



**FACULTAD  
CIENCIAS DE LA SALUD**

**MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LEUCOSIS BOVINA  
ENZOÓTICA DEL CANTÓN CHAMBO EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.**

**Trabajo de Titulación presentado en conformidad a los requisitos establecidos  
para optar por el título de  
Médico Veterinario Zootecnista**

**Profesor Guía  
Dr. Aníbal Mantilla Chancay**

**Autores  
Marcela de los Ángeles Pineda Vásquez  
Rodolfo Javier Romero Avalos**

**Año  
2014**

**Quito - Ecuador**

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

**“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con los estudiantes, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”**

---

**José Aníbal Mantilla Chancay, M.V.Z.**

**C.I.:130045190-1**

## DECLARACIÓN DE AUTORIA DEL ESTUDIANTE

**“Declaramos que este trabajo es original, de nuestra autoría, que se han citado las fuentes correspondientes, y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”**

---

**Marcela Pineda Vásquez**  
C.I.: 1003055249

---

**Rodolfo Romero Avalos**  
C.I.: 0603786294

## **AGRADECIMIENTOS**

**A nuestro tutor, Dr. Aníbal Mantilla, por su tiempo, paciencia y disposición al realizar este trabajo de investigación.**

**A los ganaderos y trabajadores por brindarnos todas las facilidades dentro de los predios para realizar este trabajo.**

## DEDICATORIA

A nuestros padres por ayudarnos a cruzar todos los obstáculos y no permitimos desfallecer en el intento de conseguir culminar esta etapa.

A nuestros amores verdaderos Santana y Gitana por ser nuestra inspiración para seguir adelante.

## RESUMEN

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad viral diseminada mundialmente y afecta al ganado bovino como su nombre lo indica; es causada por un Retrovirus complejo perteneciente a la subfamilia orthoretrovirinae. Esta enfermedad origina pérdidas económicas debido a: problemas reproductivos, disminución de la eficiencia productiva, decomisos, muertes y aumento en la tasa de remplazo del predio.

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de la LBE en los predios de mayor producción lechera del cantón Chambo.

El estudio se realizó con 356 sueros pertenecientes al 50% de los animales productores de leche de cada predio estudiado. Las fincas ensayadas son de medianos y grandes productores lácteos, que cuentan con un buen nivel de tecnificación (ordeño mecánico, inseminación artificial, entre otros). Las muestras obtenidas fueron analizadas en los laboratorios de microbiología de la Universidad de la Américas con la asesoría del Dr. Aníbal Mantilla mediante la utilización de inmunodifusión en gel agar (IDGA) marca IDEXX, estos resultados se distribuyeron por predio, edad y raza. Los resultados son 55 muestras positivas y 8 inespecíficas a las que se volvió a testar dando un resultado de 63 muestras positivas y 293 muestras negativas, lo que se traduce en una prevalencia animal o serológica del 18% y prevalencia real del 23% y prevalencia predial del 90%, mostrando un incremento de animales positivos (56%) entre los animales de 3 a 5 años de edad, además el 61% de los resultados positivos pertenecen a animales de raza Holstein en estado productivo. Estos resultados establecieron como principal factor predisponente el “desconocimiento de la enfermedad” por parte de los ganaderos, los mismos que permiten el ingreso de animales a las propiedades sin atravesar por un proceso eficiente de cuarentena, que este asesorada por un profesional veterinario.

**Palabras Clave:** Infección viral, LBE, IDGA, prevalencia.

## ABSTRACT

Enzootic Bovine Leukosis EBL is a viral disease spread worldwide that affects bovine cattle, is caused by a complex retrovirus belonging to the subfamily orthoretrovirinae. This illness causes economic losses for reproductive problems, decreased efficiency production, forfeitures, deaths and increased rate of replacement of the property.

The objective of this study is to determine the prevalence of EBL in the greater dairy farms of Chambo's parish.

The study was performed with 356 blood serums belonging to 50% of the dairy animals of each property. The studied farms are of medium and large dairy farmers, who have a good level of technology (mechanical milking, artificial insemination, etc.). The samples were analyzed at the microbiology laboratory of the "Universidad de las Américas" with the assistance of the Dr. Aníbal Mantilla using agar gel immunodiffusion (AGID) IDEXX brand, these results were distributed by: property , age and breed. The results are 55 positive samples and 8 unspecified. The unspecified samples were re- test giving a result of 63 positive samples and 293 negative samples, resulting a serological prevalence of 18% and a real prevalence of 23%; showing an increase of positive animals (56 %) among animals 3-5 years of age, also 61% of the positive results belong to Holsteins in productive state. These results established the main predisposing factor "ignorance of the disease" by farmers, they allow the entry of animals to properties without going through an efficient quarantine process should be advised by a professional veterinary.

**Keywords:** viral infection, LBE, IDGA, prevalence.

# ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	i
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. La Enfermedad.....	2
1.3. Objetivo General.....	4
1.4. Objetivos Específicos .....	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	5
2.1. Historia.....	5
2.2. Etiología y Taxonomía.....	6
2.2.1. Introducción A Los Virus .....	6
2.2.2. Virus De La Leucosis Bovina .....	7
2.2.3. Características Estructurales Del Virus .....	7
2.2.4. Organización Genómica .....	9
2.2.5. La Glicoproteína Gp51.....	10
2.3. Ciclo Viral De Los Retrovirus.....	11
2.4. Variabilidad Genética .....	13
2.5. Epidemiología.....	14
2.5.1. Situación A Nivel Internacional .....	14
2.5.1. Situación A Nivel Latinoamericano .....	16
2.5.2. Situación En El Ecuador .....	16
2.6. Patogénesis .....	17
2.7. Patología Y Patogenia.....	22
2.8. Signos Clínicos .....	26

2.9	Diagnóstico .....	27
2.9.1	PCR.....	27
2.9.2	ELISA .....	28
2.9.3	Inmunodifusión En Gel Agar (IDGA).....	29
2.10	Diagnósticos Diferenciales.....	30
2.11	Control Y Erradicación .....	31
<b>CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>		<b>35</b>
3.1	Descripción Del Lugar De Estudio.....	35
3.2	Diseño Del Estudio.....	38
3.3	Población Del Estudio .....	38
3.3.1.	Cálculo De La Población .....	40
3.4	Métodos .....	42
3.4.1	Encuesta.....	42
3.4.2	Muestreo.....	43
3.4.3	Procesamiento De Las Muestras.....	44
3.4.4	Análisis Estadístico De Resultados .....	47
3.4.5	Análisis De Factores De Riesgo .....	48
3.5	Materiales.....	48
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>50</b>
4.1	Resultados De Análisis Del Laboratorio.....	50
4.2	Cálculo De La Prevalencia Aparente Y Real De LBE.....	51
4.2.1	Prevalencia Aparente .....	51
4.2.2	Prevalencia Real.....	52
4.3	Seroprevalencia Predial De LBE .....	56

4.4	Seroprevalencia Por Rebaños o Predios.....	57
4.5	Seroprevalencia De LBE Por Razas.....	59
4.6	Seroprevalencia Por Edad .....	61
4.7	Seroprevalencia Por Estado Del Productivo Del Animal.....	63
4.8	Análisis De Resultados Obtenidos Y Relación Con Los Factores De Riesgo.....	66
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>		
	.....	68
5.1.	Conclusiones.....	68
5.2.	Recomendaciones.....	69
	Referencias.....	70
	Anexos.....	78

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Composición sistemática del VLB .....	7
Figura 2: Esquema de una partícula del VLB .....	8
Figura 3: Esquema de la organización genómica.....	10
Figura 4: Ciclo Vital Retroviral .....	13
Figura 5: Distribución de la LBE según la OIE .....	15
Figura 6: Mecanismo de Transmisión de la Leucosis Bovina.....	20
Figura 7: Nódulos neoplásicos múltiples a nivel de la serosa intestinal. Linfonodos mesentéricos aumentados de volumen. ....	24
Figura 8: Riñón con formaciones nodulares neoplásicas múltiples de superficie. .....	25
Figura 9: Interpretación de Resultados. ....	30
Figura 10: Ubicación de la Provincia de Chimborazo en el Ecuador, y ubicación del cantón Chambo en la provincia de Chimborazo. ....	36
Figura 11: Distribución geográfica de las haciendas en el estudio.....	39
Figura 12: Identificación De Las Muestras .....	43
Figura 13: Resultados del diagnóstico de LBE a través de IDGA en 356 muestras en el cantón Chambo.....	52
Figura 14: Georreferenciación de la seropositividad de las muestras. ....	53
Figura 15: Gráfico de la Seroprevalencia Predial En El Cantón Chambo .....	56
Figura 16: Distribución de los Resultados por cada predio .....	59
Figura 17: Distribución de los resultados según la raza. Raza A: Holstein, B: Jersey, C: Brown swiss, D: Normando, E: Pizan, F: Montbeliarde, G: Mestizas .....	60
Figura 18: Distribución de la edad en base a los resultados en un gráfico de columnas .....	63
Figura 19: Gráfico de los resultados en base al estado de los animales analizados .....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución De Los Predios Estudiados En Las Comunidades Del Cantón Chambo .....	36
Tabla 2: Información Básica De Las Haciendas Del Estudio .....	37
Tabla 3: Cálculo De La Muestra .....	41
Tabla 4: Resumen De Las Razas Estudiadas .....	41
Tabla 5: Distribución De La Muestra Por Edades.....	42
Tabla 6: Interpretación De Pruebas Diagnostica.....	54
Tabla 7: Comparación De Los Resultados De La Prevalencia Aparente Con La Prevalencia Real .....	54
Tabla 8: Resultados Por Rebaño .....	57
Tabla 9: Resultados de laboratorio en relación a las razas.....	59
Tabla 10: Distribución De Resultados En Base A La Edad .....	61
Tabla 11: Tabulación De Los Resultados En Base Al Estado Productivo De Los Animales.....	63

## ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1.....	40
Ecuación 2.....	47
Ecuación 3.....	51
Ecuación 4.....	52
Ecuación 5.....	54

# **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

## **1.1. Antecedentes**

En el Ecuador se aprecian distintas actividades económicas que ayudan al desarrollo pecuario del mismo. La ganadería bovina es un estimulante de la economía interna gracias a los 4'486.020 bovinos distribuidos en las cuatro regiones (INEC, 2000). De estos 808.856 cabezas de ganado forman parte del ganado lechero, generando una producción de 3.525.027 de litros de leche. (INEC, 2000). El organismo que se encarga de la sanidad y control de la ganadería bovina es el "Ministerio de Agricultura Ganadería, Acuacultura y Pesca" a través de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (Agrocalidad). El estado sanitario de las especies animales económicamente productivas (bovinos, porcinos, aves entre otros) se encuentra en desarrollo, es por eso que existen limitaciones para garantizar la salud de los animales que se encuentran produciendo hoy por hoy.

La dirección de sanidad animal en Agrocalidad establece como enfermedades de control oficial con programas permanentes a: Fiebre Aftosa, Influenza Aviar, Enfermedad de New Castle, Anemia Infecciosa Equina, Brucelosis bovina, Tuberculosis bovina, Peste Porcina Clásica y Rabia bovina (AGROCALIDAD, 2013). Para otras enfermedades no se ha establecido un diagnóstico, mucho menos un programa de control, un ejemplo de esto es la Leucosis Bovina Enzoótica (LBE), la cual ha sido reportada ante la OIE desde hace algunos años, no obstante, las autoridades no han establecido un plan nacional oficial que se ocupe de ella (OIE, 2013).

Los programas para controlar y erradicar la LBE emergen en países que necesitan eliminar limitaciones para exportar bovinos vivos y semen; por ejemplo en Nueva Zelanda los márgenes de exportación de derivados bovinos

son altos, de esta manera se explica la necesidad de un plan oficial de control exclusivo de LBE.

Las pérdidas económicas que causa la enfermedad se da porque: afecta el estado reproductivo obligando a testar animales en edades reproductivas; desórdenes relacionados con disminución de la eficiencia de producción de los animales afectados, principalmente por decomisos, muerte, costos veterinarios y aumento en la tasa de reemplazo, entre otras; causando descenso en la masa muscular y producción láctea, además de tomarlo susceptible al animal a otras afecciones (S.E.N.A.S.A, 2004).

En el Ecuador la LBE se ha investigado mediante tesis y estudios realizados por estudiantes del área veterinaria y pecuaria. Por esta razón, es necesario seguir integrando estudios del estado sanitario, para determinar cómo debe estar conformado un plan de diagnóstico, control y erradicación a nivel regional y nacional.

En la provincia de Chimborazo existen 246.787 cabezas de ganado y se producen 277.294 litros de leche los mismos que son distribuidos en todo el país. El ganado está concentrado en su gran mayoría en el área rural de la ciudad de Riobamba. Otro de los cantones "productivos" de la provincia es Chambo, el cual posee numerosas haciendas lecheras, las cuales destinan su producción a la elaboración de queso fresco.

Es importante un estudio que permita analizar la situación sanitaria del cantón ya que no se posee registros de la presencia de la enfermedad.

## **1.2. La Enfermedad**

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es el término que se utiliza para describir dos enfermedades relacionadas con el mismo agente la "linfocitosis persistente" y "linfosarcomas de los adultos". Esta es una enfermedad viral que afecta al ganado bovino, en el manejo, sanidad, producción y exportación.

Esta es causada por el Virus de la Leucosis Bovina (VLB), que es un retrovirus ARN perteneciente a la subfamilia Orthoretrovirinae; afecta el sistema inmunológico (linfocitos principalmente). Este padecimiento es de tipo crónico se llega a manifestar de diferentes formas; la forma clínica o linfosarcoma, la forma subclínica o linfocitosis persistente y la infección inaparente (Burny, 1999)

En 1990 la LBE no era considerada como una enfermedad responsable de pérdidas económicas según un documento publicado en la página de la OIE, puesto que sólo los casos tumorales se creía que representaban una pérdida económica directa. En este documento se describe el interés de la enfermedad únicamente a nivel de exportación, en el sentido de que si un país que es un gran importador de derivados de bovinos, sugiere que el mismo debe estar libre de LBE (Toma, Eloit, & Savey, 1990).

La enfermedad es importante por el gran impacto económico que genera debido a la muerte de animales, decomiso en mataderos, disminución de la producción, segregación prematura de los afectados, disminución de la eficiencia reproductiva y limitaciones al comercio internacional de reproductores y material genético (Nava, Obando, & Bracamonte, 2012).

Esta patología como otras enfermedades retrovirales, se caracteriza por tener un largo período de incubación y es fácil de confundir o de ignorar, es por eso, es necesario establecer claros diagnósticos diferenciales con enfermedades que causan tumores, infecciones micobacteriales, actinomicosis, necrobacilosis hepática, también cuando se observa problemas reproductivos diferenciarlos de brucella, diarrea viral bovina (BVD) y rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR). Además por su característica enzoótica, presenta una mayor incidencia en sistemas de producción de leche. En rebaños lecheros gravemente afectados, la tasa de mortalidad anual puede ser hasta del 5%. Todas las razas del ganado vacuno son sensibles a la infección por este virus (Merck & CO., INC., 2007, pág. 582).

### **1.3. Objetivo General**

“Determinar la prevalencia de Leucosis Bovina Enzoótica en el Cantón Chambo de la Provincia de Chimborazo”.

### **1.4. Objetivos Específicos**

- Determinar la prevalencia de Leucosis Bovina Enzoótica mediante la técnica de Inmunodifusión en Gel Agar (IDGA).
- Determinar la relación de la prevalencia real obtenida con la prevalencia de la región.
- Identificar los factores de riesgo que predisponen la presentación de esta enfermedad dentro de los predios estudiados mediante el análisis de los resultados.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Historia**

En 1871 Leisering realiza la primera descripción de un linfosarcoma bovino en Alemania. Se cree que los primeros casos se dieron en Lituania y después de la Segunda Guerra Mundial se dispersó la enfermedad a gran parte de Alemania y al este de Europa (Baruta, 2011, pág. 9).

Stewart en 1897 reporta el primer caso de LBE en Estados Unidos; esto se dio después de la importación de animales desde las costas del Mar Báltico a este país. De esta forma llegó el virus a América (Tineo Jara, 2013).

La enfermedad en Estados Unidos se dio a conocer en 1978 después de varios estudios, al principio se determinó que el 95% de los hatos se encontraban libres de LBE y después de 15 años un nuevo estudio confirmó que solo el 35% de los hatos se encontraban libres de la enfermedad (Asandri, 2008).

En 1900 Bollinger considero a la leucosis como una entidad clínica bien definida, en 1916 Knuth y Volkman detallan la enfermedad. En 1954 Götze emplea la linfocitosis persistente para el diagnóstico de leucosis bovina (Tineo Jara, 2013).

A pesar de ser identificada esta enfermedad en los años 90, solo 50 años después (en 1969) fue identificado el virus por Malmquist y Miller; el descubrimiento de este virus se realizó mediante la utilización de un microscopio electrónico. Se detectó con éxito el retrovirus en linfocitos de bovinos con linfocitosis persistente que fueron estimulados con fitohemaglutinina (Coetzer & Tustin, 2005).

## 2.2. Etiología y Taxonomía

### 2.2.1. Introducción A Los Virus

Los virus son entidades parásitas, compuestas por moléculas de ácidos nucleicos con cubiertas protectoras que se usan para replicarse en el mecanismo enzimático de la célula huésped. Los virus son agentes infecciosos que pueden afectar a: animales, insectos, plantas e incluso bacterias y hongos intracelularmente, cada especie de virus tiene un rango de huéspedes limitado (Voet & Voet, 2006, pág. 1423).

La partícula viral completa e infectante se denomina **Virión** que es una molécula de ácido nucleico encerrada por una cápside, cubiertas por **espículas** glucoprotéicas (Forbes, 2009, pág. 718).

El **genoma** viral puede estar formado de una molécula de ácido nucleico, ya sea de ADN o ARN, que a su vez pueden ser monocatenaria o bicatenaria. La envoltura o **cápside** está formada por **capsómeros** que son una cubierta protéica que determinan la forma del virus siendo helicoidales o icosaedros. Algunos virus, los más grandes pueden tener una capa lipídica. Las **espículas** son una cubierta compuesta de glicoproteínas, que deriva de la membrana de la célula huésped y pueden actuar como enzimas o ayudar a la adherencia del virus al huésped (Murray, Ken, & Pfaller, 2009, pág. 19).

