de los bloqueadores y no precipitantes), es puesto en contacto con el antígeno correspondiente, se forman complejos antígeno-anticuerpo que se insolubilizan en su mayor parte, dando lugar a una reacción de precipitación.

Los geles más utilizados tienen como base pectina, alginatos, poliacrilamida e incluso pueden utilizarse tiras de acetato de celulosa gelatinizado. Los precipitados que se originan se visualizan como bandas, que permanecen estables mientras un mayor flujo de

moléculas de alguno de los reactivos empleados no provoque su redisolución.

2.2.1 Materiales:

Solución amortiguadora

NaOH	2 g
H_3BO_3	9 g
NaCl	70 g
H_2O	1000 ml
$NaNO_3$	1:1000 10 ml

Ph 8.6

Antígeno precipitante Gp 51 VLB [1]

Suero control positivo

Sueros problemas

Otros: Placa de Petri

Pipetas

Cámara húmeda.

2.2.2 Metodología.

2.2.2.1 Preparación del Agar. Preparar una solución al 0.7% de Agar noble (Agar noble 0.7 g, solución amortiguadora 100 ml, disolver al calor).

---

[1] Preparado en el laboratorio de inmunología. Programa de Biotecnología animal. CORPOICA - CEISA.

2.2.2.2 Preparación de las placas para Inmunodifusión.

- Colocar el Agar a fundir, en el mechero.
- Se deja disolver.
- Se sirve en cajas de petri. 15 ml por caja.
- Dejar enfriar en un ambiente libre de polvo, hasta que solidifique bien.

-Cortar los pocillos en el agar con sacabocados de siete (7) orificios (1 central y 6 periféricos), formando una roseta. Los círculos deben estar separados por 2.4 mm y su diámetro de 4 mm.

-Retirar el agar de los pocillos, succionándolo con un equipo de vacío conectado a una cánula que posea una pequeña abertura de 1-2 cm de diámetro, tener cuidado de no separar o romper el agar de la placa.

2.2.2.3 Adición de Reactivos.

- Colocar el antígeno en el pocillo central con pipeta Pasteur o similar.
- Aplicar el suero control positivo (+) de referencia en dos de los pocillos (Inferior y superior). Serán los sueros problemas en los orificios restantes. Llenar los pocillos hasta el nivel de la superior, sin dejar menisco (aproximadamente 0.02 ml).

-Dejar reposar las placas unos minutos para evitar que se volteen los reactivos.

-Incubar las placas a temperatura ambiente (20-25 C) en cámara húmeda cerrada. Si la temperatura de laboratorio no está dentro de esos limites, colocarlos en una incubadora a 22 C.

2.2.3 Interpretación.

Leer a las 48 a 72 horas, cuándo la reacción se ha completado, usar una fuente de luz lineal de posición e intensidad regulables y un fondo oscuro. Puede ser útil el uso de una lupa.

La reacción se considera completa cuándo las líneas de los controles positivos, se dirigen hacia los pocillos que contienen muestras negativas o cuándo se detecta línea continua entre el suero positivo (+) de referencia y el suero problema.

Después de las 72 horas, los extremos de las líneas controles (+) tienden a doblarse hacia los pocillos con suero problema, pudiendo hacer confusa la lectura de una muestra negativa. Por eso se recomienda leer antes de las 72 horas de incubación (79).

2.3 PRUEBA ROSA DE BENGALA.

Llamada comercialmente Bengatest, significa Antigeno ácido tamponado coloreado- Rosa de Bengal.[2]

2.3.1 Composición.

Suspensión concentrada de Brucella abortus (weybridge tipo 99), inactivada por calor y fenol (0.5%). Dispersado en ácido tamponado y coloreado por rosa de Bengala.

2.3.2. Indicación.

Diagnóstico serólogico de Brucellosis causada por Brucella melitensis, abortus y suis. Para aglutinación rápida en placa.

2.3.3 Administración.

- Materiales:

. Cuenta-gotas calibrado a 0.03 ml para la distribución del antígeno.

. Pipeta automática con un set, piezas finales intercambiables calibradas a 0.03 ml.

. Reactivos: Suero control positivo y antígeno almacenado entre +2 C y +8 C., los cuáles se colocan en un lugar a temperatura ambiente entre 30 y 60 minutos antes de usar.

---

[2] Bengatest: Laboratorios Rhonel

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

El control incluye suero negativo y positivo.

2.3.4. Metodología:

- Se depositó sobre la placa de vidrio una gota de 0.03 ml de cada suero a examinar.
- Luego se agitó el frasco de antígeno suavemente y se colocó una gota de 0.03 ml junto a cada suero.
- Se mezcló el antígeno con el suero suavemente.
- Se agitó balanceando la placa y se leyeron los resultados cuatro (4) minutos después.

2.3.5. Resultados.

-No aglutinación: ausencia de anticuerpos.

-Aglutinación: (Uniforme suave) presencia de anticuerpos.

2.4 ANALISIS ESTADISTICOS.

Para la muestra utilizada, se tomó como modelo estadístico, la prueba de X_2 (P=0.005), para probar si existe o no relación entre la seropositividad a VLB, con la edad, condición corporal y alteraciones de los diferentes sistemas de la siguiente manera (47):

VARIABLES	X_2	VALOR DE P.
EDAD	37.092	0.000 *
PROCEDENCIA	1.799	0.615
BRUCELLA	2.517	0.113
GESTACION	0.001	0.972
NEOPLASIA	0.083	0.773
S. CIRCULATORIO	0.670	0.413
S. REPRODUCTIVO	3.351	0.067*
S. LOCOMOTOR	0.007	0.932
S. DIGESTIVO	3.306	0.069
S. TEGUMENTARIO	4.234	0.040*
OTROS	0.050	0.824
CONDIC. CORPORAL	2.403	0.120

* Tiene asociación significativa

3. RESULTADOS

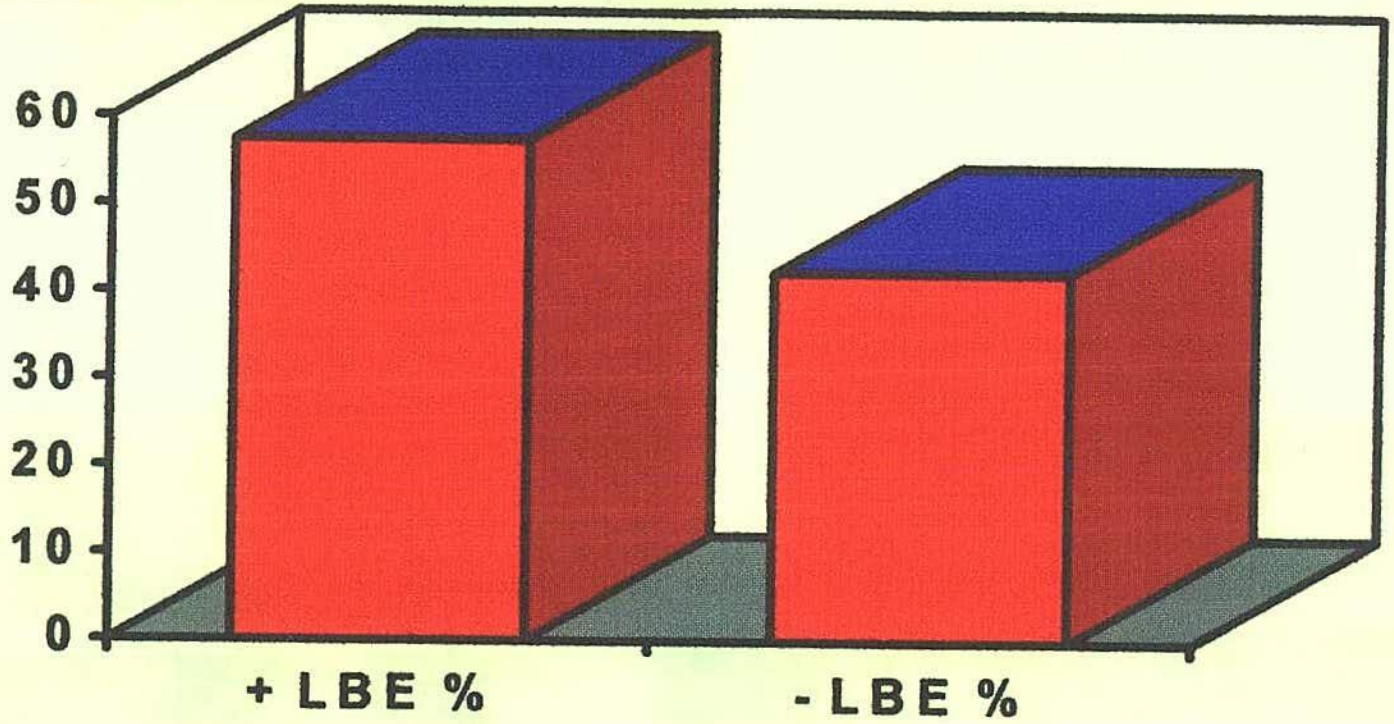
De los 450 sueros colectados de animales sacrificados en diferentes mataderos, ubicados en la Sabana de Bogotá, 10 de ellos por diferentes razones no se analizarón; quedando de esta manera, 440 muestras a procesar.

Al hacer la prueba de Inmunodifusión Doble, 253 muestras (57.50%), resultaron positivas a LBE (ver gráfica 3).

Las muestras se distribuyeron en cinco (5) grupos según la edad, a fin de reconocer la existencia de asociación entre la edad y la seropositividad al VLB, de la siguiente manera:

En el primer grupo constituido por diez y ocho animales menores de dos años (<2 años), uno (5.56%) resultó positivo por la prueba de ID.

En el segundo grupo, de cincuenta y dos animales entre 2 y 4 años, 18 (34.62%) fueron positivos a LBE.



*57,50% = 253 Animales

GRAFICA 3. Seropositividad a LBE por ID.

RESULTADOS SEGUN MUESTRAS

Del tercer grupo, conformado por 73 animales, 43 resultarón positivos (58.90%) a LBE.

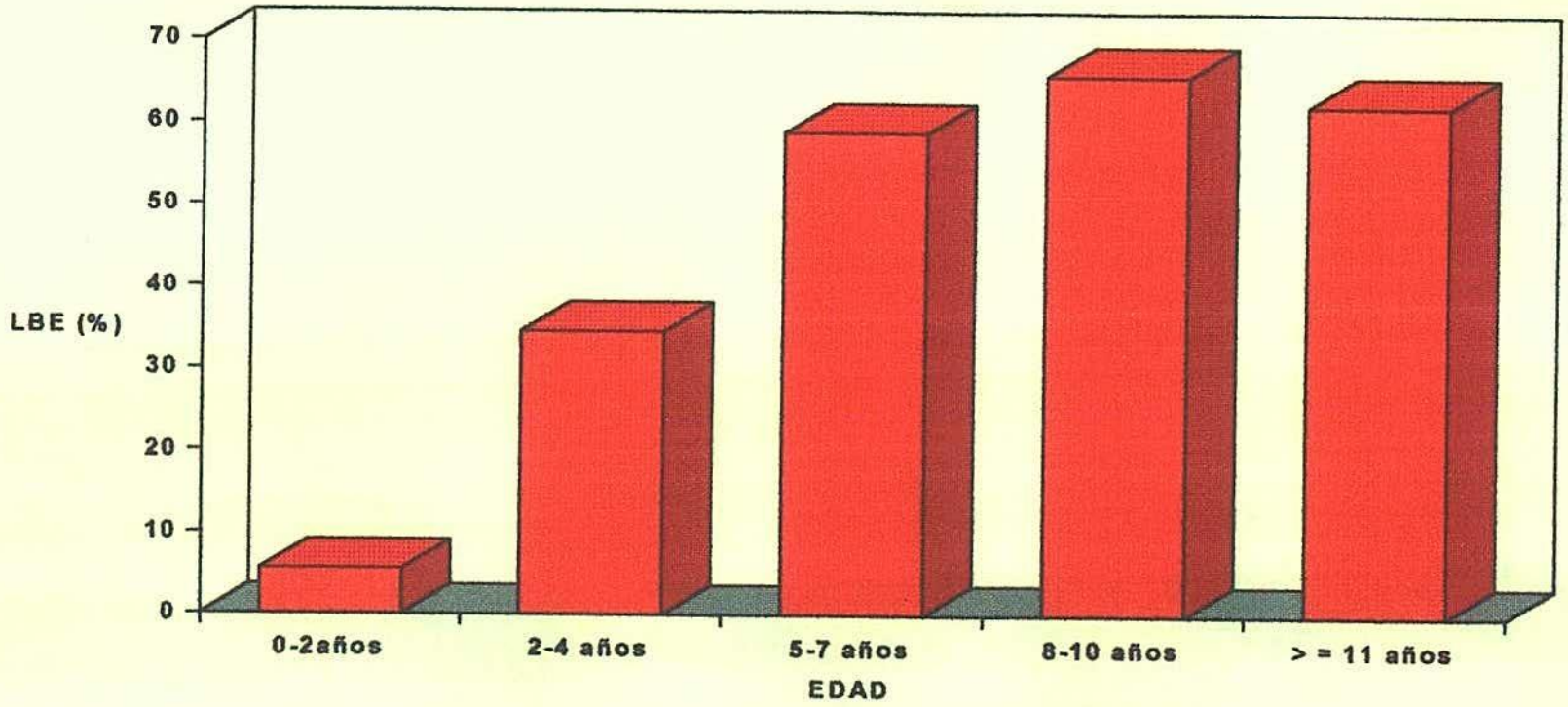
De los 167 animales, entre 8 y 10 años, que constituyerón el cuarto grupo, 110 fueron positivos (65.87%).