Los virus codifican proteínas y estas constituyen del 50 al 90% de los virus. Las proteínas pueden ser estructurales o no estructurales, siendo las estructurales como su nombre indica las que forman parte de la estructura de los virus, también las proteínas pueden ser de superficie o internas. (Murray, Ken, & Pfaller, 2009, pág. 6)

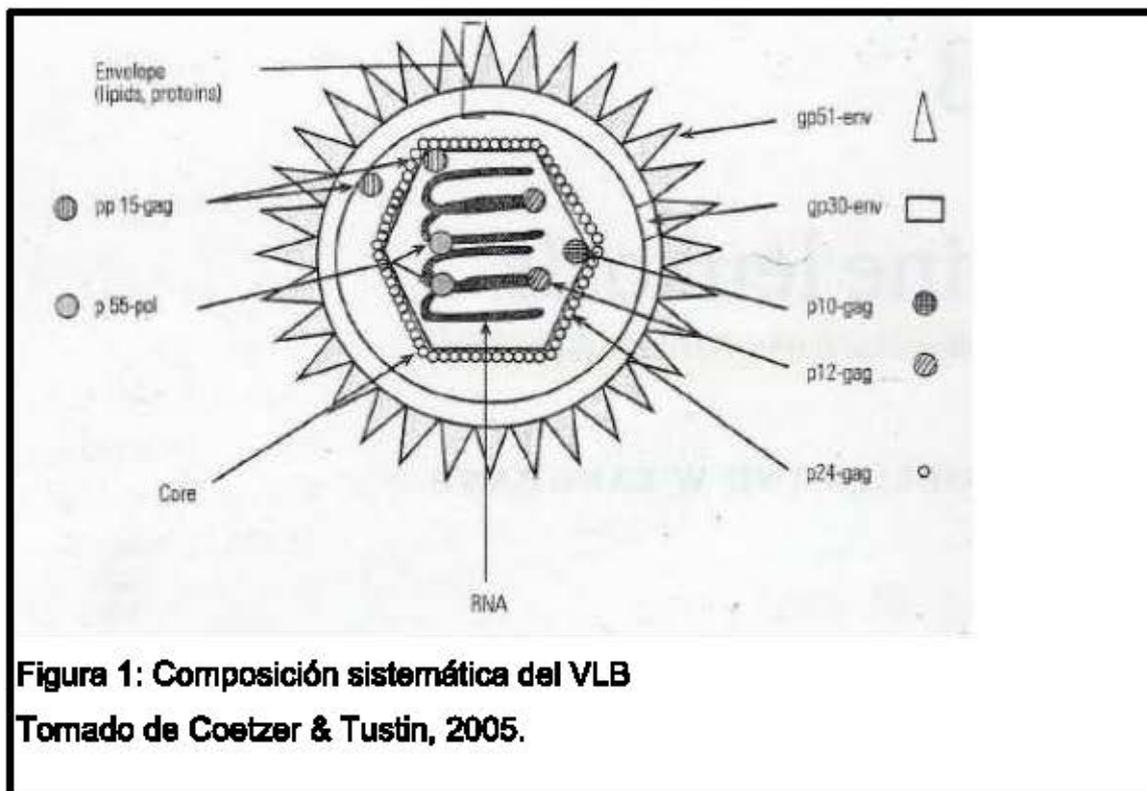
## 2.2.2 Virus De La Leucosis Bovina

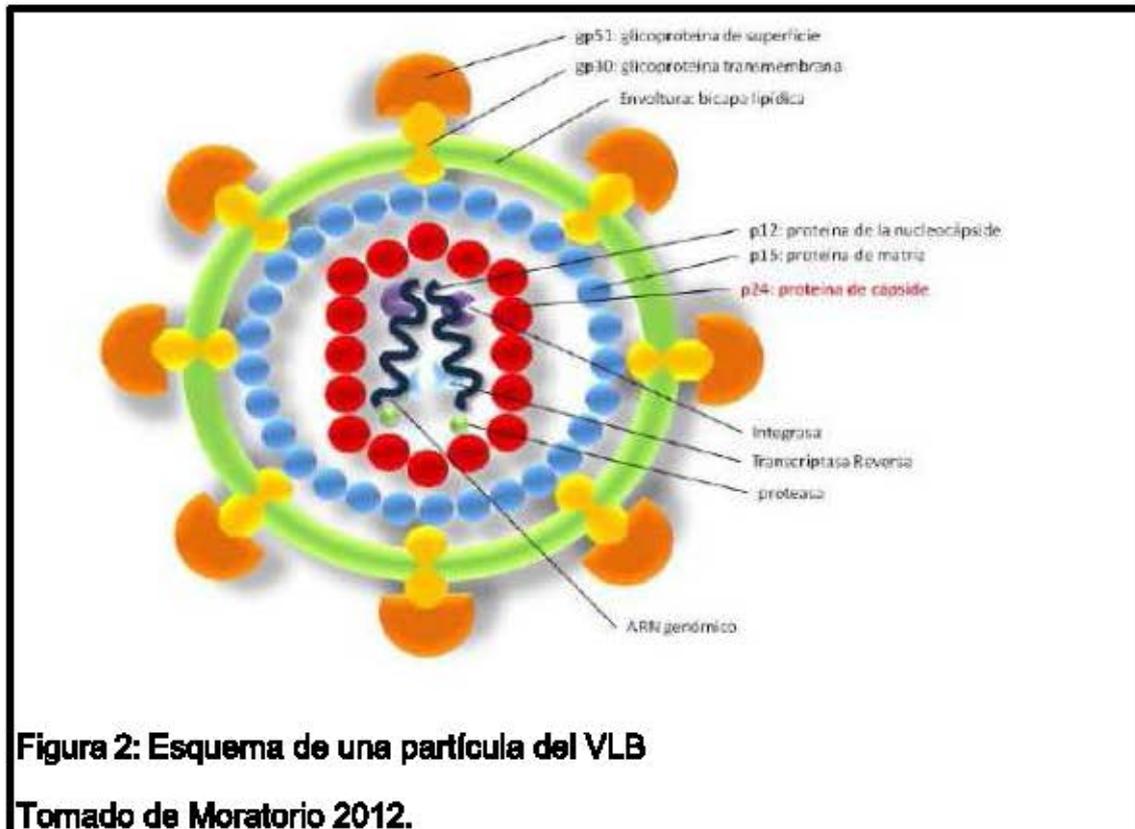
El virus de la leucosis bovina (VLB), es específico de los bovinos como hospedadores, pertenece a la familia Retroviridae y la subfamilia Orthoretrovirinae (Asandri, 2008).

Este retrovirus puede causar linfosarcoma y linfocitosis persistente en el ganado vacuno. Los retrovirus tienen la característica de producir una infección persistente lo que le permite tener una seguridad de estabilidad y de perennidad de la Infección de los rebaños (enzoótica) (Coffin, Hughes, & Varnus, 1997).

El virus se encuentra en los linfocitos (también monocitos y célula T) donde los anticuerpos circulantes no son capaces de neutralizarlo. Por lo tanto, una vez que un animal está infectado con BLV, la infección se prolonga de por vida (Burny, 1999).

## 2.2.3 Características Estructurales Del Virus





En la figura 2 se observa la estructura del virus compuesta por dos copias de ARN genómico con la proteína de la nucleocápside, asociada a la proteasa, transcriptasa reversa e Integrasa, cápside, envoltura lipídica con glicoproteínas transmembrana y glicoproteínas de superficie (Moratorio, 2012).

El VLB se caracteriza por tener presente la enzima transcriptasa inversa que es la responsable de la síntesis de una copia de ADN a partir del ARN viral. Posee viriones envueltos en lipoproteínas, son esféricos, con cápside isométrica o en forma de báculo, con ARN de tira única es decir es monocatenario (Universidad Autónoma de Nuevo León, 2009).

\*Su virión mide aproximadamente de 80 a 120nm de diámetro, posee espículas de aproximadamente 8nm que consiste en dos glicoproteínas, la gp30 (de anclaje) y gp51 (mayor de superficie) que están ubicadas en el exterior de la envoltura. La nucleocápside está formada por cuatro proteínas p24, p14, p12, p10 que son las que forman el grupo específico del antígeno. Además posee la

enzima que le da la propiedad de producir la transcriptasa reversa y una proteasa (Coetzer & Tustin, 2005)”

Características de las proteínas:

- La p24 es la proteína mayoritaria de la cápside (core viral) y está relacionada con el empaquetamiento genómico.
- La p12 y p10 junto a la transferasa, integrasa y proteasa forman el complejo ribo-proteico.
- La p15 forma la matriz de la nucleocápside en la célula hospedadora.

#### 2.2.4 Organización Genómica

El VLB tiene un genoma formado de dos copias idénticas de ácido ribonucleico, de hebra simple y de polaridad positiva, unidas no covalentemente por el extremo 5´formando un dímero. Consta de 8700 nucleótidos (Moratorio, 2012).

El genoma posee tres genes estructurales gag (group-associated antigen), pol (polymerase) y env (envelope), están ubicados en dirección 5´ a 3´. Se encuentra limitado por dos regiones no codificantes denominadas LTR (Long Terminal Repeat). Además posee una región llamada X o px con 4 genes que codifican para tax, rex, RIII y GIV (Moratorio, 2012).

Los componentes básicos del código genético de un retrovirus son:

**Gag** gen estructural, contiene información del virión. Esta codifica para una poliproteína que da origen a las cuatro proteínas no glicosadas p24, p15, p10 y p12.

**Pol** gen estructural, contiene las proteínas de la cápside y nucleoproteínas. Codifica con gag las enzimas virales polimerasa, integrasa y endonucleasa.

**Env** gen estructural, codifica las glicoproteínas gp51 y gp30.

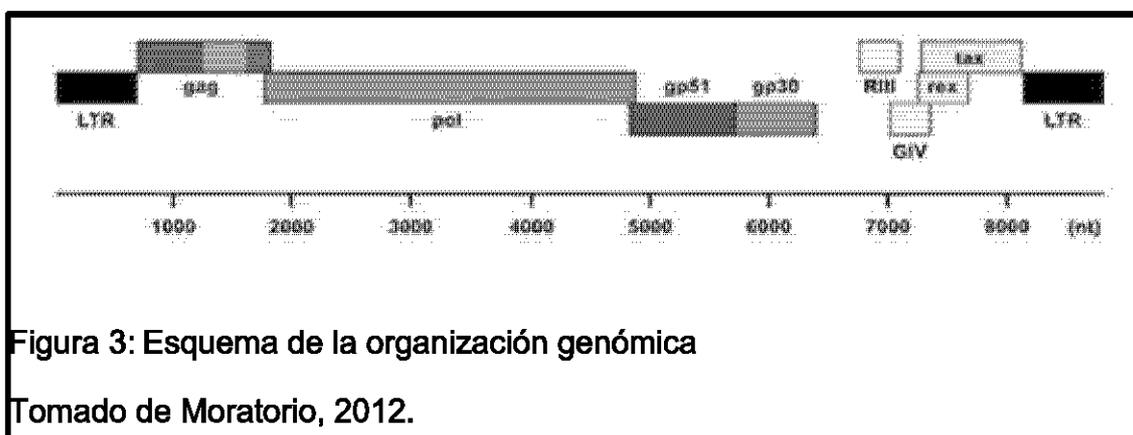
**Pro** independiente, codifica la proteasa del virión p14

**LTRs** actúan en procesos de regulación y expresión génica viral, estas están divididas en tres regiones R-U5-R, 5´a 3´estas participan en la regulación en el proceso de transcripción.

**X o px** se encuentra entre la LTR del extremo 3´ y el gen env codifica para tax, rex, RIII, GIV.

**Tax** codifica una fosfoproteína nuclear que activa en trans la transcripción viral en un promotor presente en la región U3.

**Rex:** post transcripcional, regula la expresión de diferentes ARN transcritos, aumenta la transcripción de genes estructurales.



En la figura 3 se puede observar que tiene todo el código genético (env, pol, gag, pro) además de dos proteínas regulatorias tax que es una activadora de la transcripción y rex que es encargado del empalme del ARN y regulador de transporte (Coffin, Hughes, & Varmus, 1997).

### 2.2.5 La Glicoproteína Gp51

La gp 51 posee 8 epítomos, con un peso de 51 KDa, es biológicamente muy importante porque es responsable de la infectividad del virus. Al ser responsable de la infectividad, su estudio es importante para reconocer los pasos de la infección viral. El receptor dentro de esta unidad no se ha

encontrado lo que permite entender el porqué de lo difícil de su funcionamiento (Moratorio, 2012).

El origen de esta glicoproteína se da a través del gen *env* que mediante codificación de un precursor llamado gp51 da lugar a las proteínas de membrana gp30 y gp51 que están relacionadas por puentes di-sulfuro (Calderón, 2007)

### **2.3. Ciclo Viral De Los Retrovirus.**

La replicación viral en la mayoría de los virus se da transfiriendo el ADN en ARN que por medio del ARN mensajero y la transferencia se traduce en proteínas.

En los retrovirus este ciclo es diferente.

Primero: Las glicoproteínas o espículas se unen a las proteínas de las células huésped, el virus tiene un genoma formado de dos copias idénticas de ARN monocatenario o ssARN, aquí se encuentran tres enzimas la proteasa, transcriptasa e integrasa. Aquí la envoltura se fusiona con la membrana plasmática, permitiendo la entrada de la nucleocápside viral en el citoplasma de la célula (Coetzer & Tustin, 2005).

Segundo: Degradación de la membrana celular después de su unión y se convierte en parte de la célula huésped, es entonces cuando las enzimas y el ARN entran a la célula (Coffin, Hughes, & Varmus, 1997).

Tercero: La transcriptasa inversa viral y otras proteínas ingresan y la transcriptasa crea una copia de un ADN de doble hebra a partir del genoma viral ssARN, es decir el DN se replica. El virus toma la característica de ser un ssARN por ser monocatenario y por no usar el ADN como intermedio para su replicación (Coetzer & Tustin, 2005).

Cuarto: Al haberse creado el ADN bicatenario de forma distinta por la intervención de la polimerasa y transcriptasa se denomina dsDNA. Este dsADN es transportado al núcleo y se integra mediante la integrasa en uno de los sitios donde está el ADN cromosómico de la célula huésped. Al darse esta integración se forma el Provirus (Coetzer & Tustin, 2005).

Quinto: El ADN viral integrado o provirus es transcrito por el ARN polimerasa de la célula huésped, generando ARNm y moléculas de ARN genómico. Es decir estas células pueden estar en estado latente o crear proteínas para un nuevo retrovirus (Coetzer & Tustin, 2005).

Sexto: El sistema celular de la célula huésped traduce el ARNm viral en glicoproteínas y proteínas de la nucleocápside (Coetzer & Tustin, 2005).

Séptimo: La progenie viral se ensambla y libera por gemación (Voet & Voet, 2006).

La transcriptasa inversa no posee la característica de corrección de la replicación del ADN y un retrovirus muta muy a menudo, es por eso que los virus de este tipo crecen resistentes a los fármacos antivirales rápidamente (Coetzer & Tustin, 2005).

En conclusión el ciclo de los retrovirus traduce el ARN en ADN y nuevamente en ARN que finalmente se transforma en una proteína o poli péptido.

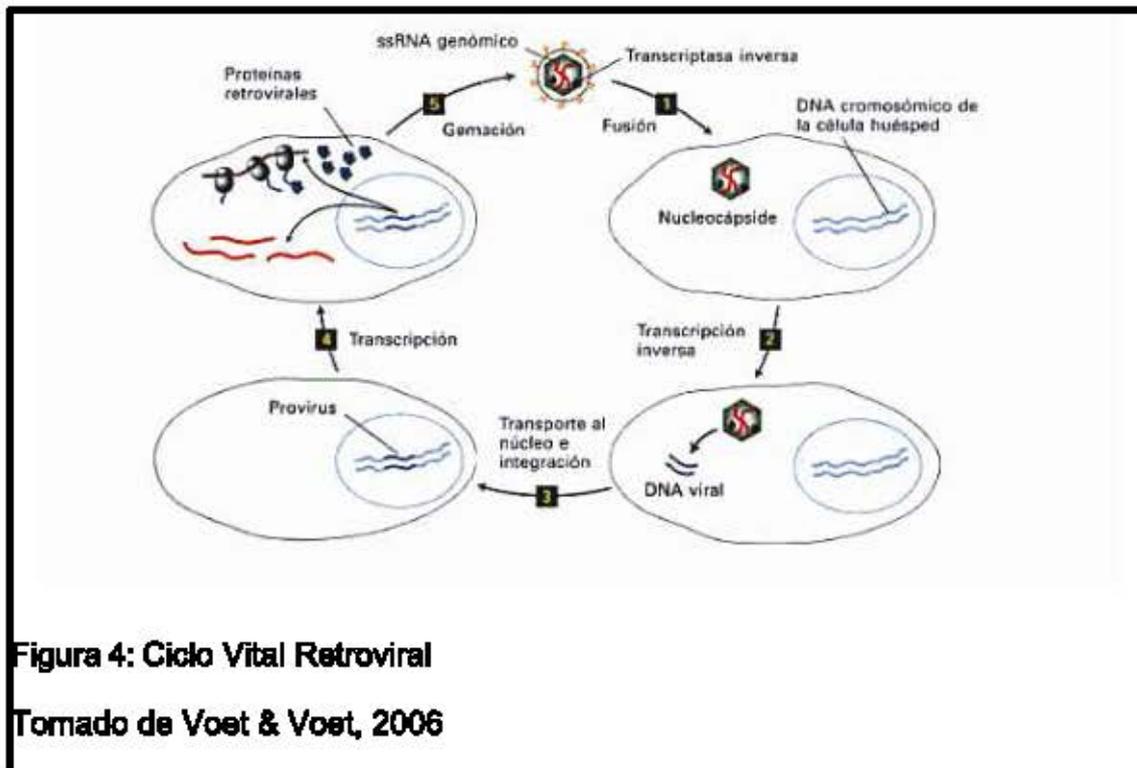


Figura 4: Ciclo Vital Retroviral

Tomado de Voet & Voet, 2006

## 2.4. Variabilidad Genética

Los virus mutan mediante la replicación y recombinación. El VLB presenta una baja variabilidad genética, debido a que se encuentra en descanso sin multiplicarse es decir en latencia en el gen hospedador y porque usa la mitosis celular para la replicación de su genoma (Moratorio, 2012).

Estudios realizados clasificaron el VLB en tres grupos genéticos Bélgica, Australia y Japón; estudios recientes afirman la existencia de otra de Chile en el cual se cree hay diversificación por la región. El último estudio realizado por Zhao y Buehring en el 2007 con una secuencia del gen env revelo cuatro grupos genéticos: Consenso, EEUU, Europa y Costa Rica. Estos estudios se realizan para dilucidar la posibilidad de transmisión viral en otras especies (Moratorio, 2012).

Este genoma (VLBE) en el 2010 se identificó en células mononucleares y líneas celulares, como los anticuerpos anti-VLBE en el suero, comprobando así por primera vez la presencia en el hombre (Nikbakht, Rabbani, Emam, & Rezatofi, 2010).

## **2.5. Epidemiología**

### **2.5.1 Situación A Nivel Internacional**

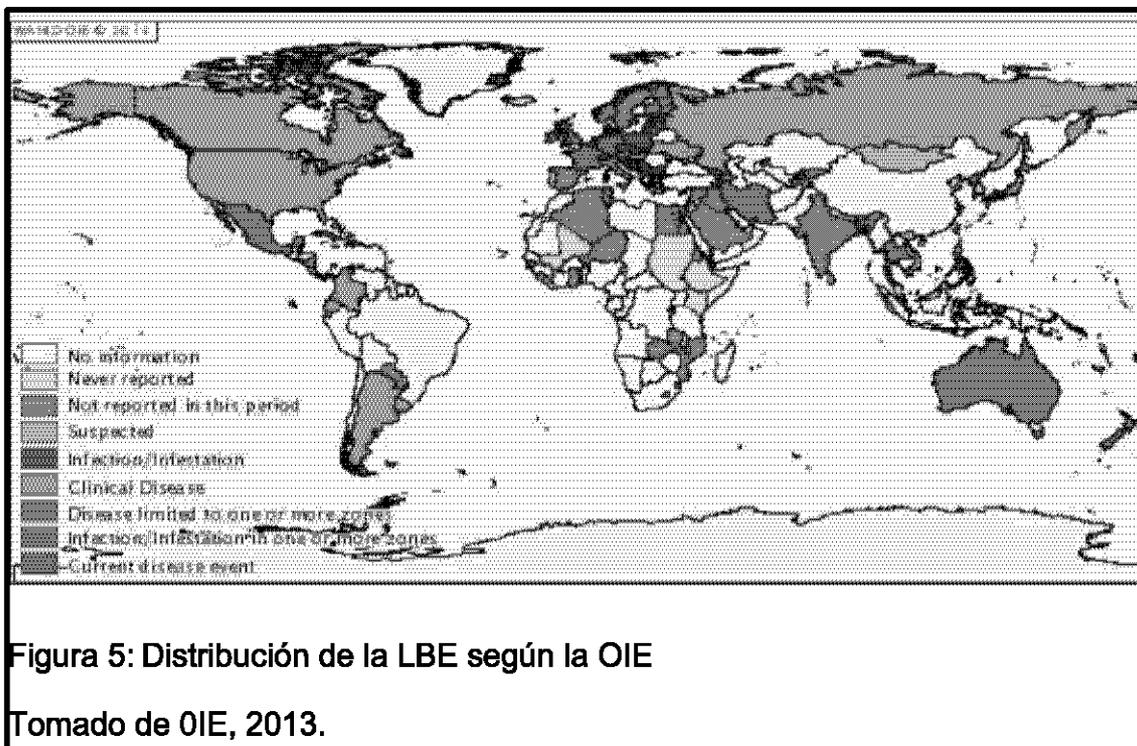
El VLB Bovina tiene distribución mundial. La prevalencia de la infección es alta en ciertas regiones como: El oriente de Europa, norte y sur de Sur América, África y Australia (Asandri, 2008).

En EEUU se calculan pérdidas de 42 millones de dólares anualmente por reducción en la producción láctea y sacrificios de animales infectados por el VLB, sin incluir en esta pérdida el costo económico de los animales que no se pueden exportar (Asandri, 2008).

Países como Dinamarca y Suecia en el siglo pasado fueron declarados libres de LBE gracias a la utilización de programas implementados por los profesionales de estas naciones. La base de estos programas consiste en determinar animales positivos a la gp51 cada tres o seis meses, he inmediatamente la eliminación de los mismos. Al contrario tanto en Canadá como Estados Unidos es inadmisibles eliminar a los animales positivos ya que la prevalencia excede el 70% en algunos predios (Coetzer & Tustin, 2005).

Según el mapa de la distribución de la enfermedad establecido por la OIE en América del Norte y Asia la enfermedad se encuentra de forma clínica, en algunos países de África no ha sido reportada y en los países bajos europeos alcanza el grado de infestación (OIE, 2013).

En la Unión Europea se eliminaron mediante sacrificio a todos los animales seropositivos, es por eso que 12 de los 15 países se encuentran actualmente libres de LBE (Moratorio, 2012).



Un estudio en la región central de Irán realizado en el 2008 en la provincia de Isfahan utilizando ELISA como medio de diagnóstico en el que se estudiaron 403 vacas lecheras en producción proyectaron resultados de una prevalencia de 81,9% en donde determinaron que la edad era un factor de riesgo (Morovati, Hassan, Shirvani, & Norman, 2008).

Otro estudio realizado en Irán desde julio del 2010 hasta enero del 2011 usando ELISA arrojó una prevalencia de 29,9% cuando se analizó 137 bovinos (Mohammadi, Atyabi, & Nikbakht, 2011).

## **2.5.1. Situación A Nivel Latinoamericano**

### **2.5.1.1. Colombia**

En 1959 se reporta el primer caso clínico y en 1967 se realizó el primer seminario sobre LBE. Entonces desde 1981 hasta 1984 Mariño comienza estudios epidemiológicos y la producción del antígeno para la identificación de animales infectados por medio de la inmunodifusión en gel (Avila, 2013).

### **2.5.1.2. Chile**

En un estudio de prevalencia realizado en el 2007 en las regiones de los Ríos y los Lagos con 4360 animales mayores a 6 meses y repartidos entre 75 hatos mediante la técnica diagnóstica de ELISA, arrojó un resultado del 34,7%. La prevalencia encontrada es menor que en otros países de la región con sistemas productivos similares como: Argentina (84% de los predios y 32,8% individuos) y Brasil (35,9% en 1991 y 49,8% en 1999) (Grau & Monti, 2010).

### **2.5.1.3. Uruguay**

Un estudio realizado en 1996 en el Noreste de Uruguay en el que se muestreo 30 predios y 400 animales utilizando como método de diagnóstico ELISA arrojó una prevalencia de 20,25% con una presencia de la enfermedad en el 77% de los predios, lo que revela que la enfermedad está ampliamente difundida (Gattii, 2012).

## **2.5.2. Situación En El Ecuador**

La Leucosis Bovina Enzoótica se diagnosticó clínicamente en el Ecuador en 1942, en ese entonces se probaron tratamientos quirúrgicos. (Mantilla, 2010)

Investigaciones realizadas prueban su distribución en el Ecuador, por ejemplo un estudio realizado por estudiantes de veterinaria en el cantón Mejía (provincia de Pichincha) arrojó un 30% de prevalencia de la enfermedad (Mantilla, 2010).

En el ganado de tres parroquias orientales del Cantón Paute (provincia del Azuay) un estudio arrojó como resultado una seroprevalencia de 6.1% en este estudio se demostró que el manejo actuaba como factor predisponente (Puma & Yanza, 2013).

En otro estudio se halló una prevalencia del 4,9% (baja en relación con los estándares), en la provincia de Manabí, cantón Calceta (Burgos Zambrano & Zambrano Cano, 2013).

Los estudios que determinan una prevalencia ayudan a que los ganaderos puedan actuar rápidamente y eliminar a los animales reactivos (Burgos Zambrano & Zambrano Cano, 2013).

El ministerio de agricultura y ganadería de Ecuador reportó a la OIE en el 2004, 48 hatos infectados con el virus de la LBE, el estudio se realizó con 907 muestras enviadas al laboratorio veterinario del instituto nacional de higiene de las cuales el 40.6% fueron reactivos positivos (OIE, 2004).

## 2.6 Patogénesis

**Huéspedes Susceptibles:** Los animales susceptibles a la infección por el VLB son: Ganado bovino *Bos indicus* y *Bos taurus*, ovejas y la capibara *Hydrochoerus hydrochaeris*. Experimentalmente, el mono, cerdos, conejos, gallinas y ratas se ha estudiado pueden ser seroconvertidores después de la inoculación (Coetzer & Tustin, 2005).

La transmisión natural hacia las ovejas puede darse cuando se mantiene a las dos especies en constante contacto, y se ha observado que las ovejas

infectadas desarrollan títulos altos de anticuerpos, pero la linfocitosis persistente no precede a la formación de tumores (Baruta, 2011).

Dos procesos de transformación son posibles en la inserción del genoma viral al ADN de la célula:

Primero: implica la modificación de la información genética de la célula huésped por VLB, que conduce a la transformación. Esta hipótesis celular es apoyada porque los tumores inducidos por el VLB contienen mutaciones en la zona del gen supresor de tumores es decir en la p53 celular (Coetzer & Tustin, 2005).

Segundo: aquí se sostiene que el proceso involucrado en la transformación celular se basa en el mecanismo de regulación celular y sin alteraciones del ADN. En este caso, las proteínas virales encienden los oncogenes endógenos en la célula huésped y esta modificación se conserva después de que las funciones virales se han apagado. Además, las células de algunos animales infectados con el VLB expresan un antígeno asociado a un tumor en su superficie, y estos animales tienen la tendencia de desarrollar subsecuentemente múltiples tumores (Coetzer & Tustin, 2005).

Tanto la progresión lenta y la resistencia genética se basan en diferentes alelos de los genes de antígeno de linfocitos bovinos que codifican el complejo mayor de histocompatibilidad. Las razas Holstein Freisan tiene una mayor prevalencia en comparación con la raza Brown Swiss (Coetzer & Tustin, 2005).

Varios informes describen una respuesta inmune generalmente suprimida en los animales infectados con el VLB, especialmente en los de la etapa de linfocitosis persistente. Los animales con linfocitosis persistente tienen una mayor incidencia de infecciones secundarias, son menos capaces de hacer frente a las infecciones secundarias, muestran disminución de la productividad y las tasas de reproducción, y tienen una vida más corta en comparación con los animales sanos (Coetzer & Tustin, 2005).

Las principales células relacionadas con el VLB son:

**Monocitos/ Macrófagos:** Al ser la primera línea de defensa juegan un importante rol presentando antígenos. Son conocidos como reservorios virales. In vitro se demostró que pueden ser infectados con el VLB. En vivo las células infectadas con el virus poseen un diferente fenotipo, reducen la capacidad fagocítica, y alteran la respuesta de las citosinas a la estimulación por lipolisacáridos bacteriales. Afectan a la interleucina 1, 6 y factor de necrosis tumoral. Es por eso que el incremento de producción de citosinas se relaciona con el progreso de la enfermedad (Coetzer & Tustin, 2005).

**Células T:** se ha reportado cambios en los subconjuntos de las células T infectadas con el VLB. Los cambios parecen depender del estado físico, edad etapa de la enfermedad. En etapas de linfocitosis persistente y tumoral estas células dejan de responder a todo tipo de patógeno (Coetzer & Tustin, 2005).

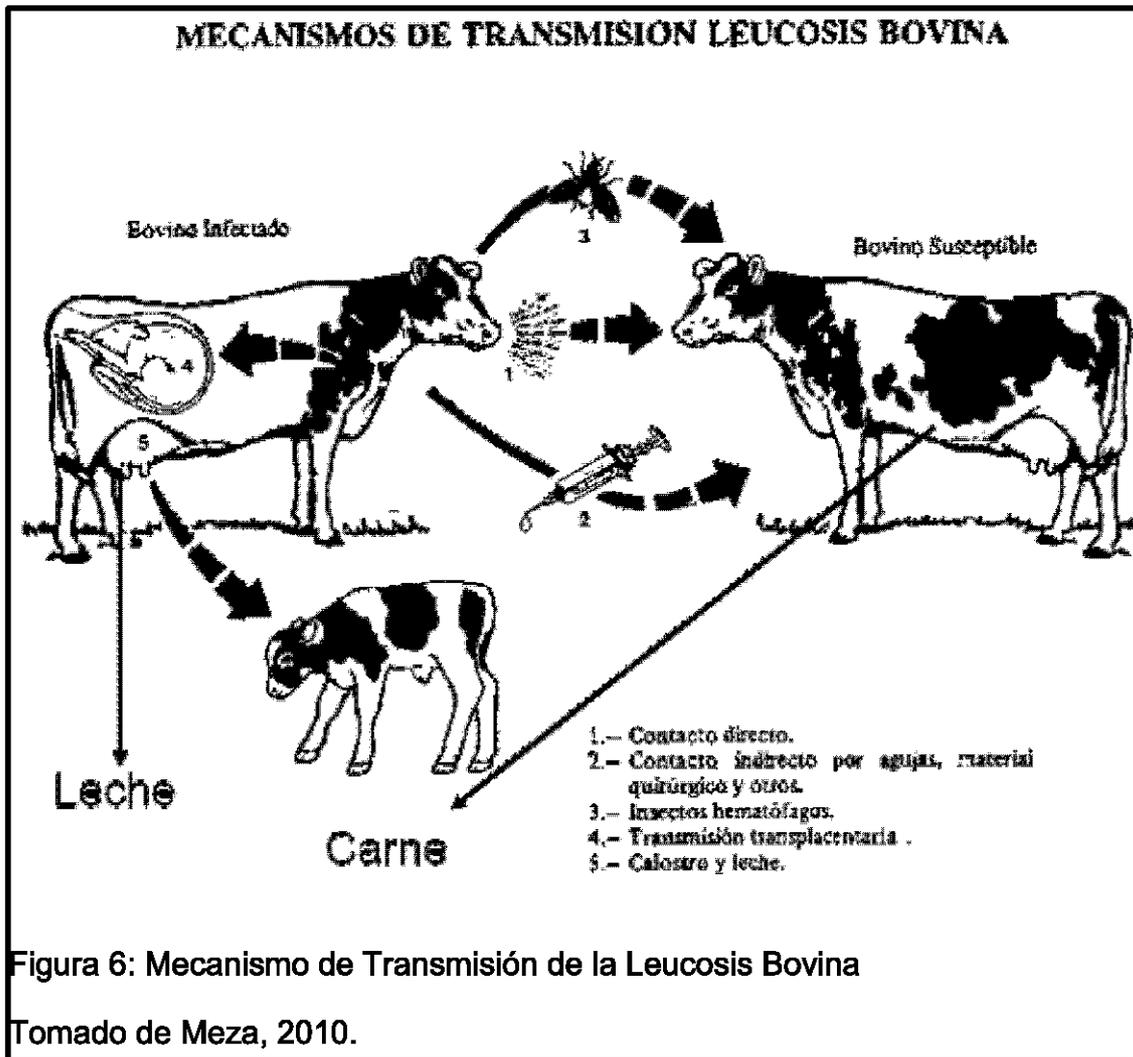
**Células B:** In vivo se demuestra que hay una replicación del VLB muy lenta que puede ocasionarse porque hay un bloqueo en la transcripción. Además difícilmente se expresan las proteínas virales en la superficie y la transcripción viral del ARN no es detectable (Coetzer & Tustin, 2005).

### **2.6.1 Modos De Transmisión**

Los retrovirus tienen la capacidad de presentarse en los organismos de la forma proviral, antes que de forma de viriones completos, circulantes en los líquidos del organismo, por esta razón la infección se realiza por la transferencia de sangre (OIE, 2013).

Al estar asociado a la célula se hace necesario el intercambio de células infectadas con sanas y menos de 1 micro litro de sangre de un animal con linfocitosis persistente es suficiente para iniciar una infección (Moratorio, 2012).

Existen una gran cantidad de formas de diseminación de la enfermedad, pero la más frecuente es la forma horizontal por vía iatrogénica, o por la exposición de los animales infectados.



#### 2.6.1.1. Transmisión Horizontal

**Iatrogénicos:** La transmisión se da cuando existe un traspaso de células blancas infectadas de un bovino infectado a un bovino sano. El contagio iatrogénico más común es por: desparasitaciones, tatuajes, descornes, cirugías, vacunaciones (Bruner, Scott, & Timoney, 1988).

**Contacto directo:** Por intercambio de materiales biológicos contaminados, este tipo de transmisión natural se da sobre todo en animales de 1 hasta 5 años de edad (MVZ UNAM, 2008).

Estudios demuestran la presencia del virus en el semen del toro (Paul & Gibbs, 1987).

**Vectores:** Por insectos fue demostrado que puede ocurrir por el tabanus fuscicostatus, pero no se pudo sustentar (Coetzer & Tustin, 2005).

Existen autores que sostienen que cualquier insecto que se alimente de sangre participa en la transmisión.

### **2.6.1.2. Transmisión Vertical**

#### **Leche y Calostro:**

La eficacia de la transmisión por este medio va a depender del título de anticuerpos maternos (Coetzer & Tustin, 2005).

El virus infecta vía lactógena, en la cual el virus infecta los linfocitos B de las Placas de Peyer, y a partir de ahí se disemina (Baruta, 2011).

En 1987 la transmisión de del virus por el calostro y la leche no se podía explicar satisfactoriamente, sin embargo en esta época ya se había establecido que la pasteurización inactivaba el virus en la leche (Paul & Gibbs, 1987).

Se ha observado una marcada incidencia en el periparto (Baruta, 2011).

El tracto gastrointestinal es susceptible a varias infecciones, la misma ocurre tan solo cuando la cantidad de virus superan a los anticuerpos adquiridos pasivamente. Por lo que se recomienda que los terneros reciban calostro sano, para evitar la infección. La transmisión intrauterina y la alimentación de calostro infectado son los que diseminan el VLB, pero es relativamente baja menor al 15% (Giraud, y otros, 2010).

#### **Transplacentaria:**

El agente puede transmitirse desde la madre infectada con linfocitosis persistente al feto antes de consumir calostro, el cual al nacer ya posee anticuerpos contra VLB, esto ocurre en el 15% de los casos (Dirksen, Grunder, & Stober, 2005)

Estudios han revelado que solo del 4 - 8% de los terneros nacidos de vacas positivas adquieren la infección (Baruta, 2011).

## **2.7 Patología Y Patogenia**

Cuando el virus ingresa el objetivo son los linfocitos B que expresan la IgM entonces se producen tres estados:

### **2.7.1. Infección Inaparente:**

Se da por una expansión policlonal de linfocitos portadores, aquí no presentan signos clínicos ni hematológicos, sin embargo ante la infección si se ve respuesta serológica positiva. En estos animales existe una ínfima posibilidad de haber contraído la infección antes del nacimiento (Baruta, 2011).

La infección según su evolución tras la inoculación se observa de la siguiente manera: de la segunda a la octava semana se produce la seroconversión. En el 1er mes los anticuerpos son detectables; a las dos semanas se detecta el virus, a las tres semanas es el pico de identificación para luego decrecer. La respuesta inmune humoral se da dentro de las ocho semanas post inoculación (Coetzer & Tustin, 2005).

### **2.7.2. Linfocitosis Persistente (LP)**

Al darse la seroconversión temprana la reacción persiste y el sistema inmunitario permanece estimulado. Este estado pre - leucémico solo afecta la

sangre. El virus afecta la médula ósea aquí los exámenes sanguíneos revelarán una anemia normocítica normocrómica en el 55% de los casos. Esto se da porque hay una reducción de la producción de eritrocitos después de que células neoplásicas invadan la médula ósea y reducen el tejido hematopoyético; consecuentemente la hemoglobina y el hematocrito decrecerán (Avila, 2013).

Se entiende que la linfocitosis no se da por un aumento en la producción de linfocitos B, sino porque disminuye la tasa de recambio porque el virus reduce la apoptosis de alguna manera, haciendo así que aumente la persistencia de los linfocitos.

Es raro que esta afección (LP) se dé antes de los dos años de edad y pueden estar infectados del 10 a 90% de los animales dentro de un hato. Esta condición puede desaparecer antes de la llegada de los tumores (Baruta, 2011).

### **2.7.3. Linfossarcoma**

Es la forma clínica de la enfermedad, la mayoría de veces se ve en animales de 5 a 8 años de edad y se desarrolla en el 0,5 al 1% de los animales infectados. Aquí no hay respuesta inmunitaria del hospedador (Paul & Gibbs, 1987).

El genoma de las células presenta modificaciones como:

- Hiperdiploidia
- Trisomías
- Reacomodamientos isocromáticos
- Pequeños cromosomas adicionales
- Translocaciones

Los tumores que se observan pueden ser linfosarcomas, linfadenomas, retículo sarcomas o tumores mixtos. Las neoplasias se ubican generalmente en tejidos linfoides u órganos irrigados por tejido linfoide. Los tumores pueden iniciar como un foco o varios focos hasta producir metástasis. En la muerte las lesiones del animal se diseminan y no se puede ver el origen (Toma, Eloit, & Savey, 1990).

- Las lesiones nodulares son discretas de diferente tamaño y de un blanco opaco a amarillo o masas uniformes rosadas con consistencia moderada, muchas de estas áreas contendrán áreas con hemorragia y necrosis (Merck & CO., INC., 2007).
- Las lesiones difusas son lesiones infiltradas bastante alargadas, pálidas, suaves y en órganos friables sin cambios marcados en su figura (Merck & CO., INC., 2007).

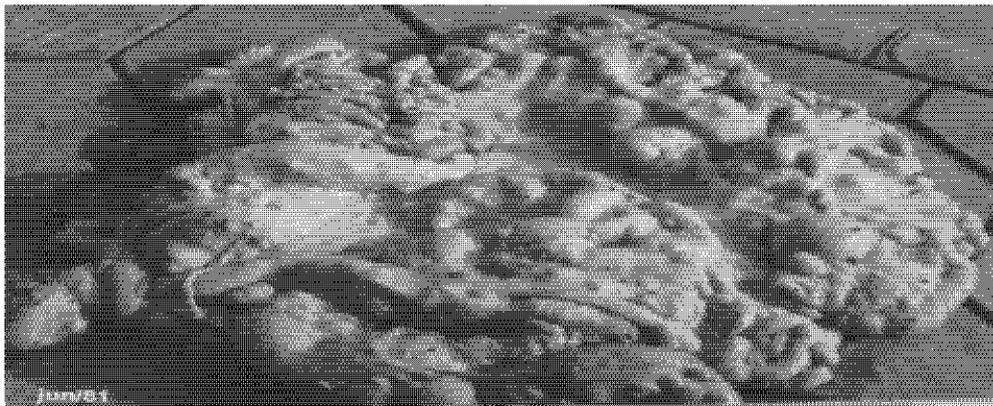


Figura 7: Nódulos neoplásicos múltiples a nivel de la serosa intestinal. Linfonodos mesentéricos aumentados de volumen.

Tomado de Mantilla, Características de los Virus, 2010.

En animales jóvenes se puede ver afecciones en riñones, timo, hígado, bazo, ganglios periféricos e internos

- Riñones e intestino presencia de nódulos. Aparecen en el 50% de los casos y pueden tener un carácter infiltrativo, produciendo hemorragias

en la superficie del órgano, el parénquima renal puede verse afectado a la vez por la presencia de nódulos (Chamizo, 2005).

- Bazo: ruptura hemorragia interna y muerte súbita (Chamizo, 2005).
- Hígado: esplenomegalia, puntillero blanco nódulos (Chamizo, 2005).

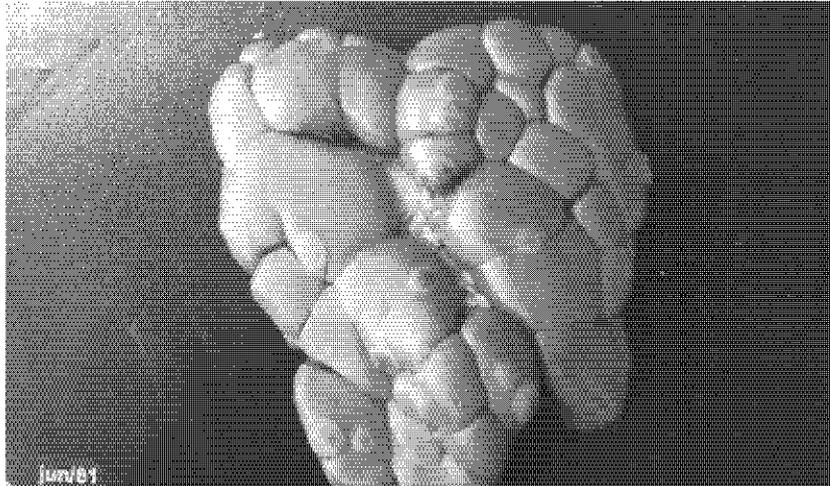


Figura 8: Riñón con formaciones nodulares neoplásicas múltiples de superficie. Tomado de Mantilla, Instituto Nacional de Higiene, 2010.