Finalmente, del quinto grupo, en el cual se agruparon 130 animales mayores de once años, 81 tuvieron resultados positivos en la prueba de ID (62.31%).

De otra parte, se presentó asociación estadisticamente significativa entre la edad y la seropositividad a LBE (ver tabla 1, gráfica 4).

TABLA 1. Seropositividad a la prueba de ID, para LBE por grupos de edad. n=440.

GRUPOS	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
1 (< 2 años)	17 94.44%	1 5.56%	18
2 (2-4 años)	34 65.38%	18 34.62%	52
3 (5-7 años)	30 41.10%	43 58.90%	73
4 (8-10 años)	57 34.13	110 65.87%	167
5 (> 11 años)	49 37.69%	81 62.31%	130
TOTAL	187 42.50%	253 57.50%	440



GRAFICA 4. Seropositividad a la prueba ID para LBE por grupos de edad.

RESULTADOS SEGUN MUESTRAS

Teniendo en cuenta los lugares de procedencia de las muestras, la seropositividad se distribuyó de la siguiente manera: Facatativá, 61.73%; Funza, 54.70%; Tenjo, 58.00% y Zipaquirá, 46%. No se observó asociación significativa entre positividad y procedencia (0.0615.) (Ver tabla 2).

TABLA 2. Distribución de las muestras según su procedencia y los resultados a la prueba de ID para LBE.

PROCEDENCIA	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
FACATATIVA	31 38.27%	50 61.73%	81
FUNZA	106 45.30%	128 54.70%	234
TENJO	21 42.00%	29 58.00%	50
ZIPAQUIRA	29 38.67%	46 61.29%	75
TOTAL	187	253	440

- Asociación entre Leucosis Bovina y Brucellosis. De los 217 animales que resultaron positivos a Brucella por la prueba de Rosa de Bengala, 133 (61.29%) presentarón seropositividad a LBE, mientras que de los 253 animales positivos a LBE, 52.57% resultaron copositivos a Brucella De otra parte 84 animales fueron positivos a Brucella (38,71%) sin presentar infección concomitante con VLB.

De acuerdo con la observación anterior, no se pudo establecer asociación estadística significativa entre las dos infecciones (X_2=0.113). (Ver tabla 3).

De igual manera las asociaciones de la infección con VLB y la presentación de hembras gestantes (X_2=0.972), evidencia macroscópica de neoplasias (X_2=0.773), alteraciones de los sistemas circulatorio (X_2=0.413), locomotor (X_2=0.932), digestivo (X_2=0.069) y otros como mastitis, disnea etc (X_2=0.824), no representan significancia. (Ver Tabla 3,4,5,6,7,8 y 9).

TABLA 3. Asociación entre Brucellosis y LBE.

LB BRUCELLA	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	103 46.19%	120 53.81%	223
POSITIVOS	84 38.71%	133 61.29%	217
TOTAL	182	253 57.50%	440

TABLA 4. Asociación entre gestación y LBE.

LB GESTANTES	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	179 45.52%	242 57.48%	421
POSITIVOS	8 42.11%	11 57.89%	19
TOTAL	187	253 57.50%	440

TABLA 5. Asociación entre neoplasias y LBE.

LB NEOPLASIAS	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	184 42.59%	248 57.41%	432
POSITIVOS	3 37.50%	5 62.50%	8
TOTAL	187	253 57.50%	440

TABLA 6. Asociación entre alteraciones del sistema circulatorio y LBE.

LB CIRCULATORIO	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	181 42.19%	248 57.81%	429
POSITIVOS	6 54.55%	5 45.45%	11
TOTAL	187	253	440

TABLA 7. Asociación entre alteraciones del sistema locomotor y LBE.

LB LOCOMOTOR	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	177 42.55%	239 57.45%	416
POSITIVOS	10 41.67%	14 58.33%	24
TOTAL	187	253	440

TABLA 8. Asociación entre alteraciones del sistema digestivo y LBE.

LB / DIGESTIVO	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	169 41.32%	240 58.68%	409
POSITIVOS	18 58.06%	13 41.94%	31
TOTAL	187	253	440

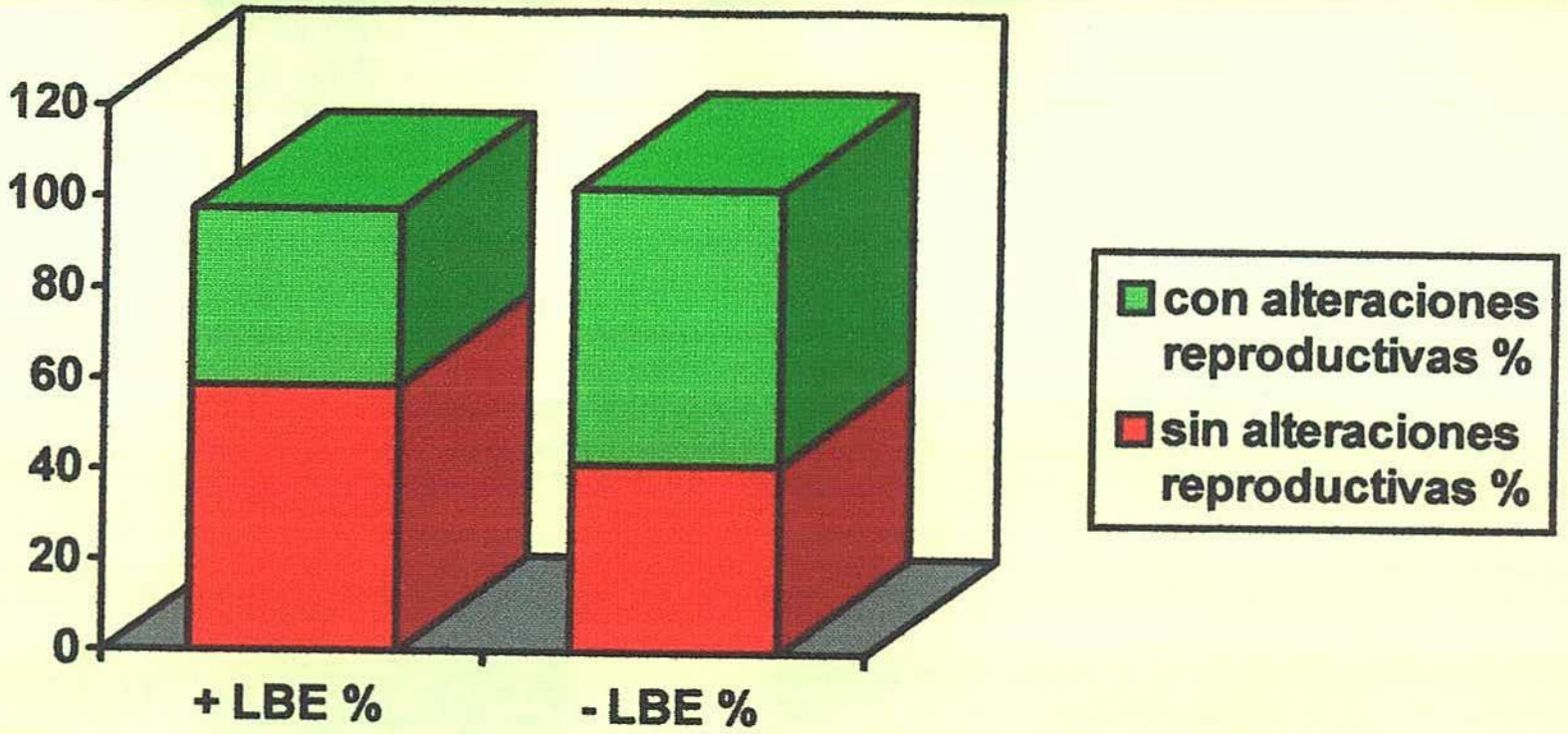
TABLA 9. Asociación entre alteraciones de otros sistemas y LBE.