En animales adultos afecta el corazón, abomaso, intestino, medula espinal.

- En el corazón: lesiones en el miocardio, ocurren particularmente en el atrio derecho, resultan como evidencia de una patología clínica. También se puede extender al pericardio y ocasiona la congestión de los vasos centrales.
- En el pulmón las lesiones son de rara ocurrencia pueden presentarse en forma infiltrativa difusa y nodular (Chamizo, 2005).
- Abomaso: se produce una mucosa y submucosa difusa y engrosada, ulceración y hemorragia.
- El musculo esquelético puede estar afectado pero con poca frecuencia, el útero también se afecta con una frecuencia del 12 al 50%, el espesor de sus paredes aparecen engrosadas. (Chamizo, 2005)
- Medula ósea: tumores en el espacio epidural de la medula ósea, más frecuentes en la región lumbar y puede variar desde unos pocos

milímetros de diámetro a grandes masas que rodean completamente la médula espinal.

- Ojo: protrusión del globo ocular.

## **2.8 Signos Clínicos**

La prevalencia de VLB en un solo hato puede darse desde 1 hasta 100 por ciento, sólo un porcentaje desarrollara linfocitosis persistente, y solo el 5% de los animales infectados desarrollara tumores.

El virus tiene un periodo de incubación de 4 a 5 días. (Coffin, Hughes, & Varmus, 1997)

Los síntomas se aprecian mayoritariamente después de los 2 años de edad y el periodo de mayor frecuencia es entre los 5 y 8 años. La mayor proporción de los síntomas son inespecíficos y variables, puesto que van a responder a la ubicación de las formaciones neoplásicas y según el grado de afectación de los órganos. Se ha descrito anemia, emaciación e infertilidad ( Morovati, Hassan, Shirvani, & Norman, 2008).

En los casos en los que se ven tumoraciones se pueden clasificar los animales de diferentes formas:

- Hiperagudo: del 5 al 10% de los animales infectados presentan esta forma y pueden llegar a morir súbitamente. La muerte se puede ocasionar por afectación a las glándulas adrenales, rotura de la ulcera abomasal, rotura del bazo con posterior hemorragia interna (Coetzer & Tustin, 2005).
- Subagudo y Crónico: puede desarrollarse en plazos de 7 días hasta varios meses. Aquí se aprecian signos clínicos como pérdida de la condición corporal, anorexia, palidez, debilidad muscular, disminución en la producción láctea, frecuencia cardiaca normal a menos que ya este afectado el miocardio y temperatura normal (Coetzer & Tustin, 2005).

Se detallan los síntomas dentro de la patología y patogenia.

## **2.9 Diagnóstico**

Para el diagnóstico se usan en su gran mayoría pruebas serológicas, la inmunodifusión en gel agar (IDGA) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) son las pruebas serológicas más utilizadas para el diagnóstico y vigilancia de la LBE (Nava, Obando, & Bracamonte, 2012).

El VLB es un virus exógeno, y se puede detectar en sus células diana como son los linfocitos , así como en líquidos del cuerpo o fluidos biológicos. Se puede detectar de dos formas, por detección del agente o por la detección de anticuerpos

El agente se puede detectar por:

- Reacción de cadena Polimerasa (PCR)

Por detección de los Anticuerpos o Pruebas Serológicas

- Enzimoimmunoensayo (ELISA)
- Inmunodifusión en gel Agar (IDGA)

### **2.9.1 PCR**

Muchos autores han denominado a la reacción en cadena de la polimerasa o PCR para detectar al VLB. Es muy utilizado por la velocidad y sensibilidad, el PCR se basa en las secuencias cebadoras del gen env, el cual codifica la gp51 que se encuentra en todos los animales infectados de LBE (OIE, 2004).

La PCR es utilizada para detectar a los terneros con anticuerpos de calostro, también sirve para animales con tumores, a su vez para pruebas que se oscile

que sean positivas con ELISA, es muy manejado para animales que se van a utilizar en la reproducción y para la realización de vacunas.

La sensibilidad de esta prueba es de 5 a 10 moléculas de ADN provírico, la misma que conlleva a tener pruebas positivas falsas que ocurren por la alta sensibilidad que posee el ensayo, otros resultados que pueden adoptar son las muestras negativas falsas que pueden resultar de la existencia de sustancias inhibidoras que se encuentran en las muestras, pero esto podemos controlar con la utilización de controles positivos (OIE, 2004).

Para realizar el examen puede ser utilizado el suero sanguíneo donde se encuentran todos los leucocitos, la capa leucocitaria o la sangre completa cuando se ha decidido congelarla, para las muestras de tumores tenemos que homogenizar la sustancia al 10%. La extracción de ADN es la parte más importante para alcanzar una sensibilidad deseada, esto se puede realizar por el método NucleoSpin o el tratamiento con resina quelante (OIE, 2004).

### **2.9.2 ELISA**

ELISA o Enzyme Linked Immunosorbent Assay es una prueba inmunodiagnóstica que combina: la especificidad de la unión antígeno – anticuerpo, la sensibilidad de un sistema indicador por colores que están en proporción directa a la concentración de antígeno y anticuerpo. Los antígenos utilizados pueden ser somáticos, de secreción y excreción y sintéticos (OIE, 2013).

Se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática (OIE, 2010).

Al estar uno de los componentes marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte inmunoabsorbente la reacción antígeno – anticuerpo quedara inmovilizada y por tanto será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a

simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro (Ron, 2011).

Los tipos de ELISA son: ELISA no competitivo indirecto, ELISA no competitivo directo, ELISA competitivo.

### **2.9.3 Inmunodifusión En Gel Agar (IDGA)**

Cuando un anticuerpo 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 (Instituto de Virología - C.I.C.V. - INTA, 2007).

Es una prueba que detecta anticuerpos seis semanas después de la infección, por lo mismo no puede ser utilizado un mes después del parto y tampoco dos semanas antes del parto, puesto que si se utiliza IDGA lo más probable es que arroje resultados falsos negativos, este fenómeno se explica por un descenso de los anticuerpos maternos circulantes hacia la glándula mamaria, en la producción de calostro, si se lo utiliza antes de los seis meses de edad puede leer anticuerpos maternos (Gattii, 2012)

Cuando un anticuerpo 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 (Instituto de Virología - C.I.C.V. - INTA, 2007).

Los geles utilizados son los que poseen base pectina, alginatos, poliacrilamida e incluso acetato de celulosa gelatinizado (Instituto de Virología - C.I.C.V. - INTA, 2007).

Se puede ver tres tipos de reacciones:

La primera es la reacción de identidad donde la banda de precipitación se observa con facilidad. La reacción de identidad parcial, en este caso la banda

de precipitación se observa como un espelón y la reacción de no identidad donde las bandas se cruzan ya que cada una es independiente (Instituto de Virología - C.I.C.V. - INTA, 2007).

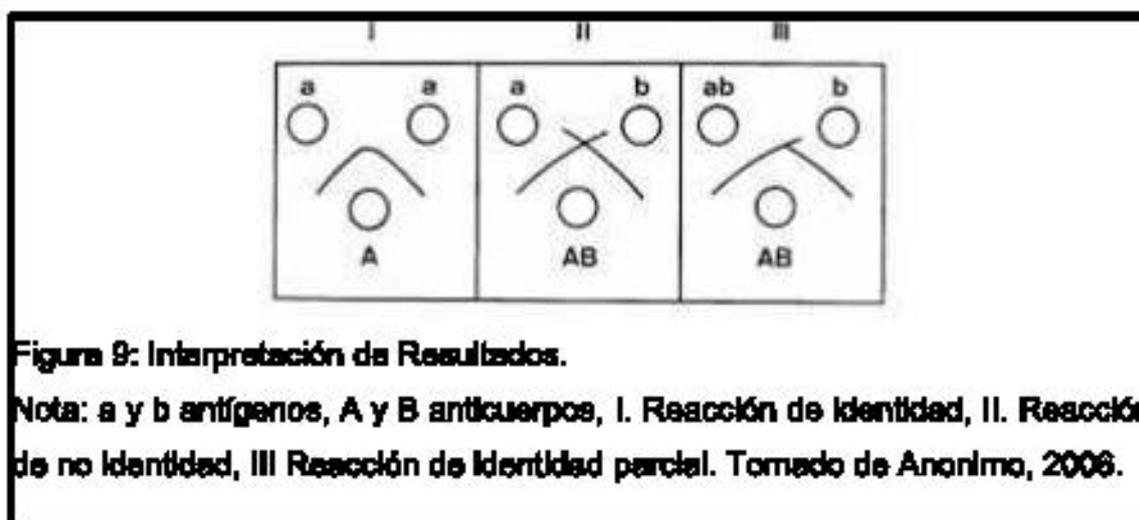


Figura 9: Interpretación de Resultados.

Nota: a y b antígenos, A y B anticuerpos, I. Reacción de identidad, II. Reacción de no identidad, III Reacción de identidad parcial. Tomado de Anónimo, 2006.

## 2.10 Diagnósticos Diferenciales

La característica de los tumores da lugar a que se pueda confundir a la LBE con otras patologías. Toda afección en los linfonodos debe ser estudiada puesto que una inflamación crónica puede causar hiperplasia linfoides. En enfermedades como la Fiebre de la Costa Este y Catarro Maligno causan acumulaciones de linfocitos de se pueden presentar en órganos aislados como los riñones, rodeándolo de focos blancos (Merck & CO., INC., 2007).

Lesiones causadas por infecciones micobacteriales, actinobacilosis, actinomicosis o necrosis hepática también pueden afectar los nódulos linfáticos y se puede confundir con la LBE pero únicamente macroscópicamente (Coetzer & Tustin, 2005).

## 2.11 Control Y Erradicación

Para esta enfermedad no existe ningún tipo de tratamiento, tampoco vacuna, pero esta enfermedad puede ser erradicada mediante un manejo asesorado por profesionales.

Se han realizado varios intentos y pruebas para la producción de vacunas.

A nivel de Sudáfrica se intentó con la vacuna de BIR que se trata de inducir una célula fuerte responsable de la inmunidad la cual se adapta y logra matar al virus directamente actuando contra la glicoproteína 51 la misma que inactiva al virus. (Coetzer & Tustin, 2005)

Otro intento fue realizar una vacuna sintética o recombinada de vacunas vivas, también proteínas en combinación con citoquinas como posibilidad. También se intentó modificar genéticamente el VLB en ausencia del gen tax y rex como vacuna (Coetzer & Tustin, 2005).

El principal problema que tiene un país que no ha erradicado la LBE es no poder exportar animales, lo que hace que un país pierda económicamente una fuerte cifra de dinero que se suma a las pérdidas por descarte de animales (Coetzer & Tustin, 2005).

Un estudio realizado en animales infectados con el VLB recalca la importancia de los animales que tienen la carga proviral baja, los cuales ayudan a que se rompa la cadena de transmisión. Este estudio fue realizado en un hato en donde existían animales positivos los mismos que fueron mezclados con los animales que tenían carga proviral baja, estos permanecieron durante ocho meses en condiciones donde podían ser contagiados, pero después de los ocho meses no hubo transmisión (Esteban & Juliarena, 2012).

La OIE estableció en el Código Sanitario para los Animales terrestres la calificación para zonas libres de LBE (OIE, 2004).

## **Resumen Del Artículo 11.9.2**

### **País O Zona Libre De LBE**

Un país que quiere ser declarado como libre de Leucosis Bovina tiene que regirse a ciertos pasos estrictos que deberían cumplir por lo menos durante tres años.

Para ser declarado libre un rebaño, debe tener el 99.8% de animales sanos o libres de LBE. Los animales con tumores, deben ser tratados y reportados a las autoridades pertinentes y ser examinados por los exámenes establecidos por la OIE.

Terneros nacidos de animales positivos si no son descartados, deben ser identificados. Los bovinos que superen los 24 meses de edad deben dar negativo a los exámenes serológicos.

Para que el país conserve su calificación debe realizar cada año un estudio en el que demuestre que este país posee una prevalencia de 0.2% o menos de enfermedad, y la muestra debe ser tomada de todos los animales, semen, óvulos que vayan a ser importados.

## **Resumen Del Artículo 11.9.3**

### **Compartimiento Libre De LBE**

Para que un cantón o provincia sea considerada como libre de LBE debe cumplir lo siguiente:

Todos los animales que sean ingresados al predio deben ser provenientes de ganaderías libres de LBE, el ingreso de semen u óvulos debe ser controlado. El cantón debe realizar un programa de bioseguridad donde asegure el manejo adecuado de cada una de las ganaderías de dicho cantón, como por ejemplo la

adecuada manipulación en las vacunaciones, descornes, toma de muestras, diagnóstico de gestación entre otros.

#### **Resumen Del Artículo 11.9.4**

##### **Rebaño Libre De LBE**

Para que un rebaño sea libre no debe tener animales mayores de 24 meses que sean positivos en un intervalo mínimo de 4 meses, además que en los exámenes clínicos no presenten tumores y que las necropsias no presenten anomalías. Los animales que son introducidos al igual que el semen, los óvulos deben cumplir con lo que declaran los artículos pertinentes. Si se desea mantener la clasificación se debe realizar mínimo una vez al año un examen de laboratorio en el que todos los animales del rebaño sean negativos.

**Suspensión y restitución de clasificación:** Si en la ganadería existiera un animal que resulte positivo en los controles anuales, este animal y su descendencia deben ser separados de inmediato del rebaño, y se restituirá nuevamente cuando cumpla los pasos anteriormente mencionados.

#### **Resumen del Artículo 11.9.5**

##### **Recomendaciones Para Importar Bovinos**

Las autoridades pertinentes del país que va a importar a los bovinos deben exigir que los animales que van a ingresar al país sean animales que procedan de un país, un compartimento o un rebaño que sea libre de LBE. No se debe descuidar el proceso de importación puesto que 30 días antes del embarque todos los animales deben ser negativos a las pruebas de LBE.

#### **Resumen del Artículo 11.9.6**

### **Recomendaciones Para Importar Semen Bovino**

Deben presentar un certificado internacional donde consten los siguientes puntos:

- El toro destinado a proporcionar el semen, tendrá que venir de un rebaño libre de Leucosis Bovina Enzoótica.
- Si el toro tiene menos de 2 años de edad, la madre debe ser negativa al examen.
- El toro debe dar negativo a la prueba de laboratorio 30 días antes de la extracción del semen y 90 días después.

## **CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS**

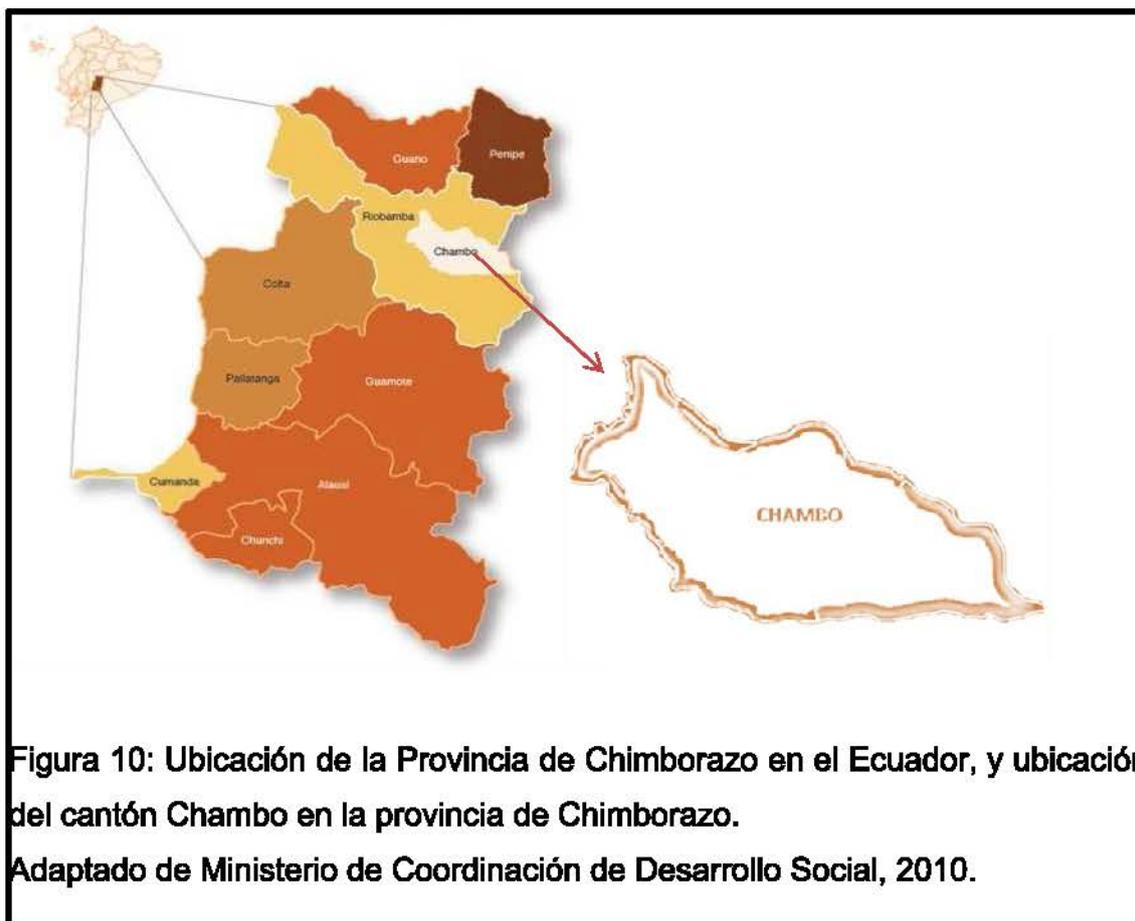
### **3.1 Descripción Del Lugar De Estudio**

El cantón Chambo está localizado al noroeste de la provincia de Chimborazo, ubicado a  $78^{\circ} 34' 59.88''$  Oeste, y  $-1^{\circ} 43' 59.99''$  Sur. Situado a 8 km de la Ciudad de Riobamba hacia el este, se extiende en las faldas de los montes Quilimas y Cubillín de la Cordillera Oriental. Ocupa una superficie territorial de 163 kilómetros cuadrados, su altitud oscila entre los 2.400 a 4.730 msnm, con un promedio de 2.780 msnm, con temperaturas que fluctúan entre  $0 - 15^{\circ}$  C. Limita al norte, al oeste y al sur cantón Riobamba, al este con Morona Santiago. El cantón Chambo tiene una población bovina que fluctúa en 9714 destinados a la producción de leche o carne, o de ambos y ser doble propósito en los páramos.

El cantón Chambo goza de diferentes pisos climáticos lo que le permite destacar en el área turística, además de ser rico en la producción agrícola y ganadera. Debido a las importantes actividades ganaderas que se desarrollan en este cantón es necesario una adecuada determinación, seguimiento y control de los agentes causantes de las enfermedades: respiratorias, entéricas, reproductivas entre otras que pudiesen presentarse en la zona; no obstante esta zona esta descuidada en lo que a sanidad se refiere explicando así que no exista un diagnóstico de las enfermedades más comunes en el sector, es por eso la importancia de este estudio, que sería pionero en sanidad bovina en el cantón.

El cantón no tiene parroquias rurales, tiene una parroquia urbana que es la parroquia Chambo. Dentro de esta ciudad se encuentran dispersas 17 comunidades (GAD Chambo, 2010).

En Chambo el número total de predios productores (leche y carne) registrados son 18, y estos están ubicados en las comunidades de Airón, El Vergel, Laguna de Rocón, El Llio, Los Cubillines, San Francisco, Guayllabamba; de estas Guayllabamba que posee la mayor cantidad de bovinos. Todas estas están distribuidas a lo largo de todo el territorio de la jurisdicción del cantón Chambo (GAD Chambo, 2010).