LB / OTROS	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	174 42.65%	234 57.35%	408
POSITIVOS	13 40.63%	19 59.38%	32
TOTAL	187	253	440

En el estudio se encontró una posible asociación entre seropositividad al VLB y alteraciones del sistema reproductivo tales como metritis, quistes ováricos, endometritis, distosia y momificaciones (X_2= 0.067). (ver tabla 10, gráfica 5).

TABLA 10. Asociación entre alteraciones del sistema reproductivo y LBE.

LB REPRODUCTIVO	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	173 41.49%	244 58.51%	417
POSITIVOS	14 60.87%	9 39.13%	23
TOTAL	187	253	440



* 100% = 253 Animales positivos a LBE.

GRAFICA 5. Asociación entre alteraciones del sistema reproductivo y LBE

RESULTADOS SEGUN MUESTRAS

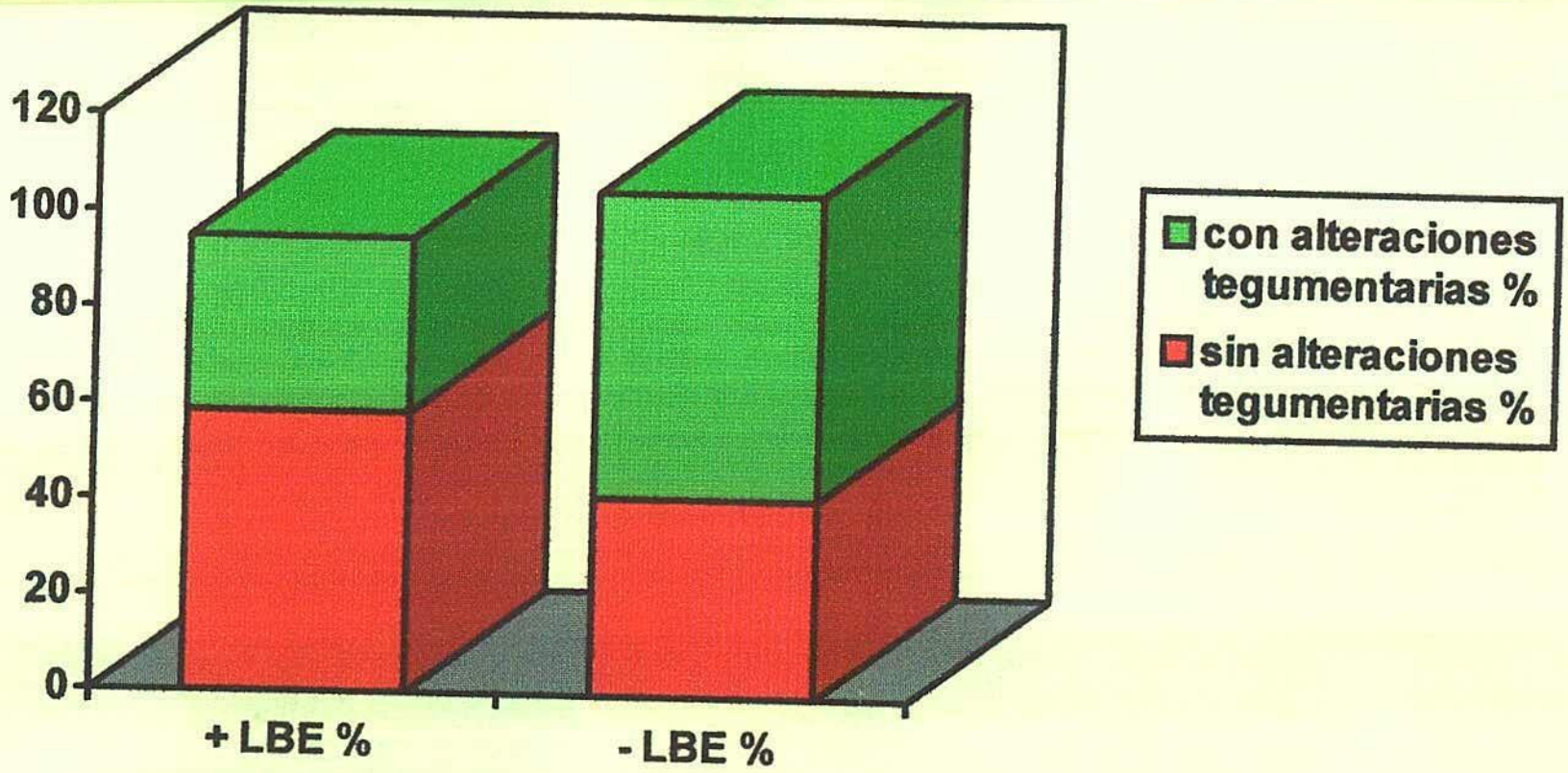
Tambien se presentó asociación entre positividad a LBE y alteraciones del sistema tegumentario (alopecia, hematomas, fotosensibilización, pelo erizado, mal aspecto) (X_2=0.004) (ver tabla 11, gráfica 6)

TABLA 11. Asociación entre alteraciones dermatológicas y LBE.

LB TEGUMENTARIO	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
NEGATIVOS	173 41.39%	245 58.61%	418
POSITIVOS	14 63.64%	8 36.36%	22
TOTAL	187	253	440

De los 440 animales estudiados 143 animales (32.5%), eran menores de 7 años, mientras que los 297 restantes presentaron edades superiores a los 7 años.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA



* 100% = 253 ANIMALES POSITIVOS A LBE.

GRAFICA 6. Asociación entre alteraciones dermatológicas y LBE.

RESULTADOS SEGUN MUESTRAS

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

4. DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS

De acuerdo con los resultados presentados, el 32.5% de los animales estudiados llegó a sacrificio antes de cumplir su vida media productiva, por diversas razones. De otra parte el restante 67.5% de los animales se encontró en un rango de edad al sacrificio de entre 7 y mas de 11 años de edad, aún cuando este trabajo se adelantó con una muestra tomada al azar y con un número de observaciones determinado por conveniencia, los resultados obtenidos permiten realizar algunas anotaciones sobre sus posibles razones.

De una parte, se presentó un número considerable de sacrificios en animales jóvenes, posiblemente provenientes de hatos con programas sanitarios y registros, en donde la decisión pudo ser determinada por su bajo rendimiento productivo.

De otro lado existe un número muy importante de animales con edades por encima de la vida media productiva (6 partos u 8 años), de los cuales no es posible determinar

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

si en realidad correspondían a vacas cuya vida productiva había apenas comenzado a decaer por alguna razón médica, a animales de descarte o a animales pertenecientes a ganaderías con pobres sistemas de control de la productividad (sin registros, sin asistencia técnica, etc). Bajo las condiciones del presente trabajo y dadas las características de la infección por el VLB y la amplia gama de desarrollo tecnológico encontrado en las ganaderías de la Sabana de Bogotá, no se pudo determinar el impacto de la LBE sobre las razones de sacrificio de los animales.

Sin embargo, vale la pena anotar que el porcentaje de seropositividad reportado para la infección se encuentra de acuerdo con los encontrados en trabajos recientes realizados en la misma área (56%, Niño, F.; y del 54% Alsina, Chaves).[3] [4]

Es importante hacer notar que las mas altas prevalencias reportadas a nivel mundial para la infección son de 48% en el estado de Florida, USA y del 49% en Venezuela.

Como se ha reportado, por varios autores, y constatado en

---

[3] NIÑO, F.; Leucosis bovina y sus posibles repercusiones sobre la producción y reproducción en vacas en fincas del Valle de Ubaté. Tesis de Medicina Veterinaria. Santafé de Bogotá. 1992 Universidad Nacional.

[4] ALSINA, CP.; Comportamiento Hematológico de animales seropositivos a LBE. Tesis Facultad de Bacteriología Santafé de Bogotá. 1994 Universidad Javeriana.

este trabajo, el número de reactores serológicos se incrementa proporcionalmente al ir aumentando la edad de los animales.

Dado que no se encuentran diferencias significativas en cuanto al porcentaje de seropositividad detectado en cada uno de los mataderos estudiados y a que los datos reportados por otros autores se asemejan a los observados en este estudio, cabe esperar que la prevalencia para la zona se encuentra en un cifra cercana al 60%.

El hecho de que un 57.5% de los animales analizados haya resultado serológicamente positivo a LBE y un 49.3% a Brucella, demuestra el bajo nivel de manejo sanitario que se tiene en la zona y la incapacidad tanto de los ganaderos como de los asistentes técnicos y de los organismos del estado para disminuir el impacto de las enfermedades infeciosas en la producción bovina. Aún cuando este hecho podría explicarse por el incremento en la eliminación de animales seropositivos a nivel de hato, los resultados, ya mencionados, obtenidos por Niño, F (1992) y Alsina, Cp (1994) en fincas de la región estudiada, indican porcentajes de seropositividad para Leucosis Bovina acordes con los obtenidos en el presente trabajo. En el caso de Brucellosis, es importante resaltar que no existen datos recientes y confiables

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

sobre la situación serológica ya que el 6% reportado por la Oficina de campañas sanitarias del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) es obtenido a partir de casuística llegada al Centro de Diagnóstico, lo cual impide su utilización como una cifra referencial para la zona. Vale anotar que 11 animales del grupo de menores de 2 años y 31 del grupo constituido por hembras entre 2 y 4 años, resultaron positivas a la prueba de Rosa de Bengala. Es posible que un número alto de estos animales haya presentado anticuerpos vacunales. De otra parte el elevado número de vacas positivas podría ser el reflejo del descarte de animales identificados a nivel de hato como seropositivos a Brucella o con problemas reproductivos relacionados con esa entidad.

En el caso de Leucosis Bovina resulta menos probable el descarte de animales seropositivos dado el desconocimiento acerca de la enfermedad y la menor cantidad de diagnóstico serológico solicitado.

Como se muestra en el aparte de resultados, se presentó una asociación significativa entre seropositividad al VLB y problemas de sistema tegumentario (X_2= 0.004). Sin embargo, y apesar de que otros autores han establecido una relación entre positividad al VLB y dermatomicosis,

en este caso, parece más el reflejo de las malas condiciones de transporte y de las instalaciones de los mataderos, las cuales ocasionan traumatismos tales como laceraciones, hematomas, inflamaciones, etc.

De 23 animales con problemas reproductivos, 9 (39,13%) resultaron positivos a Leucosis Bovina, lo cual produjo una asociación estadisticamente significativa entre esas dos variables. Sin embargo, los animales de leche que llegan a sacrificio son en la mayoría de los casos, vacas que han presentado problemas reproductivos o patologías que inciden sobre este aspecto, de otro lado tendríamos la varible de serología positiva a VLB que como se ha visto se presentó en el 57,5% de los casos. De esta manera la probabilidad de encontrar asociación resulta muy alta, por lo que los datos obtenidos deben ser evaluados cautelosamente.

La decisión de tener en cuenta alteraciones en los sistemas Digestivo, Locomotor y Circulatorio, presencia de Neoplasias, estado de preñez, condición corporal y otras sintomatologías como Disnea, mastitis, abscesos, aumento de tamaño de algunos órganos, etc; se realizó con el fín de evidenciar posibles signos y/o síntomas clínicos relacionados con LBE; pero los resultados

arrojados no representan una asociación significativa, ya que, el número de animales con presentación de síntomas y seropositividad a la entidad no es suficiente.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

♠ El porcentaje de seropositividad al VLB, en los animales estudiados fué del 57,7%, el cuál se encuentra de acuerdo con resultados obtenidos recientemente en estudios de prevalencia en hatos. Tales resultados constituyen un indicio mas sobre el alto grado de infección entre los animales de la Sabana de Bogotá.