**Tabla 1: Distribución De Los Predios Estudiados En Las Comunidades Del Cantón Chambo**

<b>Comunidad</b>	<b>Haclenda</b>
<b>Airón</b>	Airón
	La Virginia
<b>El Vergel</b>	Bayushic
	Pucate

<b>Los Cubillines</b>	Cubillin
<b>San Francisco</b>	San Francisco
<b>El Llio</b>	Moraspamba
<b>Catequilla</b>	Rocón
<b>Guayllabamba</b>	Guayllabamba

Los destinos de la leche producida por los predios lecheros registrados son grandes industrias lácteas nacionales, el restante de leche de los pequeños productores se destina para ser trabajada artesanalmente y producir queso fresco en las mismas comunidades.

Las haciendas se encuentran distanciadas entre sí de 5 a 15 km.

Las haciendas estudiadas fueron:

**Tabla 2: Información Básica De Las Haciendas Del Estudio**

<b>Hacienda</b>	<b>Código</b>	<b>Propietario</b>	<b>Extensión</b>	<b>Población Bovina</b>	<b>Población Estudiada</b>
<b>Airón</b>	HA	Sr. Rodolfo Romero	110 ha	164	96
<b>La Virginia</b>	HV	Ing. Víctor Velastegui	70 ha	140	77
<b>Pucate</b>	HP	Sr. Pablo Andino	150 ha <sup>2</sup>	172	99
<b>Bayushic</b>	HB	Ing. Leo Alvear	90 ha	110	64
<b>Rocón</b>	HR	Ing. Hidalgo	90 ha	129	65
<b>Moraspamba</b>	HM	Sr. Rubén Bustillos	170 ha	209	104
<b>Cubillin</b>	HC	Sr. Carlos Oviedo	80 ha	116	61
<b>Guayllabamba</b>	HG	Dr. Luis Escobar	72 ha	128	72
<b>San Francisco</b>	HF	Ing. Danni	78 ha	133	70

Romero		
<b>Total</b>	1301	708

### **3.2 Diseño Del Estudio**

Es un estudio prospectivo, de cohorte o frecuencia transversal, descriptiva para determinar la presencia y calcular la prevalencia de la Leucosis Bovina Enzoótica en el Cantón Chambo.

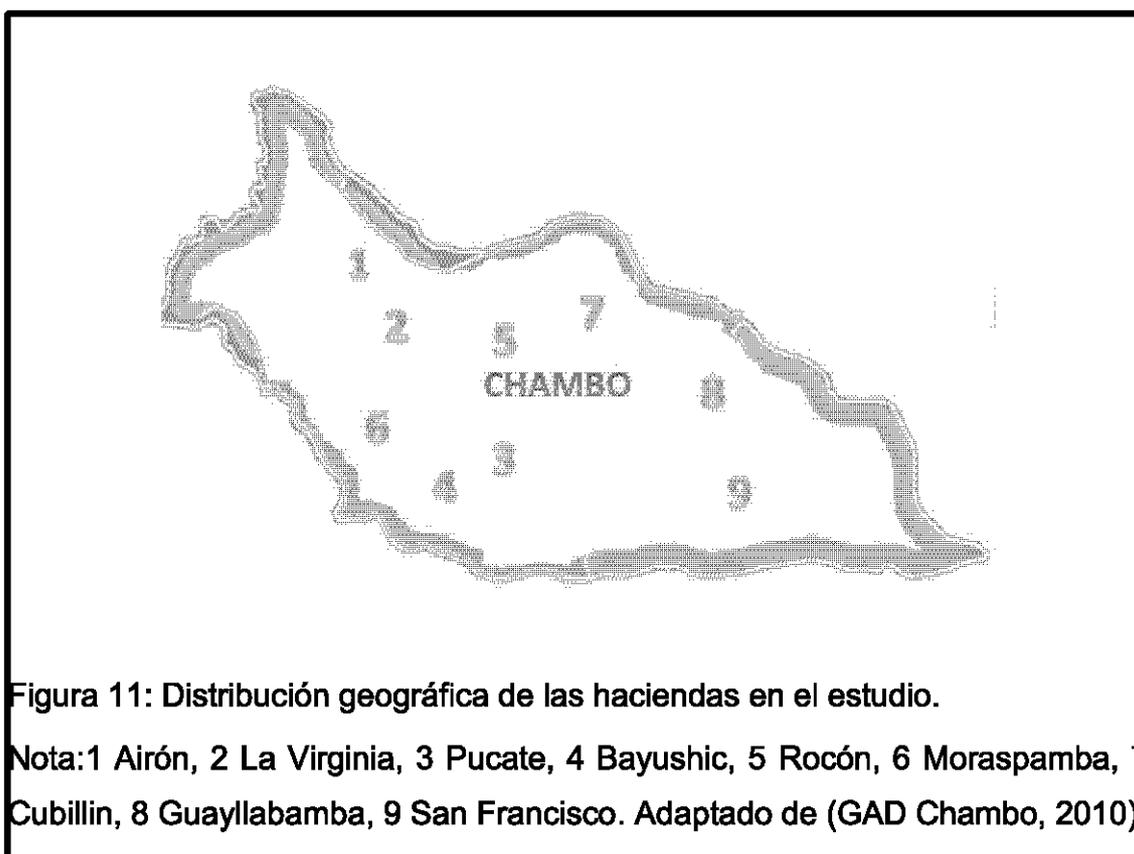
El muestreo se realizará utilizando una metodología única; las muestras serán recolectadas en campo, procesadas en los laboratorios de microbiología de la Universidad de las Américas con el asesoramiento del Dr. Aníbal Mantilla docente de la carrera.

### **3.3 Población Del Estudio**

La población estudiada es de 356 animales distribuidos en nueve haciendas. Las nueve haciendas antes mencionadas son todos los predios del cantón que cubrían los siguientes requisitos:

- Registro de la propiedad ante el GAD.
- Manejo semi – extensivo: Su alimentación se basa en pastos entre los que se incluyen alfalfa, raygrass, kikuyo además de balanceado, los predios se manejan con balanceados comerciales con el 18% de proteína. La alimentación en pastoreo se realiza con cerca eléctrica la cual es transpuesta cinco a siete veces al día.
- Predios abiertos: Es decir que adquieren animales de diferentes zonas, esto es un factor común dentro del cantón puesto que ninguno de los predios registrados es cerrado.
- Reproducción mediante inseminación artificial: La inseminación artificial se realiza a partir de los 17 meses de edad, el momento en el que se confirma su preñez son ubicadas en los potreros con las vacas secas.

- Sistema de ordeño mecánico: Al superar los 25 animales en producción estas propiedades se vieron en la obligación de adquirir un nivel más de tecnología que ha colaborado con la calidad de la leche producida. Los sistemas de ordeño tienen desde 6 hasta 15 puestos de ordeño.
- Un mínimo de 40 animales en producción láctea: Los predios registrados son grandes productores.
- Los animales testados deben ser mayores a tres años de edad, puesto que la prueba usada no se aplica en animales menores al año de edad y por qué la enfermedad se presenta de manera subclínica hasta los 3 años que es cuando el 30% de los animales infectados desarrolla síntomas (OIE, 2004).
- Solo animales hembras, debido a que los animales nacidos machos son comercializados para engorde.



Los animales de estas haciendas se encuentran en contacto con otras especies como: equinos, ovinos, caninos y felinos. En cuanto al manejo

sanitario realizan periódicamente desparasitaciones y tienen un plan de vacunación que abarca brucelosis, clostridium, pasterella, fiebre aftosa.

El análisis de las muestras se realizó en los laboratorios de microbiología de la Universidad de las Américas en la sede ubicada en la avenida Granados y Colimes, al norte de la ciudad de Quito en la provincia de Pichincha a una altitud de 2348 m.s.n.m. cuyas coordenadas geográficas son: latitud 00° 13' 23" Sur y 78°30'45" Oeste (Google Maps, 2014).

### 3.3.1. Cálculo De La Población

Para este cálculo se utilizó la formula estándar para calcular la muestra de una población infinita, y ese resultado fue ajustado a la población del sector.

$$n = \frac{z^2 pq}{B^2}$$

Nota: n(tamaño de la muestra), z(1.96 para el 95% de confianza), p (frecuencia esperada, B(error admitido).

Ecuación 1

Como resultado se obtuvo una muestra de 332 animales, sin embargo al existir la posibilidad de ampliar el número de animales, se procedió con una nueva metodología.

Se utilizó los registros de las propiedades para seleccionar y obtener el total de los animales mayores a 3 años, es decir los animales que se encuentren en producción y de éstos se muestreo el 50% de animales aleatoriamente. El margen establecido por propiedad es de 30 a 50 muestras, es decir, en todos los predios se deberá obtener mínimo 30 muestras y máximo 50 muestras.

Tabla 3: Cálculo De La Muestra

Predio	Iniciales	Etapa Ordeño	Ordeño > 3 años	Seco	Seco > 3 años	Total Animales A Muestrear	50%
Hcda. Airón	HA	89	85	11	11	96	48
Hcda. La Virginia	HV	61	60	17	17	77	39
Hcda. Pucate	HP	82	79	22	20	99	50
Hcda. Bayushic	HB	52	51	13	13	64	32
Hcda. Rocón	HR	58	45	20	20	65	33
Hcda. Moraspamba	HM	98	91	13	13	104	52
Hcda. Cubillin	HC	53	50	11	11	61	31
Hcda. Guayllabamba	HG	66	65	7	7	72	36
Hcda. San Francisco	HF	59	58	12	12	70	35
<b>TOTAL ANIMALES</b>							<b>356</b>

En el cantón en general existe una gran variedad de razas bovinas entre las que predominan las razas lecheras de mejor adaptación como Holstein, Jersey y Brown swiss. En la tabla 4 se observa la distribución de razas.

Tabla 4: Resumen De Las Razas Estudiadas

Raza	Código	Número	%
Holstein	A	161	45,2%
Jersey	B	77	21,6%
Brown swiss	C	18	5,1%
Normando	D	27	7,6%
Pizan	E	1	0,3%
Montbeliarde	F	2	0,6%
Mestizas	G	70	19,7%

<b>TOTAL</b>	<b>356</b>	<b>100,0%</b>
--------------	------------	---------------

Todas las propiedades cuentan con registros, por lo que se facilitó la obtención de las edades de los animales, en el estudio se utilizó los datos y la muestra de animales mayores a tres años, por las características epidemiológicas de la enfermedad. En la tabla 5 se muestra la distribución de las edades de los animales muestreados.

**Tabla 5: Distribución De La Muestra Por Edades**

<b>Edad</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
<b>3</b>	<b>58</b>	<b>16,3%</b>
<b>4</b>	<b>64</b>	<b>18,0%</b>
<b>5</b>	<b>51</b>	<b>14,3%</b>
<b>6</b>	<b>54</b>	<b>15,2%</b>
<b>7</b>	<b>38</b>	<b>10,7%</b>
<b>8</b>	<b>30</b>	<b>8,4%</b>
<b>9</b>	<b>30</b>	<b>8,4%</b>
<b>10</b>	<b>9</b>	<b>2,5%</b>
<b>11</b>	<b>14</b>	<b>3,9%</b>
<b>12</b>	<b>6</b>	<b>1,7%</b>
<b>13</b>	<b>2</b>	<b>0,6%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>356</b>	<b>100,00%</b>

## **3.4 Métodos**

### **3.4.1 Encuesta**

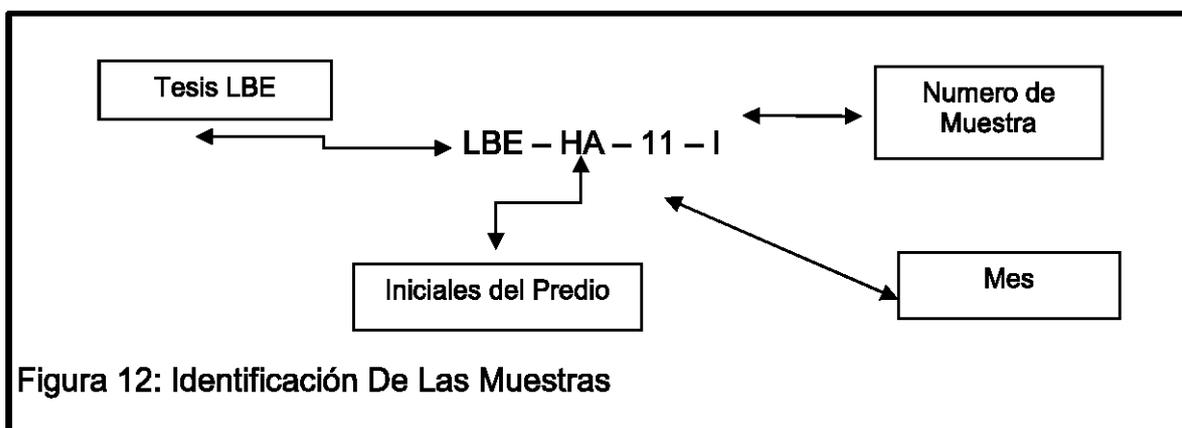
Para el efecto se diseñó un formulario dirigido al propietario o administrador de la hacienda, con el fin de identificar la población total de animales y el porcentaje de los mismos a testar. Los propietarios además firmaron una

autorización para la utilización de las muestras después de haberles explicado que los sueros serán utilizados con fines de investigación.

### 3.4.2 Muestreo

El muestreo se realizó durante 14 semanas en todo el cantón desde septiembre del 2013 hasta el mes de enero del 2014.

Posteriormente, se procedió a seleccionar los animales para el muestreo de forma aleatoria (según como entraban al ordeño) y a realizar la toma de muestras mediante punción de la vena coccígea



#### 3.4.2.1 Toma de Muestras

La toma de muestras se realizó después de haber tenido una entrevista con los propietarios y basándose en las medidas de higiene, identificación de "Toma De Sangre Y Vacunación" del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE (OIE, 2004).

El muestreo se realizó tomando en cuenta que la LBE no es una enfermedad zoonótica, sin embargo se tomó las medidas higiénicas y sanitarias que esta enfermedad exige.

- 1) Para el muestreo de los animales en producción se esperaba que sea la hora del ordeño y se tomó la muestra según como entraban al ordeño, manteniendo así un muestreo aleatorio. Los animales que estaban en periodo seco se seleccionaron mediante sorteo (Ver anexos).
- 2) Identificación de los tubos.
- 3) Personal de las fincas o un ayudante sujetaba la cola del animal para ubicar la coccígea.
- 4) Desinfección del área donde se va hacer la punción.
- 5) Mediante punción de la vena coccígea con una aguja de 22G obteníamos el contenido de la vena directamente a un tubo Vacutainers® sin anticoagulante.
- 6) Una vez obtenida la muestra se volvía a desinfectar el área, se desechaba las agujas cortos punzantes en un recipiente adecuado correctamente marcado y se almacenaba la muestra.
- 7) Las muestras durante el muestreo se almacenaban en un conservador tipo hielera a una temperatura de 20° C.
- 8) Para obtener el suero, la sangre total contenida en el tubo se dejó en reposo para que se forme el coágulo a temperatura ambiente, protegido de temperaturas extremas durante periodos que pueden oscilar entre unas pocas horas y toda una noche (OIE, 2013).
- 9) Transcurrido el tiempo y formado el coagulo se procedió a la separación del suero en tubos estériles Vacutainers® sin anticoagulante de 3ml.
- 10) Finalmente los tubos nuevamente identificados con el suero fueron refrigerados a 4°C para posteriormente ser transportados a la Universidad de las Américas para su análisis. Después de ser analizados se congelaron a -20°C, para posteriores investigaciones.

### **3.4.3 Procesamiento De Las Muestras**

Las muestras fueron procesadas durante tres semanas en los laboratorios de microbiología de la Universidad de las Américas con el asesoramiento del Dr. Aníbal Mantilla y el biólogo Paulo Robles (Ver anexos).

Para el análisis serológico se utilizó la técnica de Inmunodifusión en Gel Agar (IDGA).

#### **3.4.3.1 Fundamento del Test**

Cuando un anticuerpo 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 (Instituto de Virología - C.I.C.V. - INTA, 2007).

El fundamento de esta prueba es la inmunodifusión doble de Ouchterlony es un método inmunológico sencillo y rutinariamente usado en el laboratorio clínico para la detección de antígenos o anticuerpos en una muestra biológica (Calderón, 2007).

Los anticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares extractables reciben el nombre de a-ENA. Estos anticuerpos son auto anticuerpos. Estos antígenos nucleares son por lo general proteínas no histonas o complejos ARN-proteínas. Se pueden detectar por doble difusión en agar, ELISA o inmunoblot (Calderón, 2007).

##### **3.4.3.1.1. Inmunodifusión doble de Ouchterlony**

Esta técnica se realiza en placas de agar en donde se practican pocillos, en uno de estos pozos se coloca el suero o muestras a investigar y en el resto se coloca el anticuerpo preparado frente a la sustancia que se quiere identificar.

Cuando difunden, ambos sistemas se encontrarán y se formará en la zona de equivalencia el complejo antígeno - anticuerpo correspondiente que se hace visible en forma de una línea de precipitación. En una preparación que contenga varios antígenos, se obtendrán múltiples líneas de precipitado. La técnica de Ouchterlony permite identificar sustancias según la forma de unirse las líneas de precipitación de dos o varios sistemas (Calderón, 2007).

### 3.4.3.2 Protocolo del ensayo

- 1) Colocar el frasco con el gel agar en a baño maría hasta que esté totalmente líquido y límpido.
- 2) Preparar las placas en el momento de realizar la prueba o máximo un día antes. Usar 18ml de gel agar en cada caja Petri de 85mm de diámetro, verter en las placas usando una pipeta, ubicar en posición horizontal en una superficie plana. Esperar su solidificación sin mover la caja.
- 3) Realizar siete agujeros con el cortador metálico y extraerlos, estos orificios deben tener el siguiente diámetro:
  - a. El orificio central 4mm de diámetro.
  - b. El orificio central debe estar separado 3mm del resto de orificios.
  - c. Seis orificios más con un diámetro de 6mm.
- 4) Eliminar los pequeños pocillos con una punta palillo o aguja.
- 5) Reconstituir los controles positivos del kit con 3ml de agua destilada y el antígeno con 2 ml de agua destilada.
- 6) Dispensar 73ul de suero control en dos pocillos y 73ul de suero sanguíneos en los cuatro orificios restantes.
- 7) En el centro dispensar 32ul de antígeno.
- 8) Colocar la placa en una cámara húmeda y a 20 °C en estufa.
- 9) Dejar en la cámara húmeda hasta realizar las lecturas.
- 10) Leer los resultados a las 72 horas.

Todo el proceso ha sido establecido por el instituto Pourquoi en Francia responsable del test (Pourquier Institut, 2014).

### 3.4.3.3 Especificaciones del Kit

Inmunodifusión en gel agar para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Leucosis Bovina Enzoótica (Ver anexos) .

El test que se utilizara en esta tesis es el “Pourquier AGID Leucosis”, LOTE 3046. Es un kit de la marca IDEXX. Esta prueba detecta anticuerpos que reaccionaron frente a la glicoproteína 51 que está en las espículas y frente a la proteína 24 que está ubicada en la nucleocápside. Este método esta estandarizado por la revista oficial de la Unión Europea (Council Directive 64/432/EEC) y permite la detección de la norma europea E5 suero diluido 1/10- (Pourquier Institut, 2014)

### 3.4.4 Análisis Estadístico De Resultados

Los resultados serán analizados mediante el uso de herramientas de análisis estadístico descriptivo como las medidas de tendencia central: moda, media y mediana, así como medidas de dispersión: media, máximos, mínimos, rango, varianza de la muestra, desviación estándar, intervalo de confianza.

La prevalencia de la enfermedad se calcula mediante la siguiente formula:

$$Prevalencia\ LBE = \frac{N^{\circ}\ de\ casos\ de\ LBE\ encontrados}{N^{\circ}\ total\ de\ la\ población\ estudiada}$$

Ecuación 2

Pineda & Romero, 2014

### 3.4.5 Análisis De Factores De Riesgo

Los factores de riesgo se determinaran en base a los resultados y la situación sanitaria del cantón y predio.

## 3.5 Materiales

### Materiales de Oficina:

- Laptop 1
- Lápiz 2
- Borrador 1
- Carpeta de plástico 1
- Calculadora 1
- Libreta de anotaciones 1
- Hojas A4 1 resma de 500 hojas
- Mochila 1

### Materiales de Campo:

- Bolígrafo 2
- Libreta de campo 1
- Calculadora 1
- Encuestas 15
- Carpeta 1
- Marcador permanente 2
- Mochila 1
- Overol 2
- Botas de campo 2 pares
- Caja transporte materiales 1
- Guantes de examinación 2 cajas

- Alcohol 1 frasco
- Gasas 1 rollo
- Capsulas de extracción de sangre 4
- Agujas toma múltiple #22 400
- Vacutainers® 400
- Cooler (Rubbermaid) 2
- Fundas desechos infecciosos 10
- Recipiente desechos corto-punzantes 2

#### Materiales de Laboratorio:

- Mandil 2
- Centrifuga 1
- Vacutainers® 3ml 400
- Cajas Petri 20
- Sacabocados 1
- Cámara Húmeda 2
- Cámara Oscura 1
- Jeringuillas de 3ml 500
- Kit IDEXX Inmunodifusión em gel ágar para detección de Anticuerpos frente al Vírus de la Leucosis Bovina Enzoótica (BLV) 2

#### Reactivos:

- 1 Antígeno BLV liofilizado 2ml
- 3 Control Positivo liofilizado 3 ml
- 3 Gel de Agar 100 ml

## **CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Este estudio es el primero que se realiza en el cantón Chambo para identificar la presencia de anticuerpos precipitantes al virus de la Leucosis Bovina Enzoótica. La población de estudio es de 356 animales, estos representan el 50% de los mayores a tres años en los nueve predios estudiados. De éstos animales se extrajo 5ml de sangre por cada uno de ellos. Los animales están distribuidos en siete comunidades y las razas dentro del estudio son siete, predominando las lecheras. Los predios analizados son abiertos, de medianos y grandes productores lecheros, que utilizan inseminación artificial.

### **4.1 Resultados De Análisis Del Laboratorio**

Todas las muestras fueron analizadas mediante la prueba de IDGA, en los laboratorios de microbiología de la Universidad de las Américas con el asesoramiento técnico del Dr. Aníbal Mantilla responsable de la cátedra de inmunología y virología. En la figura 9 se muestra la distribución de los resultados generales tras el análisis del laboratorio.

Del análisis de la muestras se obtuvo que 55 sueros reaccionaron positivamente y 20 dieron una reacción inespecífica; por lo cual a estas últimas se las volvió a testar obteniendo 8 muestras positivas, dando un total de 63 muestras positivas que representan el 18% (IC95%= 13,96 – 22,15) y 293 muestras negativas que representan el 82% (IC95%= 11,85 – 86,04). La georreferenciación de estos resultados se puede observar en la figura 10.

El test de Inmunodifusión en gel agar (IDGA) detectó anticuerpos que reaccionaron frente a la glicoproteína 51 que está en las espículas y frente a la proteína 24 que está ubicada en la nucleocápside del virus (Pourquier Institut,

2014). Esto quiere decir hay circulación del agente causal de la enfermedad en los predios estudiados, por lo que los animales se entiende han sido expuestos.

## 4.2 Cálculo De La Prevalencia Aparente Y Real De LBE

### 4.2.1 Prevalencia Aparente

La prevalencia (prevalencia aparente) animal obtenida fue del 18%, lo que como porcentaje de prevalencia representa un porcentaje significativo en comparación a estudios realizados en otras partes de sur américa que arrojaron prevalencias mínimas del 30% y máximas del 95% en atención de la situación epidemiológica de las áreas de estudio. En el Ecuador los estudios realizados en diferentes provincias muestran también resultados altos de prevalencia confirmando así la presencia de la enfermedad clínica tal como se indica en la página de la OIE (OIE, 2013).

$$Prevalencia\ LBE = \frac{N^{\circ}\ de\ casos\ de\ LBE\ encontrados}{N^{\circ}\ total\ de\ la\ población\ estudiada}$$

$$Prevalencia\ LBE = \frac{63}{356} = 0,177 \rightarrow 18\%$$

Ecuación 3

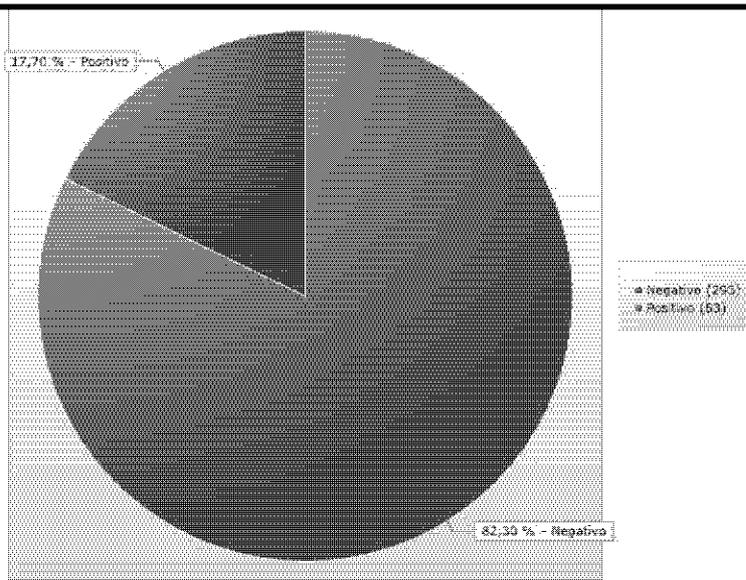


Figura 13: Resultados del diagnóstico de LBE a través de IDGA en 356 muestras en el cantón Chambo.

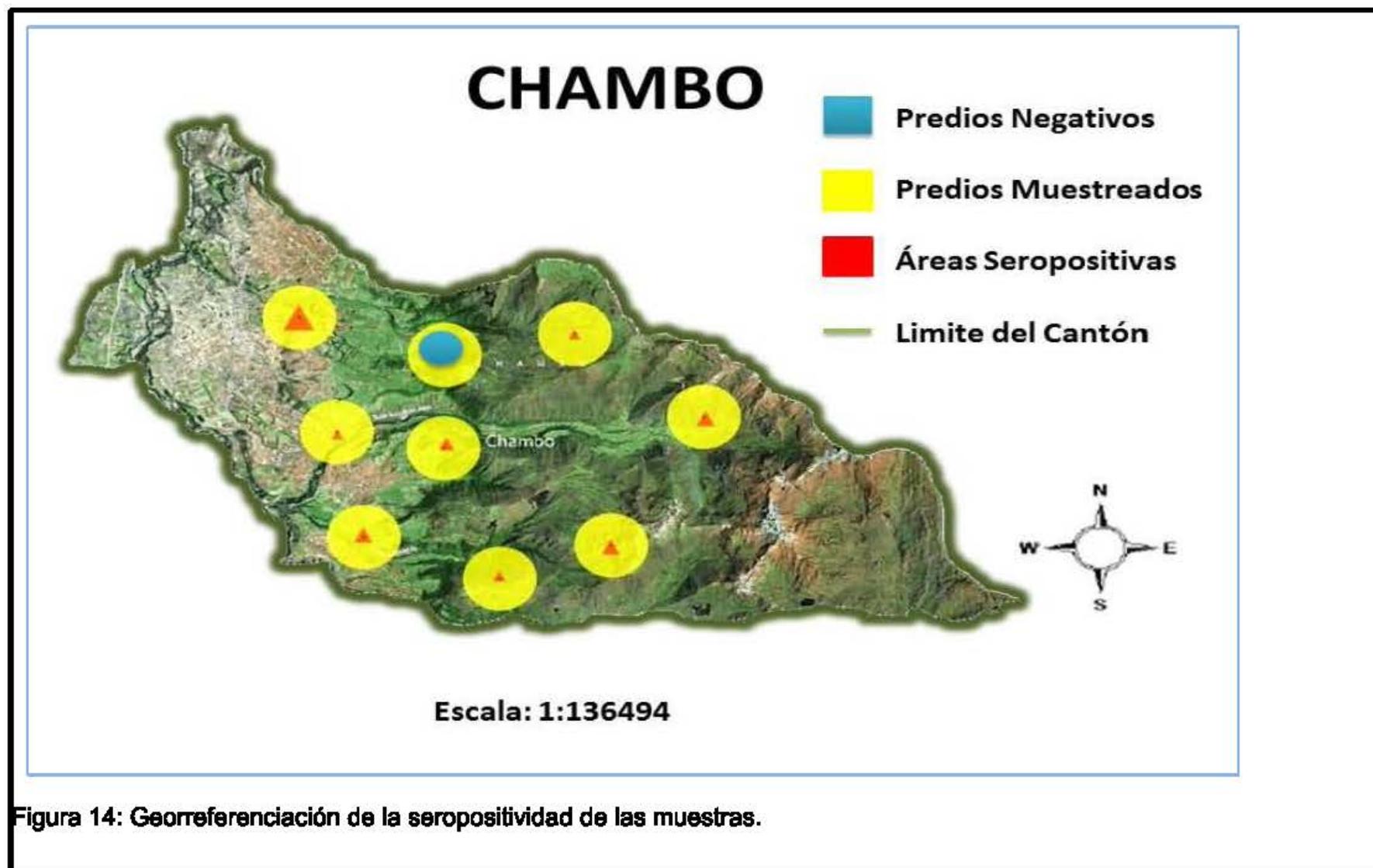
#### 4.2.2 Prevalencia Real

La prevalencia real se calculó utilizando la sensibilidad del 77,6% y especificidad del 100% que fueron obtenidas en un estudio realizado en Venezuela (Nava, Obando, & Bracamonte, 2012), obteniendo así una prevalencia real del 23% elevando así nuestros resultados.

$$\text{Prevalencia Real} = \frac{\text{Prevalencia aparente} + (\text{Especificidad} - 1)}{\text{Sensibilidad} + (\text{Especificidad} - 1)} =$$

$$\text{Prevalencia Real} = \frac{18\% + (100\% - 1)}{77,6\% + (100\% - 1)} = 23\%$$

Ecuación 4



Al ser la prevalencia real 23% representa 82 animales entre verdaderos positivos (64) y falsos negativos (18). Entonces aquí observamos nuevamente que en poblaciones de prevalencia “baja” la IDGA está restringida porque arroja resultados falsos negativos (18).

*Animales prevalentemente reales = total de animales \* prevalencia real*

*Animales prevalentemente reales = 356 \* 23%*

*Animales prevalentemente reales = 82*

Ecuación 5

También se calculó el VPP (valor predictivo positivo) que fue 1 que corresponde al 100%, es decir existe el 100% de probabilidad de que un resultado positivo corresponda a un animal enfermo, y el VPN (valor predictivo negativo) fue 0,93 que corresponde al 93% es decir 9 de cada 10 animales negativos estarán sanos.

Tabla 6: Interpretación De Pruebas Diagnostica

		Estado del Animal		
		Enfermo	Sano	Total
Resultado De la Prueba	Positivo	63	0	63
	Negativo	19	274	293
Total		82	274	356

Tabla 7: Comparación De Los Resultados De La Prevalencia Aparente Con La Prevalencia Real

Muestra	Prevalencia Aparente 18%		Prevalencia Real 23%	
	+	-	+	-

	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
356	63	18%	293	82%	82	23%	274	77%

Un estudio realizado en la provincia del Azuay obtuvo una seroprevalencia de 6.1% (Puma & Yanza, 2013); prevalencia en relación con nuestra investigación porque no son resultados altos y los dos lugares de estudio son en la sierra ecuatoriana con iguales características de producción lechera y diferentes características epidemiológicas.

Otros estudios realizados en Manabí arrojaron prevalencias de 30% y 4% en 1992 y 2013 respectivamente lo que se puede explicar cómo una relación independiente entre sectores mientras no se conecte los predios (Puma & Yanza, 2013).

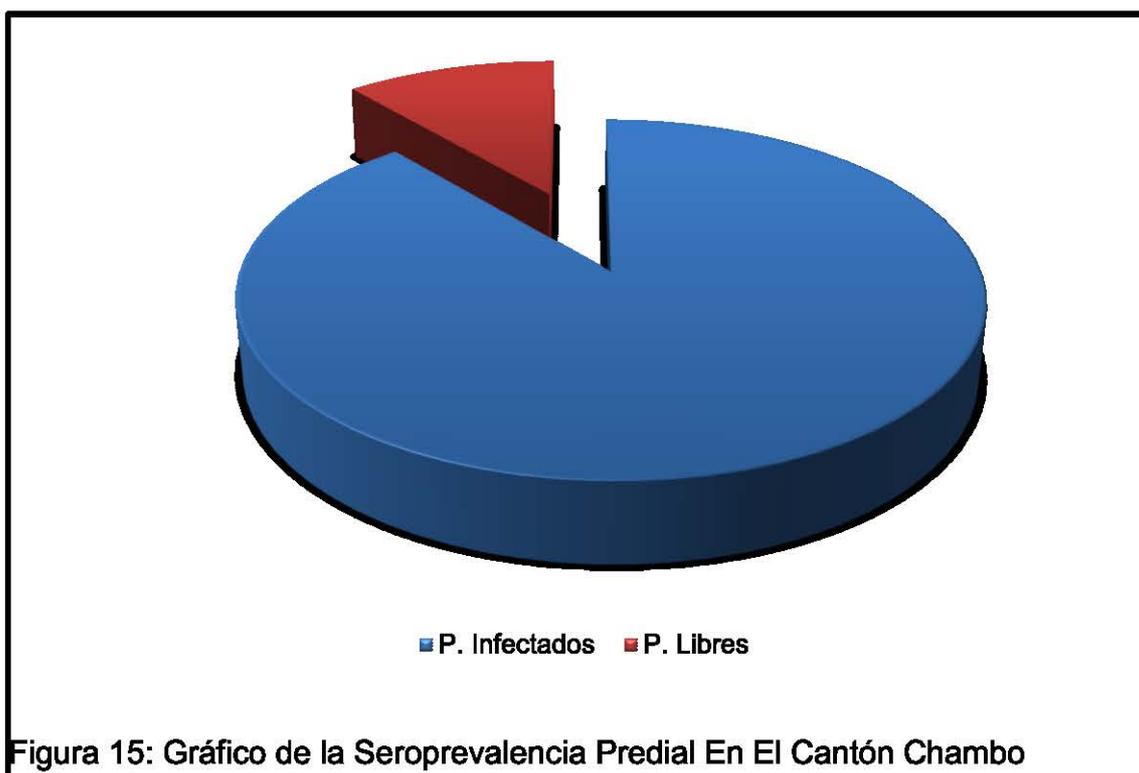
Un estudio efectuado en Argentina, (Albéitar PV, 2002), utilizando la técnica de ELISA en muestras de leche, reportó un índice de animales positivos de 17,50%, este resultado en cuanto a la presencia de la enfermedad. Otros países de Sur América describen prevalencias elevadas de LEB; así, en Argentina, se señalan cifras que oscilan entre 52,50% y 89,50% (Albéitar PV, 2002) y de 32,53% a 93,93% en Brasil (Carignano, Roldán, Trono, Miretti, & Poli, 2012). Sin embargo, el hecho de que en un país exista una prevalencia elevada del VLEB no implica que puedan existir áreas geográficas en las cuales la misma sea baja o viceversa.

En Colombia en la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté se obtuvo una prevalencia serológica o aparente del 45%, estos resultados se atribuyeron a la falta de conocimientos de la enfermedad, transporte de animales sin análisis, malas prácticas reproductivas, a la edad y nivel de estrés (Alfonso, Almansa, & Barrera, 1998).

En otro estudio realizado en Colombia en el Valle del Cauca se encontró una prevalencia aparente del 77,83% de los cuales solo el 33% presentaba síntomas clínicos a más de la disminución en la producción de leche en animales que reaccionaron positivamente a la enfermedad (Gutierrez & Artemo, 2012).

### 4.3 Seroprevalencia Predial De LBE

En el cantón Chambo se estudiaron 9 predios en igualdad de condiciones y como resultado se obtuvo que 8 de los 9 predios es decir el 89% de los predios se encuentran infectados con el VLB.



Este alto resultado de prevalencia predial demuestra que los resultados de una región a otra pueden variar como sucedió en Chile en donde una región obtuvo el 87% otra 38% y otra 21% como porcentajes de prevalencias prediales (Felmer, Zuñiga, López, & Miranda, 2009).

Los resultados en una región tomando en cuenta la cantidad de predios infectados (no la cantidad de animales) en América Latina son alarmantes, puesto que en Colombia en un estudio realizado en la Sabana de Bogotá y Ubaté se evaluaron 420 predios y solo 9 predios obtuvieron resultados negativos (Alfonso, Almansa, & Barrera, 1998).

El 89% de predios infectados dentro de un cantón tan pequeño como es Chambo es un resultado alarmante sobre el cual se debe actuar con premura instaurando planes de diagnóstico y control.

#### 4.4 Seroprevalencia Por Rebaños o Predios

Como se observa en la tabla 7 la mayoría de predios se encuentran dentro de un margen en el que no superan el 1% de la presencia de la enfermedad con resultados positivos (Airón, Cubillin, Bayushic, Guayllabamba, Pucate, Rocón, San Francisco), sin embargo una de las propiedades (Moraspamba) obtuvo 8% de resultados positivos en la prevalencia aparente y otra de las propiedades (la Virginia) 0% de resultados positivos.

Tabla 8: Resultados Por Rebaño

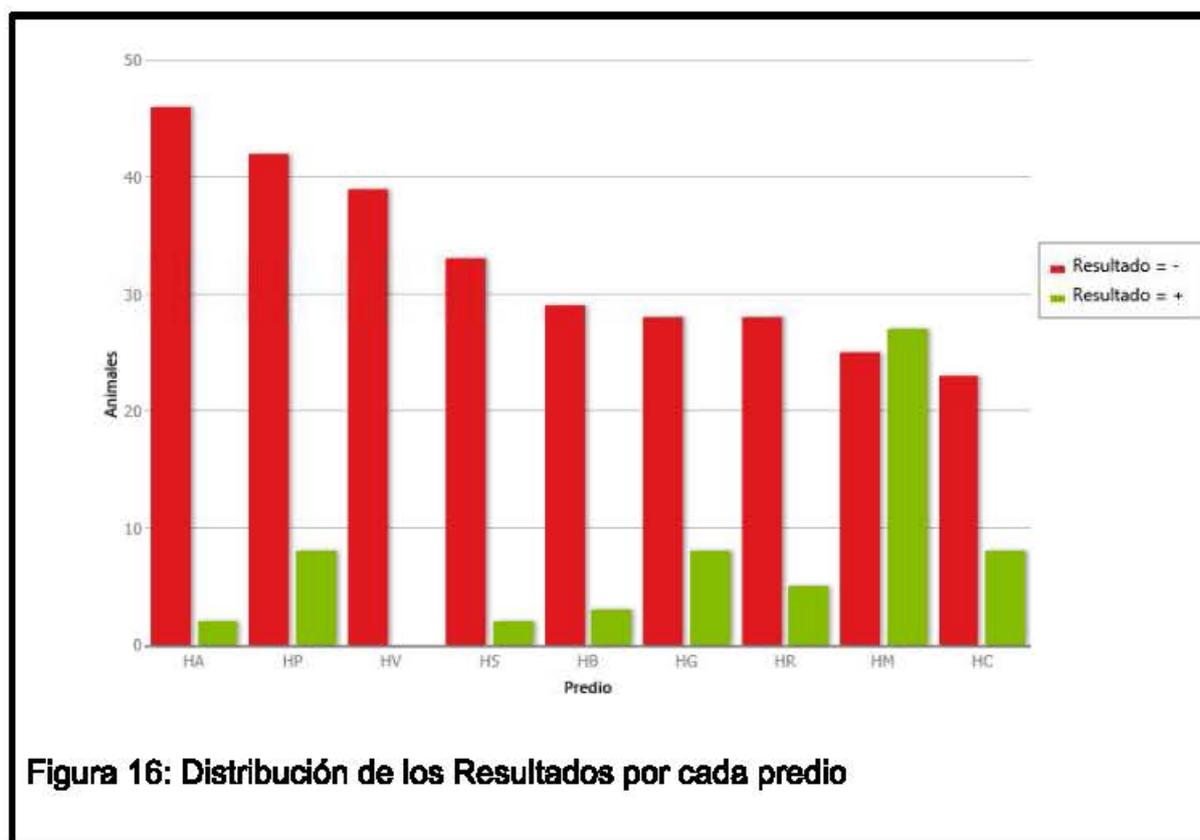
Predio	Muestra	Prevalencia Aparente				Prevalencia Real			
		18%		23%		23%			
		+	-	+	-	+	-	+	-
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
HA	48	2	1%	46	13%	11	3%	37	10%
HB	32	3	1%	29	8%	7	2%	25	7%
HC	31	8	2%	23	6%	7	2%	24	7%
HG	36	8	2%	28	8%	8	2%	28	8%
HM	52	27	8%	25	7%	12	3%	40	11%
HP	50	8	2%	42	12%	12	3%	39	11%
HR	33	5	1%	28	8%	8	2%	25	7%
HS	35	2	1%	33	9%	8	2%	27	8%
HV	39	0	0%	39	11%	9	3%	30	8%

TOTAL	356	63	18%	293	82%	82	23%	274	77%
-------	-----	----	-----	-----	-----	----	-----	-----	-----

Nota: Resumen de los animales positivos (+) y negativos (-); en los predios estudiados (HA, HB, HC, HG, HM, HP, HR, HS, HV) relacionando la prevalencia real y aparente

En la hacienda Moraspamba se puede explicar la alta prevalencia de la enfermedad debido a que el propietario posee dos haciendas, una de ellas en el área de estudio y otra en el cantón Mejía en la provincia de Pichincha, en donde estudios serológicos en importantes haciendas ganaderas arrojan prevalencias muy altas de LBE (Mantilla, Instituto Nacional de Higiene, 2010). Animales procedentes de la hacienda de Machachi son movilizados hacia Chambo sin previo control sanitario de las enfermedades más comunes en el medio, además el propietario ignora la presencia de la enfermedad. Es de tomar en cuenta que es una hacienda con animales altamente productores de leche, un estudio en Colombia sugiere que en los predios de “alta selección” es más común encontrar niveles altos de infección debido a la mayor intervención humana. (Alfonso, Almansa, & Barrera, 1998).