♠ Se encontró un porcentaje de seropositividad a Brucella de 49%, lo que representa una confirmación de la grave situación que se presenta con respecto a esta zoonosis.

♠ Los altos porcentajes de seropositividad para las dos infecciones evaluadas representan un reflejo de la situación sanitaria de la zona, en donde el aparente desarrollo tecnológico de la ganadería, no se ha acompañado por una voluntad de combatir los procesos sanitarios que están impactando negativamente el

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

rendimiento productivo de los hatos y constituyéndose en un factor de riesgo para los consumidores.

- El 15.9% (70 animales) de las hembras sacrificadas, eran menores de cuatro años, mientras que el 16,59% (73 animales) se encontraba en la vida media productiva, los 297 animales restantes (67.5%) eran mayores de 8 años, muchos de los cuales sobrepasan los 11 años de edad (130 animales). El elevado número de animales viejos en sacrificio, provenientes de una zona con graves carencias en cuanto al manejo sanitario de los hatos, hace pensar más en deficiencias en la escogencia técnica de los animales para despaje que en largas y fructiferas vidas productivas. Sin embargo, ésta sería una investigación por emprender.

- Las asociaciones entre alteraciones del sistema tegumentario y reproductivo, con la seropositividad al VLB, aún cuando no pueden ser concluyentes, si persisten constituyen una aproximación al problema de la LBE, desde un punto de vista productivo.

- Se recomienda continuar haciendo esfuerzos que conduzcan a evaluar el nivel tecnológico de las ganaderías lecheras de la Sábana de Bogotá, en especial

en cuanto a los programas de control y erradicación de procesos patológicos.

- Dado que la seropositividad reportada para LBE en el área de estudio, tanto en el presente trabajo, como en otros realizados recientemente, constituye una de las mas altas del mundo, se recomienda iniciar programas estatales de control y erradicación.

- También se recomienda emprender campañas de capacitación para técnicos, propietarios y mayordomos con miras a mejorar el nivel de conocimiento sobre la LBE y otros procesos patológicos que afectan la ganadería y sobre todo para que se inicien planes sanitarios de control a nivel de Hato.

- Finalmente, sería recomendable continuar con el proceso de investigación en LBE a fin de caracterizar mas exactamente nuestra situación epidemiológica.

BIBLIOGRAFIA

1- AIDA, Y., OKADA, K., KAYEYAMA, R., AMANUMA, H. 1992, Cross-reactivity between a monoclonal antibody that recognizes a tumor-associated antigen bovine lymphosarcoma cells and blood lymphocytes from various mammalian species. American Journal Veterinary Reserch. Vol 53, No 11, Pág. 1988-1991.

2- AIDA, Y., ONUMA, M.. 1985, Topographical analysis of tumor associated antigens on Bovine leukemia virus-induced Bovine lymphosarcoma. Cancer. Vol 45, No 4, Pág. 1181-1186.

3- ALMANSA, J. 1992, Aportes al estudio de la Leucosis Bovina Enzoótica en Colombia, Magister scientiae. Bogotá, Universidad Nacional, Facultad de Ciencias.

4- ALMANSA, J. 1992,. Leucosis Bovina Enzoótica, Acovez,. Agosto, Pág. 23-30.

5- ALSINA, CP., CHAVES, CM, 1994, Comportamiento hematológico de animales seropositivos a LBE, Trabajo de grado para optar el título de Bacteriologa, Santafé de Bogotá, Universidad Javeriana, Facultad de Bacteriología, Pág. 37-87.

6- ANGEL, KL., STOTT, J., TYLER, JW., y GROTH, AH.. 1991, Metastatic thymic lymphosarcoma in a calf, JAVMA, Vol 198, No 10, U.S.A, May 15, Pág. 1771-1773.

7- BATMAZ, H., KAHRAMAN, M., KENERMAN, E.. 1995, Serological and hematological diagnosis of enzootic bovine leukosis in cattle in Turkey,. Veterinary Record, Vol 136, No 2, U.S.A, January 14, Pág. 42-44.

8- BATMAZ, H., MINBAY, A. 1993, Comparison of serum,milk and urine as samples in an enzyme immonoassay for Bovine leukemia virus infection, Research in Veterinary science, Vol 55, U.S.A, Pág. 394-395.

9-BENDIXEN, HJ. 1988, Leucosis Bovina Enzoótica. Transferencia de embriones. Peste Porcina Africana. Office International des epizzoties. 13 conferencia de la comisión Regional de la OIE para Europa, Madrid, Sep Pág: 345.

10-BLOOD, DC., HENDERSON, JA.. 1987, Medicina Veterinaria, Leucosis Bovina Enzoótica, Editorial Interamericana, Edición quinta, México, Pág.314-641.

11-BRENNES, J. VAN HAANS, M. , SAVIR, D. and TRAIN, Z. 1989, The implication of BLV onfection in the productive reproductive capacity and survivae rate of dairy cow, Vet Immunol Immunopathol, . Vol 22, Pág, 299-305.

12-CASTAÑO, M. ARANGO, A y MONCADA, H. 1990, La prueba de Elisa para diagnóstico serológico de Leucosis Bovina en un hato lechero, Memorias XVII congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Pág. 1990.

13-CEBU. 1989, Situación de la Leucosis Bovina en Colombia y recomendaciones del IC para su control, Pág: 55-66.

14-CORTES, N. GARCIA, J. 1982, La Leucosis (leucemia) Bovina y su relación con infertilidad. Otros hallazgos patológicos que cursan con infertilidad en bovinos, Trabajo de grado para optar el título de Médico Veterinario, Santafé de Bogotá, Universidad Nacional, Facultad de Medicina Veterinaria, Pag 190-199.

15-CORTES, N. GARCIA, J. LOZANO,F, 1983, Hallazgos patológicos que cursan con infertilidad en bovinos, Acovez, Vol 7, No 23, Pág. 5-13.

16-DETILLEUX, J. FREEMAN, E. MILLER P, 1991, Comparison of natural transmission of Bovine Leukemia virus in Holstein cows of two genetic lines selected for high and average milk producction, Am J. Vet. Res, Vol. 52, No 9, U.S.A, Pág 1551-1555. .

17-DIGIACOMO, RF, 1992, Horizontal transmission of the Bovine leukemia virus,. Veterinary Medicine, U.S.A, March, Pág 263-270.