Al contrario el propietario de la hacienda la Virgina que obtuvo una prevalencia del 0%, es profesional agropecuario que aplica sus conocimientos en el manejo del estado sanitario de su población bovina.



#### 4.5 Seroprevalencia De LBE Por Razas

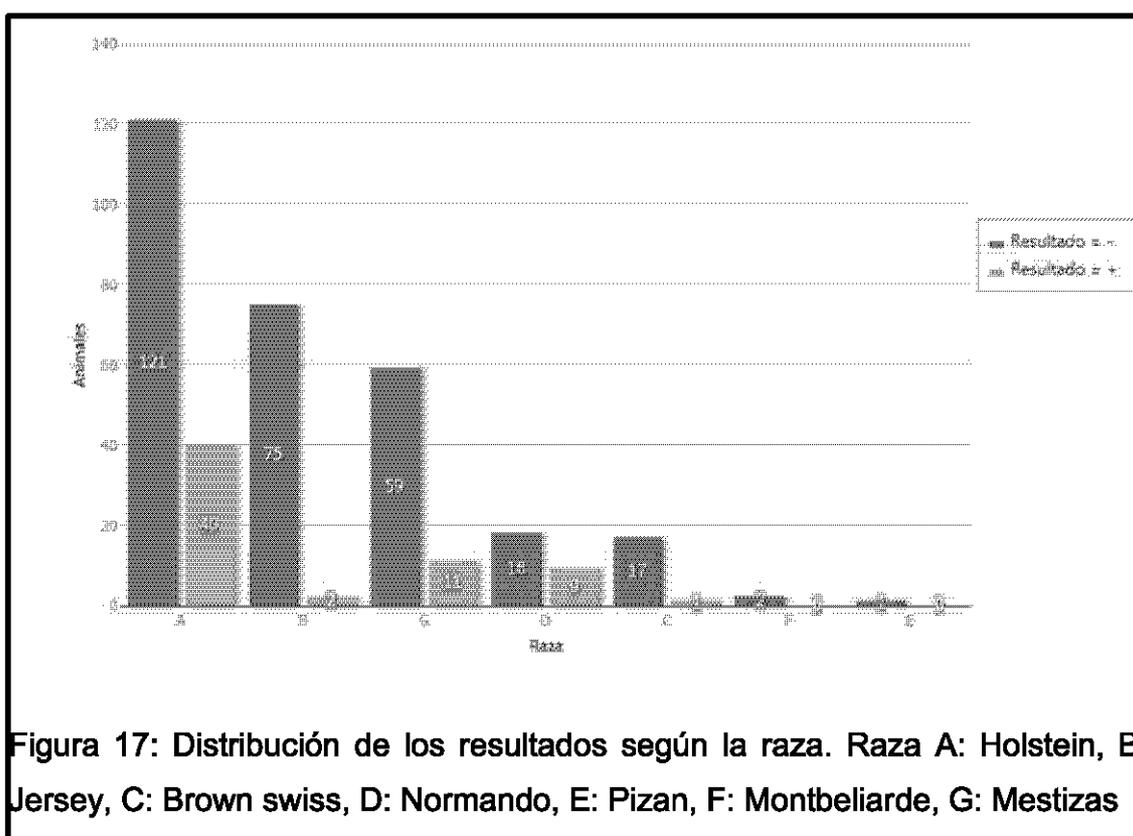
En estos predios existe hay gran variedad de razas, predominan las razas especializadas en producción de leche, como se puede observar en la tabla 5 la raza predominante es la raza Holstein.

Tabla 9: Resultados de laboratorio en relación a las razas.

Rp	A		B		C		D		E		F		G		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
+	40	11%	2	1%	1	0%	9	3%	0	0%	0	0%	11	3%	63	18%
-	121	34%	75	21%	17	5%	18	5%	1	0%	2	1%	59	17%	293	82%
<b>Total</b>	<b>161</b>	<b>45%</b>	<b>77</b>	<b>22%</b>	<b>18</b>	<b>5%</b>	<b>27</b>	<b>8%</b>	<b>1</b>	<b>0%</b>	<b>2</b>	<b>1%</b>	<b>70</b>	<b>20%</b>	<b>356</b>	<b>100%</b>

Nota: A: Holstein, B: Jersey, C: Brown swiss, D: Normando, E: Montbeliarde, F: Pizan, G: Mestizas

Como se puede observar en la tabla 8, 40 animales es decir el 63% de los animales positivos pertenecen a los animales de raza Holstein, este resultado se puede relacionar con los estudios que aseguran que los animales altamente productivos como las Holstein (que han sido mejoradas genéticamente) son sensibles a enfermedades virales (Carignano, Roldán, Trono, Miretti, & Poli, 2012).



En un estudio realizado en Colombia en animales en igualdad de condiciones obtuvo la siguiente diferenciación: los negativos a LBE produjeron 5,012 kg de leche y los positivos produjeron 4,762 kg de leche demostrando así que la prevalencia del pro virus afectó la producción de leche de los animales evaluados (Gutierrez & Artemo, 2012). Sin embargo ninguno de los estudios puede comprobar que la relación entre el descenso de leche y enfermedad exista (ANONIMO, 2013).

En las razas criollas como la pizan no se encontraron resultados positivos, esto tal vez se deba a una posible resistencia que debe ser estudiada, tal como se describe en un estudio realizado por la Universidad Nacional de Colombia (Hernandez, Posso, Giovambattista, & Alvarez, 2013).

#### 4.6 Seroprevalencia Por Edad

Tabla 10: Distribución De Resultados En Base A La Edad

EDAD	Prevalencia				TOTAL	Error estándar	Intervalo de confianza		
	+		-				al 95% de casos positivos		
Años	N°	%	N°	%			Min.	Med.	Máx.
03 - 05	36	10,11	137	79,19	173	0,023	9,03	10,1	11,19
06 - 08	16	4,49	106	86,89	122	0,019	3,60	4,5	5,39
09 - 10	6	1,69	33	0,00	39	0,000	1,69	1,7	1,69
MAYOR A 10	5	1,40	17	77,27	22	0,025	0,23	1,4	2,58
TOTAL	63	18	293	82	356				

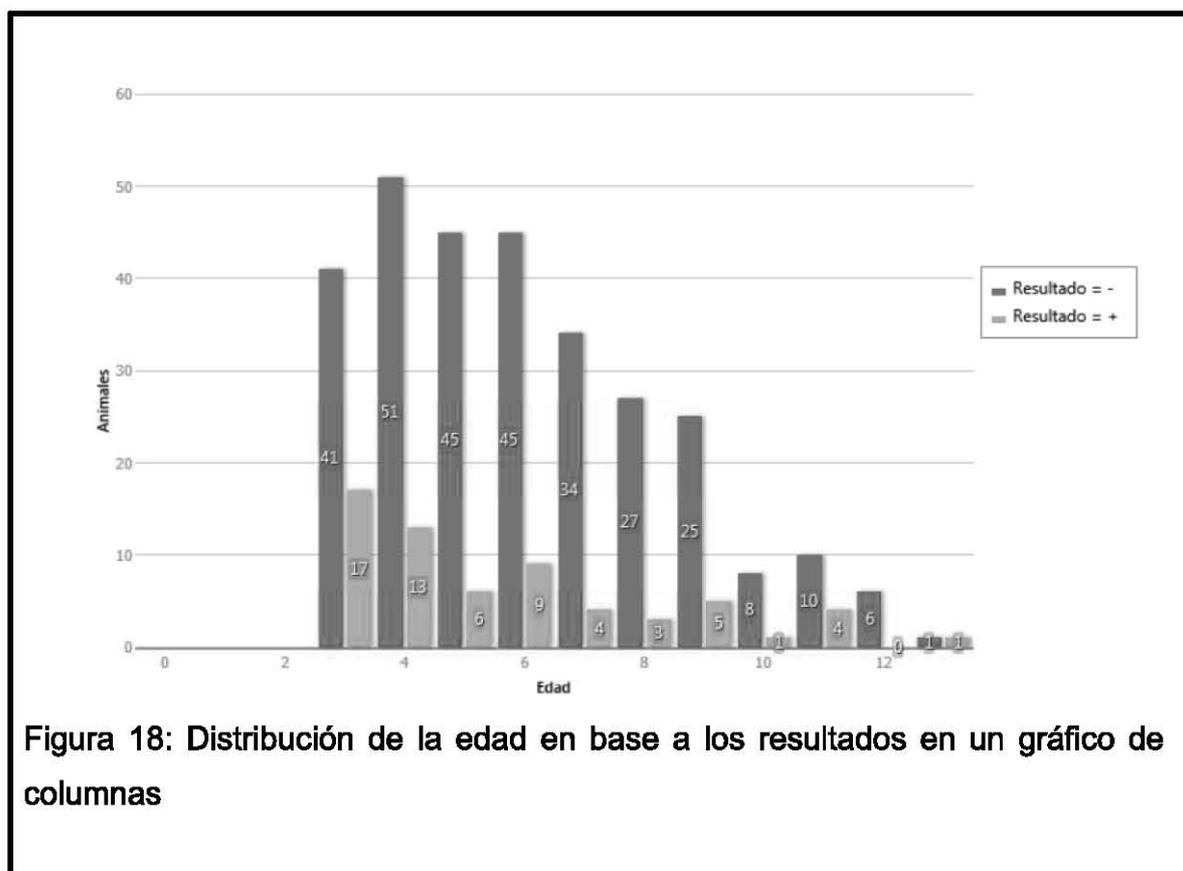
Como se puede observar en la tabla 9 se realizó el muestreo en animales únicamente mayores a tres años y al haber sido un muestreo aleatorio de animales en ordeño, esto coincido con que el mayor número de animales muestreados se encontraban entre los 3 a 5 años y el menor número en los animales mayores a 10 años.

Es por eso que se obtuvo que el 20% es decir 36 de los animales de tres a cinco son seropositivos, esta prevalencia disminuye en un 5% en los animales de 6 a 10 años y finalmente se eleva al 22% en los animales mayores a 10 años. Estos resultados son congruentes con la evolución de la enfermedad.

Según Straub la edad no influye para que exista la presencia de la infección, sin embargo la infección es más común cuando los animales son jóvenes, la seropositividad va a depender de las diferentes circunstancias dentro de los establos (Burny, 1999).

En un estudio realizado la prevalencia fue baja en los animales menores a 6 meses aumentando progresivamente y alcanzando su punto más alto en los animales que tenían entre 3 y 4 años (Reinhardt, Hochstein-Mintzel, Riedemann, Leal, & Niedda, 1988). Un estudio realizado en Irán también arrojó resultados prevalentes altos en animales de 4 años ( Morovati, Hassan, Shirvani, & Norman, 2008).

Un estudio realizado en Venezuela verifica lo anteriormente señalado en razón que animales de 4 y 5 años dieron resultados seropositivos en una proporción de 21% y 65% respectivamente. (Nava, Obando, & Bracamonte, 2012)



#### 4.7 Seroprevalencia Por Estado Del Productivo Del Animal

Tabla 11: Tabulación De Los Resultados En Base Al Estado Productivo De Los Animales

Estado	Resultados			
	+		-	
	N°	%	N°	%
<b>Producción</b>	59	16,9	235	65,8
<b>Seca</b>	4	1,1	58	16,2
<b>Total</b>	63	18,0	293	82,0

Se determinó que el 94% de los resultados positivos pertenecen a animales en ese entonces en producción o trabajo, aunque en realidad el estado de la enfermedad (positivo o negativo) no se modificaría al cambiar una condición

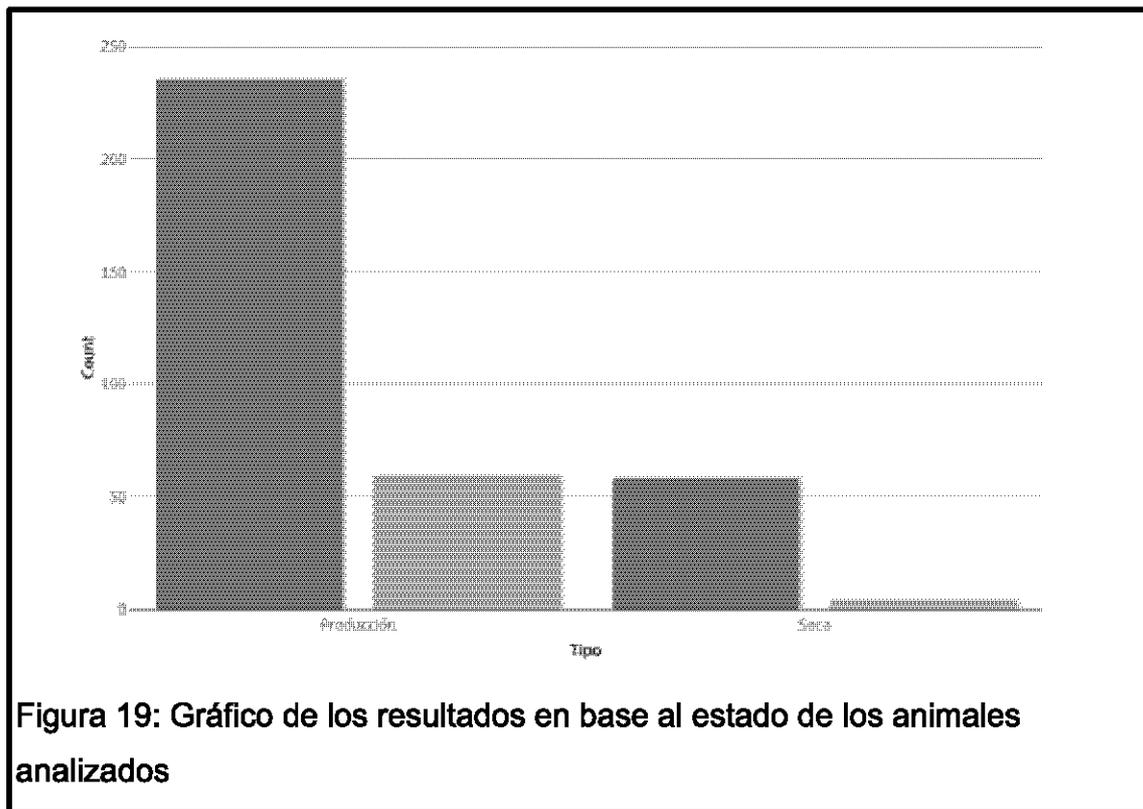
(trabajo o descanso). Sin embargo el periodo productivo podría hacerlos mayormente susceptible a la enfermedad.

En animales que se encuentran en gestación pueden transferir el virus al feto por medio de la placenta, aunque estudios demostraron que esto puede ocurrir en menos del 10% de las preñeces de animales infectados (Rebhun, Guard, & Richards, 1999).

Existen estudios que comprueban que no existe relación entre la seropositividad de las madres y sus hijos, es decir un ternero seropositivo puede provenir de una madre sana (Reinhardt, Hochstein-Mintzel, Riedemann, Leal, & Niedda, 1988, pág. 627).

Los animales seropositivos presentan un descenso en la producción de la leche, así se demuestra en el estudio realizado en Valdivia en donde explica que de los predios estudiados se puede perder un promedio de 156 kg de leche, corregida a 3,5 % de materia grasa en 305 días, por animal positivo, lo que representa una fuerte pérdida económica (Reinhardt, Hochstein-Mintzel, Riedemann, Leal, & Niedda, 1988).

Muchos autores acusan a la enfermedad de causar disminución en la producción láctea y los estudios lo confirman.



Lübke en 1941 opino que la prevalencia aumentaba en animales de alta producción lechera. (Burny, 1999). También Carignano y Roldán en Argentina establecieron un 95% de prevalencia de LBE en las razas netamente lecheras (Carignano, Roldán, Trono, Miretti, & Poli, 2012).

Otro estudio realizado en México en el que compara la prevalencia de la infección entre animales en producción de leche y de carne sostiene que las vacas de alta producción de leche eran las de mayor prevalencia de LBE el 48% exactamente (58/120) las que producían de 21 a 30 litros, también se encontró más predios negativos entre los dedicados a la producción de carne que los dedicados a la producción de leche (Cordova, 2003).

Otro reporte sostiene que existe un descenso en la producción de leche únicamente cuando la infección está en estado de linfocitosis persistente (Trainin & Brenner, 2008).

#### **4.8 Análisis De Resultados Obtenidos Y Relación Con Los Factores De Riesgo**

Los predios del estudio cubren las características como: un promedio de 159 animales (250 – 130 animales), se dedican a la lechería, produciendo 11000 litros de leche que representa el 33 % de la producción-día del cantón (INEC, 2000).

Los terneros jóvenes son separados a los 6 meses de edad de los adultos, se alimentan con la leche de cada madre (no con un pool de leche, ni sustitutos lácteos); Por lo que al no tener identificadas a las madres positivas de las negativas, se hace posible la transmisión del virus por medio del calostro a la cría.

En el lugar de estudio (Chambo) solo el 17% de los propietarios de predios ganaderos tienen estudios superiores (INEC, 2000), los restantes debido a su grado de cultura aceptan lo que los visitantes agropecuarios les recomiendan desconociendo de aquellas enfermedades que epidemiológicamente afectan a estas regiones, en este caso LBE.

En las haciendas se destaca el uso de agujas estériles desechables e individuales, al momento de los chequeos ginecológicos el uso de un guante por cada animal; sin embargo no todos los predios realizan desinfección del material quirúrgico entre una práctica a otra. Esto puede explicar el contagio dentro del predio.

En cuanto al manejo, todas las haciendas manejan los predios con un sistema semi extensivo, mayormente con pastoreo, y se demostró por Kavanagh que los animales en verano cuando pasan pastoreando presentan una prevalencia más baja que en invierno cuando se encuentran estabulados (Burny, 1999).

En este cantón el intercambio de animales es un factor de riesgo altamente predisponente puesto que se realiza sin control o vigilancia de la enfermedad. Este resultado concuerda con un estudio realizado en Argentina en donde los predios cerrados arrojaron 0% de resultados serpositivos (Albéitar PV, 2002).

En el sector no realizan un periodo de cuarentena completo, con exámenes clínicos y de laboratorio para descartar al animal adquirido como una posible fuente de infección de cualquier enfermedad.

Agrocalidad se está formando en el cantón por esto se espera que la sanidad sea atendida tras su formación.

Mantilla menciona que una de las principales causas para que el virus ingrese a un hato es la falta de información de los ganaderos acerca de la enfermedad asociado a la introducción de animales sin un análisis clínico y confirmación del laboratorio (Mantilla, Instituto Nacional de Higiene, 2010).

## **CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

La presente investigación tiene como objetivo determinar la prevalencia de Leucosis Bovina Enzoótica en el cantón Chambo y se encontró una prevalencia serológica o aparente del 18% y se calculó una prevalencia real del 23%.

El 90% de los predios se encuentran infectados con el VLB.

El 61% de los resultados positivos pertenecen a animales Holstein que es una raza especializada en producción de leche.

El 20% de los animales de 3 a 5 años son positivos y el 22% de los animales mayores a 10 años también lo son, es decir los resultados concuerdan con el curso de la enfermedad.

Se comprobó que el VLB, en relación con las variables, edad y estado, no presenta diferencias estadísticas significativas, por lo tanto no hay asociación causal entre la presencia de anticuerpos contra el VLB y estas variables.

Uno de los factores a los que se atribuye la prevalencia obtenida es el desconocimiento de la enfermedad que trae como secuela la movilización de animales sin realizar vigilancia epidemiológica.

El 23% de la prevalencia real de la presente investigación tiene una relación no adyacente con prevalencias de otros sectores del país como Azuay en donde se obtuvo el 6,1% y Manabí que obtuvo el 4,1%, sin embargo los resultados de la presencia de la enfermedad son fluctuantes en toda América Latina dado que en Chile se obtuvo el 35%.

## **5.2. Recomendaciones**

En el cantón Chambo se debe implementar un programa de prevención y control de la leucosis bovina enzoótica que incluya aspectos básicos de manejo sanitario y la promoción de contratación de servicios profesionales que incluyan no solamente tecnología diagnóstica, sino también la vigilancia de los diversos procesos patológicos mejorando así las posibilidades comerciales nacionales e internacionales.

En la propiedad que supera el 10% del ganado bovino positivo se recomienda manejarlos por separado del resto de animales. Limitar la movilización de los mismos entre fincas sin la realización de los controles serológicos adecuados, se sugiere que los productores, a través de organizaciones gremiales o de cooperativas, establezcan un mecanismo de muestreo previo a la movilización e introducción de animales en los hatos.

En los predios que tienen del 1% al 4% de animales infectados se recomienda proceder a la eliminación de los mismos y de ser posible testar a todos los animales de cada predio. De igual manera a los animales de los pequeños productores que fueron excluidos de este estudio.

Para completar nuestra investigación se recomienda hacer un análisis de los animales menores a tres años mediante ELISA que es la indicada en animales menores a los 14 meses y así relacionar los resultados con nuestro estudio para determinar claramente el pico de diseminación de la enfermedad.

## Referencias

- AGROCALIDAD. (2013). Sanidad Animal. Recuperado el 20 de Noviembre de 2013, de <http://www.agrocalidad.gob.ec/sanidad-animal/>
- Albéitar PV. (03 de 04 de 2002). Albéitar Portal Veterinario. Recuperado el 01 de 1 de 2014, de Prevalencia de la infección por el virus de la leucosis bovina (BLV) en tambos de los partidos de General Pueyrredón y Balcarce: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3333/ARTICULOS-RUMIANTES-ARCHIVO/Prevalencia-de-la-infecci&oacuten-por-el-virus-de-la-leucosis-bovina-BLV-en-tambos-de-los-partidos-de-General-Pueyrred&oacuten-y-Balcarce.html>
- Alfonso, R., Almansa, J. E., & Barrera, J. d. (1998). Prevalencia serológica y evaluación de los factores de riesgo de leucosis bovina enzoótica en la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté y de Chiquinquirá, Colombia. Recuperado el 01 de 02 de 2014, de Revista Científica - OIE: <http://www.oie.int/doc/ged/D9221.PDF>
- Andrews, A. H. (2005). Sanidad del Ganado Vacuno Lechero. Zaragoza - España: Acribia, S.A.
- Anónimo. (2006). Ensayos Inmunológicos. Recuperado el 20 de abril de 2014, de <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/Inmunologia.htm>
- Anónimo. (N° 1 de Vol 20 de 2013). Prevalence of enzootic bovine leukosis in the New Zealand dairy cattle population. Recuperado el 01 de 01 de 2014, de Surveillance - Veterinary and Animal Science: <http://www.sciquest.org.nz>
- Asandri, M. G. (2008). Leucosis Bovina. Recuperado el 20 de Noviembre de 2012, de Enfermedades limitantes para exportación de ganado en pie.: <http://www.santaelena.com>
- Avila, M. (12 de Diciembre de 2013). Control Contra Leucosis Bovina Enzoótica. Recuperado el 2014 de 01 de 09, de Prezi: [http://prezi.com/rd\\_4vd6iu1ml/control-contra-leucosis-bovina-enzoótica/](http://prezi.com/rd_4vd6iu1ml/control-contra-leucosis-bovina-enzoótica/)
- Baruta, D. A. (2011). Leucosis Bovina Enzoótica. Ciencia Veterinaria, 9-16.

- Bruner, B. C., Scott, L., & Timoney, E. M. (1988). *Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals* 8va. Estados Unidos: Cornell University Press.
- Burgos Zambrano, J. S., & Zambrano Cano, J. R. (5 de agosto de 2013). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí " Manuel Félix López". Recuperado el 21 de abril de 2014, de <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/123456789/321>
- Burny, A. (1999). *Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus*. Recuperado el 2013 de 11 de 10, de Google Books: [http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=4n-qoxMCcNoC&oi=fnd&pg=PA251&dq=Enzootic+Bovine+Leukosis+and+Bovine+Leukemia+Virus+burny&ots=b4oHdBR5Cd&sig=vZr\\_pJS0-Wyk2g\\_dbisjEDHWyZs#v=onepage&q=Enzootic%20Bovine%20Leukosis%20and%20Bovine%20Leukemia%20Virus](http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=4n-qoxMCcNoC&oi=fnd&pg=PA251&dq=Enzootic+Bovine+Leukosis+and+Bovine+Leukemia+Virus+burny&ots=b4oHdBR5Cd&sig=vZr_pJS0-Wyk2g_dbisjEDHWyZs#v=onepage&q=Enzootic%20Bovine%20Leukosis%20and%20Bovine%20Leukemia%20Virus)
- Calderón, R. V. (Junio de 2007). UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. Recuperado el 30 de 01 de 2014, de Curso de Biotecnología: <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>
- Cano Celada, P. J., & Camacho Gonzales, L. (2005). FMVZ UNAM. Recuperado el 01 de 12 de 2013, de Leucosis Viral Bovina: [http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Prod\\_Animal/Documentos/2012/Enfermedades/Leucosis%20bovina%20enzo%C3%B3tica.%20manual%20de%20la%20OIE.pdf](http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Prod_Animal/Documentos/2012/Enfermedades/Leucosis%20bovina%20enzo%C3%B3tica.%20manual%20de%20la%20OIE.pdf)
- Carignano, H., Roldán, D., Trono, K., Miretti, M., & Poli, M. (2012). Distribución de frecuencias alélicas del gen Bola-DRB3 en Animales VLB negativo y positivos. *Jornadas Latinoamericanas sobre Leucosis Bovina* (pág. 27). Buenos Aires: Universidad de la Plata.
- Carrera, J. L., Arévalo, F., Tarazona, A., & Cepeda, M. (15 de 11 de 2008). Prevalencia de la seropositividad a la leucosis bovina mediante la técnica de ELISA indirecta en hatos lecheros ubicados en la Mesa de los Santos, Santander. Recuperado el 2014 de 03 de 11, de Universidad Cooperativa de Colombia: <http://wb.ucc.edu.co/sdmvz/files/2013/06/articulo-1-vol-5-n-11.pdf>

- Chamizo, E. G. (07 de 2005). Redvet. Recuperado el 07 de 02 de 2014, de Revista electronica de veterinaria:  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070705/070516.pdf>
- Coetzer, J. A., & Tustin, R. C. (2005). *Infectious Diseases of Livestock* 2ed. Oxford: Oxford University Press, Incorporated.
- Coetzer, J., & Tustin, R. C. (2005). *Infectious Diseases of Livestock*. USA: Oxford University Press.
- Coffin, J. M., Hughes, S. H., & Varmus, H. E. (1997). *Retroviruses*. Estados Unidos: Cold Spring Harbor Laboratory.
- Cordova, D. (12 de 2003). Enfermedades que provocan abortos en bovinos. Recuperado el 01 de 01 de 2014, de Cofupro:  
<http://www.cofupro.org.mx/cofupro/images/contenidoweb/indice/pdf/Ganado/03-12-BOVINOS.pdf>
- Dirksen, G., Grunder, H.-D., & Stober, M. (2005). *Medicina interna y cirugía del bovino* 4ed. Buenos Aires: Intermédica.
- Esteban, E., & Juliarena, M. (2012). Los Bovinos Naturalmente Resistentes Al Virus De La Leucosis Bovina. *Jornadas Latinoamericanas Sobre Leucosis Bovina* (pág. 27). Buenos Aires: Universidad Nacional de la Plata.
- Felmer, R., Zuñiga, J., López, A., & Miranda, H. (2009). Prevalencia y distribución espacial de brucelosis, leucosis bovina, diarrea viral bovina y rinotraqueítis infecciosa bovina a partir del análisis ELISA de estanques prediales en lecherías de la IX Región, Chile. Recuperado el 11 de 11 de 2013, de Scielo: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2009000100003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2009000100003&script=sci_arttext)
- Forbes, B. A. (2009). *Diagnóstico Microbiológico* 12 Ed. Buenos Aires: Medica Panamericana.
- Fuentes, X., Castiñeiras, M., & Queraltó, J. M. (1998). *Bioquímica clínica y Patología molecular* 2da Ed. Barcelona: Reverté, S.A.
- GAD Chambo. (2010). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Chambo*. Chambo.

- Gattii, M. (2012). Departamento Técnico Laboratorios Santa Elena. Recuperado el 2014 de 01 de 09, de VIRBAC:  
[http://www.santaelena.com.uy/uc\\_101\\_1.html](http://www.santaelena.com.uy/uc_101_1.html)
- Giraud, J., Bérnago, E., Schneider, M., Margano, G., Macias, A., Sticotti, E., y otros. (2010). Sitio Argentino de Producción Animal - Leucosis Bovina. Recuperado el 2013 de 11 de 11, de Universidad Nacional Del Centro De La Provincia De Buenos Aires:  
[http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Prod\\_Animal/Documentos/2012/Sanidad%20Ganadera/Giraud%20et%20al%202010%20R%C3%ADo%20Cuarto.pdf](http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Prod_Animal/Documentos/2012/Sanidad%20Ganadera/Giraud%20et%20al%202010%20R%C3%ADo%20Cuarto.pdf)
- Google Maps. (2014). GOOGLE MAPS. Recuperado el 14 de 01 de 2014, de CHAMBO: <https://maps.google.com.ec/>
- Grau, M., & Monti, G. (2010). Prevalencia serológica predial e intrapredial para el virus de la leucosis bovina (VLB). Recuperado el 10 de 01 de 2014, de Scielo: <http://www.scielo.cl/pdf/amv/v42n2/art10.pdf>
- Gutierrez, C., & Artemo, L. (2012). SINAB. Recuperado el 09 de 02 de 2014, de Impacto del virus de la leucosis bovina en la producción de leche:  
<http://www.bdigital.unal.edu.co/9308/>
- Gutiérrez, G. (2010). Estudio de la dinámica de la infección perinatal con BLV en un rodeo de tambo de alta prevalencia. Recuperado el 07 de 01 de 2014, de Biblioteca Digital FCEN-UBA:  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_4809\\_Gutierrez.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4809_Gutierrez.pdf)
- Hernandez, D., Posso, A., Giovambattista, G., & Alvarez, L. (17 de 03 de 2013). Evaluación De La Resistencia Genética Del Ganado Criollo Hartón. Recuperado el 01 de 01 de 2014, de Universidad de Córdoba:  
[http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo\\_110\\_lin\\_photo/articulos/2011/Herrera2011\\_1\\_169\\_172.pdf](http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo_110_lin_photo/articulos/2011/Herrera2011_1_169_172.pdf)
- Hernández-Herrera, D., Posso, A., Benavidez, J., Muoz, J., Giovambattista, G., & Álvarez, Á. (23 de 12 de 2011). Detección del virus de la leucosis bovina en ganado criollo colombiano mediante PCR-anidado. Recuperado el 01 de 01 de 2014, de Universidad Nacional de Colombia:

[http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/28845/29153](http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/28845/29153)

INEC. (2000). Instituto Nacional De Estadística Y Censos. Recuperado el 3 de Octubre de 2013, de Resultados Nacionales con resúmenes Provinciales CNA 2000:

[http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com\\_content&view=article&id=111&Itemid=126](http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=111&Itemid=126)

Instituto de Virología - C.I.C.V. - INTA. (30 de Noviembre de 2007).

Inmunodifusión. Recuperado el 24 de Noviembre de 2013, de Curso de Técnicas de Diagnóstico:

[http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet\\_enf\\_inf\\_tripod/vetenfinftripodcomar/6INMUNO.htm](http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_enf_inf_tripod/vetenfinftripodcomar/6INMUNO.htm)

Instituto Geográfico Militar. (5 de 02 de 2014). Geoportal del Instituto

Geográfico Militar. Recuperado el 5 de 05 de 2014, de

[http://www.geoportaligm.gob.ec/visor\\_regme/](http://www.geoportaligm.gob.ec/visor_regme/)

Koneman, E. W., Allen, S., Jaden, Procop, & Woods. (2008). Konemas

Diagnóstico Microbiológico 6ed. Argentina: Médica Panamericana.

Mantilla, D. (13 de 01 de 2010). Características de los Virus. (M. Pineda, Entrevistador)

Mantilla, D. (13 de 01 de 2010). Instituto Nacional de Higiene. (M. Pineda, Entrevistador)

Merck & CO., INC. (2007). Manual Merck de Veterinaria 6ed. España: Oceano.

Meza, G. (2010). Leucosis Bovina y su potencial impacto en la salud humana.

Recuperado el 2013 de 11 de 22, de PDF - world: <http://download.pdf-world.net/LEUCOSIS-BOVINA-Y-SU-POTENCIAL-IMPACTO-EN-LA-SALUD-HUMANA-pdf-e3930.html>

Ministerio de Coordinación de Desarrollo Social. (2010). Mapa de la

Desnutrición Crónica en el Ecuador. Recuperado el 25 de 01 de 2014,

de Ministerio de Coordinación de Desarrollo Social:

<http://mapadesnutricion.org/>

- Mohammadi, V., Atyabi, G., & Nikbakht, S. (2011). Seroprevalence of Bovine Leukemia Virus in Some Dairy Farms in Iran. Recuperado el 10 de 01 de 2010, de <http://www.idosi.org/gv/GV7%283%2911/17.pdf>
- Morales, N. C., & Escudero, L. M. (2013). Determinación de la prevalencia e incidencia de DVB de seis hatos ganaderos de la parroquia Canuto. Quito: Udla.
- Moratorio, G. (2012). Aspectos Genómicos y Evolutivos del Virus de la Leucosis Bovina. Recuperado el 11 de 11 de 2013, de Centro de Documentación y Biblioteca de Facultad de Ciencias - UdelaR: [www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/biol/uy24-16011.pdf](http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/biol/uy24-16011.pdf)
- Murray, P. R., Tenover, S. R., & Tenover, M. A. (2009). Microbiología Médica 6a ed. Madrid : Gea Consultoria Editorial.
- MVZ UNAM. (12 de 11 de 2008). Enciclopedia Bovina. México D.F., México. Recuperado el 08 de 10 de 2013, de Leucosis Bovina: [http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e\\_bovina/04LeucosisBovina.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04LeucosisBovina.pdf)
- Nava, Z., Obando, C., & Bracamonte, M. (06 de 2012). Scielo. Recuperado el 07 de 02 de 2014, de Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-65762012000100003](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762012000100003)
- Nikbakht, G., Rabbani, M., Emam, M., & Rezaeifard, M. (28 de Julio de 2010). Serological and genomic detection of bovine leukemia virus in. Recuperado el 09 de 02 de 2014, de International Journal of Veterinary Research: <http://ijvm.ut.ac.ir>
- OIE. (2010). Código Sanitario para los Animales Terrestres . Recuperado el 2013 de 12 de 12, de LEUCOSIS BOVINA ENZOÓTICA: [http://web.oie.int/esp/normes/mcode/es\\_sommaire.htm](http://web.oie.int/esp/normes/mcode/es_sommaire.htm)
- OIE. (2013). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas. Recuperado el 25 de 01 de 2014, de [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/1.01.01\\_COLLECTION\\_DIAG\\_SPECIMENS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/1.01.01_COLLECTION_DIAG_SPECIMENS.pdf)
- Paul, E., & Gibbs, J. (1987). Enfermedades Viricas De Los Animales De Abasto. EEUU: Acribia.

- Pourquier Institut. (2014). Enzootic Bovine Leukosis (EBL)/Bovine Leukemia Virus (BLV). Recuperado el 30 de 01 de 2014, de [http://www.idexx.com/view/xhtml/en\\_us/livestock-poultry/pourquier-history.jsf](http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/livestock-poultry/pourquier-history.jsf)
- Puma, M. S., & Yanza, M. (2013). Prevalencia de Leucosis bovina en las tres parroquias Orientales del Cantón Paute provincia del Azuay. Recuperado el 8 de 03 de 2013, de Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/361/1/tesis.pdf.pdf>
- Rebhun, W. C., Guard, C., & Richards, C. M. (1999). Enfermedades del ganado vacuno lechero. Zaragoza - España: ACRIBIA.
- Reinhardt, G., Hochstein-Mintzel, V., Riedemann, S., Leal, H., & Niedda, M. (27 de 10 de 1988). Revista Medicina Veterinaria. Recuperado el 01 de 01 de 2014, de B 35, 178-185, Valdivia: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0450.1988.tb00485.x/abstract>
- Ron, J. (2011). Despistaje de enfermedades infecciosas animales. Epidemiología (pág. 60). Quito: Udla.
- S.E.N.A.S.A. (2004). Manual de procedimientos Leucosis Bovina Enzoótica. Recuperado el 13 de Diciembre de 2013, de <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=924&io=3978>
- Sota, D. M. (Mayo de 2005). Manual de Procedimientos Leucosis Bovina Enzoótica. Recuperado el 11 de Diciembre de 2013, de [http://www.intranet.senasa.gov.ar/intranet/imagenes/archivos/dnsa/manuales\\_de\\_procedimiento/09%20Leucosis.pdf](http://www.intranet.senasa.gov.ar/intranet/imagenes/archivos/dnsa/manuales_de_procedimiento/09%20Leucosis.pdf)
- Tineo Jara, C. P. (28 de 11 de 2013). PREZI PRESENTACIONES. Recuperado el 09 de 12 de 2013, de Control Contra Leucosis Enzoótica: [http://prezi.com/tyz\\_hq\\_j2uwk/copy-of-control-contra-leucosis-bovina-enzootica/](http://prezi.com/tyz_hq_j2uwk/copy-of-control-contra-leucosis-bovina-enzootica/)
- Toma, B., Eloit, M., & Savey, M. (1990). Las Enfermedades Animales por Retrovirus. Revista Científica Tech Off, 43.

Trainin, Z., & Brenner, J. (2008). The Direct And Indirect Economic Impacts Of Bovine Leukemia Virus Infection On Dairy Cattle. Recuperado el 01 de 10 de 2013, de ISRVAM: <http://www.isrvam.org>

Universidad Autónoma de Nuevo León. (Agosto de 2009). Slideshare. Recuperado el 23 de Noviembre de 2013, de Familias de Virus (hospedero y etimología): <http://www.slideshare.net/Luzy147/familias-de-virus-hospedero-y-etimologia>

Vallejo, M. (1991). Estudios sobre Leucosis Bovina en Ganaderías del Litoral Ecuatoriano. Guayaquil.

Voet, D., & Voet, J. G. (2006). Bioquímica. Buenos Aires: Panamericana.

## **ANEXOS**

# ANEXO 1

## Toma de Muestras



### Toma de Muestras



**ANEXO 2****Análisis de Laboratorio****Procesamiento****Materiales****Reactivos****Estufa para incubar las muestras**

**ANEXO 3****Test Pourquoi AGID Leukemia**