18-EVERMAN, J., DIGIACOMO, RE., HOPKINS, S, 1987, Bovine leukosis virus: Understanting viral trasnmission and the methods of control, Veterinary Medicine. U.S.A, Oct, Pág. 1051-1058.

19-EVERMAN, JF, 1992, A look at how bovine leukemia virus infection is diagnosed, Veterinary medicine, U.S.A, March, Pág. 272-278.

20-FENNER F., BACHMANN, R., GIBBS, F, 1992, Virología veterinaria. Retrovirus, Editorial Acribia, Zaragosa España, Pág. 571- 577.

21-FERRER, J. 1980, Bovine lymphosarcoma, Advances in Veterinary Science and comparative medicine, Vol 24, U.S.A, Pág. 1-68.

22- ----------. 1982, La Leucosis Bovina y su agente causa, Salud Animal. Instituto Interamericano de Cooperación Agrícola. IICA, Pág. 393-416.

23-GERTRUDE, CB., KRAME, PM., SCHULTZ, RD, 1994, Evidence for Bovine Leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows, Laboratory Investigation. Vol 71, No 3, U.S.A, Pág. 359-365.

24-GRIFFITHS, Y. GALLEGO, M. y VILLAMIL, L. 1982, Factores de infertilidad y pérdidas económicas en ganado de leche en Colombia, Publicación ICA,. Bogotá, Pág. 168. .

25-GUPTA, P., CHATTERJEE, R, 1989, Prevalence of the plasma bovine leukemia virus blocking factor in cattle from commercial dairy herd, Vet Record, Vol. 125, U.S.A, Pág. 5-6.

26-GUPTA, P., y FERRER, JF.; 1987, A critical comparison of the virus neutralization, radioimmunoprecipitation and immunodifusion tests for the serological diagnosis of BLV infection, Am Res. Vet , Vol 9, No 4, U.S.A, Pág. 683-688.

27-HENRY, J. 1988, Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Salvat editores, Octava Edición, Bogotá, Pág. 135-156

28-HITZ, HF., LEGATES, JF., LOOSLI,JK., MAYNARD, LA., and WARWICK,EJ.; 1987, Ganadería, Mejoramiento del ganado lechero, Ed. McGraw-Hill, México, Pág. 341-373.

29-HOPKINS, SG., DIGIACOMO, RF.,EVERMAN, JF., y FERRER, JE, 1989, Trauma y transmisión rectal del virus de la leucemia Bovina, Acovez, Vol 13, No 2, Pág. 4-5.

30-HUTYRO, F.; MAREK, J.; MANNIGER, R. 1984, Patología y Terapeútica especial de los animales domésticos. Leucosis., Editorial Labez S.A., Tercera edición, Tomo II, Barcelona. España, Pág. 555-564.

31-JACOBS, M., VALLEJO., WILKIE,N. 1980, Serum elecrophoresis and immunoglobulin concentrations in cows with lymphoma, American Journal Veterinary Reserch, Vol 41, U.S.A, Pág 1942-1946.

32-JOHNSON, R.; KANEENE J, 1991, Bovine Leukemia virus Part I . Descriptive Epidemiology clinical manifestacions and Diagnostic test, Continuing Education , Vol 13, No 2, U.S.A, Feb, Pág. 15-326.

33-JOHNSON, R.; KANEENE, J. 1991, Bovine leukemia virus. Part II. Risk factors of Transmission, Continuing Education, Vol 13, No 4, U.S.A, April, Pág. 681- 691.

34- ---------- 1991, Bovine leukemia virus part III. Zoonotic potential, molecular epidemiology, and animal model, Continuing Education. Vol. 13, No 7, U.S.A, Pág. 1631-1637.

35-JOHNSON, R. KANEENE J. 1991, Bovine Leukemia virus Part IV. Economic impact and control mesures, Compendium Continuing Education,. Vol 13, No 11, U.S.A, Pág. 1727-1736.

36- ---------- 1992, Bovine luekemia virus and enzootic bovine leukosis, Veterinary Bulletin, Vol 62, U.S.A, April, Pág. 287-312.

37- KARHS, J. 1989, Enfermedades viricas del ganado Vacuno, Editorial Salvat,. Septima edición, España, Pág. 97-98.

38-KING, JM. 1992, Bovine splenic lymphosarcoma, Veterinary Medicine, Vol. 87, No 6, U.S.A, Pág. 533.

39-KLINTEVALL, K., BERG, A., BELAK, S, 1993, Serological between enzootic and sporadic bovine leukosis by use of serological and virological methods, Veterinary record, Vol 133, U.S.A, September 11, Pág. 272.

40-KNAPEN, K., KERKHOFS,P., THIRY, E., y MAMMERICKX, M. 1994, Epidemiological evaluation of a monoclonal ELISA detecting antibodies againsts bovine leukemia virus in serum pools, Epidemiol. Infect, Vol 113, U.S.A, Pág. 563-569.

41-LASSAUZET, G., MARK y WALTON, W. 1989, Lack of evidence of transmission of Bovine leukemia virus by rectal palpation of dairy cows, JAVMA, Vol 195, No 12, U.S.A, December 15, Pág. 1732-1733.

42-LEVY, JA., FRAENKEL, H. 1994, Virology. Editorial Mary Deluca. New Jersey Pág. 125-139.

43-LOPEZ, C. 1993, Las cojeras en las vacas de leche, Holstein. Vol 2, Colombia, Febrero, Pág 19-21.

44-LUCAS, MH., ROBERTS, DH y BANKS, J. 1993, Shedding of bovine leukosis virus in nasal secretions of infected animals, Veterinary Record, Vol 132, U.S.A, March 13, Pág. 276-278

45-MANET, G., PARODI, AL. 1989, Natural mode of horizontal transmission of Bovine leukemia virus (BLV): the potential role of tabanids (Tabanus spp), Veterinary Immunology and Immunopathology, Vol 22, U.S.A, Pág. 255-263.

46-MARIÑO, O. 1984, Situación de la investigación Leucosis Bovina en Colombia, Acovez, Vol 8, No 27, Pág. 22-26.

47-MATTEWS, DE., FAREWELL, VT. 1985, Estadística Médica. Editorial Salvat, España, Pág. 145-153.

48-MCKEE, T., MCCOY, CP. 1988, Bovine lymphosarcoma: A tipical case in an atypical patiet, Veterinary medicine, U.S.A, May. Pág. 519-521.

49-MEDINA. M. 1988, Leucosis Bovina, Vet Mex. Vol 19, México, Pág.151-159.

50-MEEK, LS., COOLEY, AJ., WHITLEY, D. 1987, Intraocular lymphosarcoma as the presenting sign of generalized lymphosarcoma in a Holstein cow, Compendium an continuing education, Vol 9, No 7, U.S.A, July, Pág. 239-242.

51-MILIAN- SUAZO, F, y SMITH R.D. 1988, Descriptive epidemiology of culling in dairy cows from 34 herds in New York state, Prev. Vet. Med. Vol 6, U.S.A, Pág. 243-321.

52-MIYASAKA, M., OKADA,K., ONUMA,M., y YKWA, Y. 1989, Further phenotypic characterization of target cells for bovine leukemia virus experimental infecion in sheep, AJVR, Vol. 50, No 11, U.S.A, November, Pág. 1946-1951.

53-MOHANTY, S., DUTTA, S., 1984, Virologia Veterinaria, Editorial Interamericana, Primera Edición, México, Pags. 10-11, 34-35.

54-MONROY, JL., TRIGO,JF., ALULJA, AS., y GARCIA, RM. 1993, Estudio comparativo entre las pruebas de Elisa e Inmunodifusión en el diágnostico de la Leucosis Bovina Enzoótica, Vet Méx, Vol. 24, No 1, México, Pág. 21-25

55-MORALES,E., MARTINEZ,NL., CASAS, E., y SILVA, P. 1994, Leucosis Cutánea en un bovino Holstein neonato. Informe de un caso en México,. Vet Mex, Vol 25, México, No 4, Pág. 353-355.

56-MORENO DE SANDINO M.. 1992, Aporte al entendimiento de la patogenésis de la Leucosis Bovina, Acovez, Vol 16, No 1, Abril, Pág. 24-29.

57-NEIRA,R.. 1986, Que hacer frente al serio problema de la Leucosis Bovina, Acovez, Vol 10, Pág. 23-26.

58-NIÑO, F. 1992, Leucosis Bovina y sus posibles repercusiones sobre la producción y reproducción en vacas en fincas del valle de Ubaté, Tesis de Medicina Veterinaria, Santafé de Bogotá, Universidad Nacional, Facultad de Medicina Veterinaria.

59-OLSON, C., KAJA, R. 1982, Leucosis Bovina, Acovez, .Vol 6, Pág .43-47.

60-ONUMA,M.. 1989, Tumor associated antigen on bovine leukemia virus-induced bovine lymphosarcoma, Veterinary Immunology and Immunopathology, Vol. 22, U.S.A, Pág. 213-221.

61-ONUMA, M., WADA.M., YASUTOMI, Y. 1990, Suppresion of immunological responses in rabbits experimentally infected with bovine leukemia virus, Veterinary Microbiology, Vol 25, U.S.A, Pág. 131-141.

62-PARRA, D., MANRIQUE, G. 1982, Linfosarcoma Bovino, situación en Colombia y recomendaciones para su control, Carta Ganadera. Pág. 17-20.

63-PARRA, A., RAVE, G., MARIÑO, O. 1982, Prevalencia serologica y hematológica de Leucosis Bovina en la Sabana de Bogotá durante 1980, Instituto Colombiano Agropecuario ICA , Vol 17, No 1, Pág. 45-50.

64-PERINO, LJ., WRIHGT, RE., HOPPE, FL., FULTON, RW. 1990, Bovine leukosis virus transmission with mouthparts from tabanus after interrupted feeding, AJVR, Vol. 51, No 8, U.S.A, August, Pág. 1167-1169.

65-POLLARI, SG., HOPPKINS, RF., DIGIACOMO. 1993, Periparturient transmission of bovine leukosis virus in dairy cattle, Veterinary record, Vol 132, U.S.A, Pág. 190-191.

66-POLLARI, SG., DIGIACOMO, RF., EVERMAN, JF . 1993, Use of survival analysis to compare cull rates between bovine leukemia virus seropositive and seronegative dairy cows, AJVR, Vol .54, No 9, U.S.A, September, Pág. 1400-1403.

67-PORTELLW, D., BRUCK, C., BURNY, A. 1988, Detection of complement lytic antibodies in sera from bovine leukemia virus-infected animals, Am Vet Res, Vol 9, U.S.A, Pág. 667-674.

68-RIKKE, HJ. 1989, An international comparison of different laboratory tests for the diagnosis of Bovine leukosis: Suggestions for international standarization. Veterinary Immunology and immunopathology, Vol. 22, U.S.A, Pág. 293-297.

69-RIOS,F. 1993, Columna Veterinaria. Leucosis Bovina , Holstein, Vol 2, Febrero, Pág. 35

70-RODRIGUES,G., GONZALES,G., MARIÑO,O. 1978, Manual de técnicas de Microbiología. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Pág: 382-395.

71-ROSSEMBERG, G. 1994, Exámen clínico de los Bovinos. Editorial Hemisferio Sur. S.A. Buenos Aires, Argentina., Pág. 93-179.

72-R.W. BLAWED. 1992, Atlas en color de patología del ganado vacuno, Editorial Interamericana, España.

73-SCHMITZ, DG., SEAHORN, TL. 1994, Use of echocardiography to detect tumors in the heart of a bull with bovine Leukosis, JAVMA, Vol 205, No 11, U.S.A, December 1, Pág. 1590-1592.

74-SCHULZ, J, 1987, Tratado de enfermedades del ganado vacuno. Editorial Acribia, Zaragosa España,

75-SMITH, JA., BRUNNER, CJ. 1989, Diagnostic a complex case of juvenile bovine lymphosarcoma, Veterinary medicine. Vol 84, No 11, U.S.A, Nov, Pág 1098-1105.

76-SPRECHER, DJ., PELZER, KD. 1991, Possible effect of altered. Management practices on seroprevalence of bovine leukemia virus in heifers of dairy herd with history of high prevalence of infection, JAVMA, Vol 199, No 5, U.S.A, Septmber 1, Pág. 584-588.

77-THORP, K., SCOTT, PR.. 1994, Extensive anterior subcutaneous oedema associated with lymphosarcoma in a 30 moth old heifer, Veterinary Record, Vol 135, U.S.A, Pág. 530-531.

78- THURMOND, L. 1987, Economics of Enzootic Bovine leukosis, In Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia virus Edited by a Burny and Mammerickx, Martinus Nijhoff Publising Boston, Pág. 71-84.

79- VIRG, L. 1993, Manual de técnicas de Diágnostico Virológico. Laboratorio de investigación Diágnostico Veterinario, Argentina.

80-WAINE, M., Meek, H., Willeerg, P. 1992, Veterinary Epidemiology. Principles and methods, Iowa Sate University Press/Ames, U.S.A, Pag: 25.

Corpoica
Centro de Documentación
CEISA

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA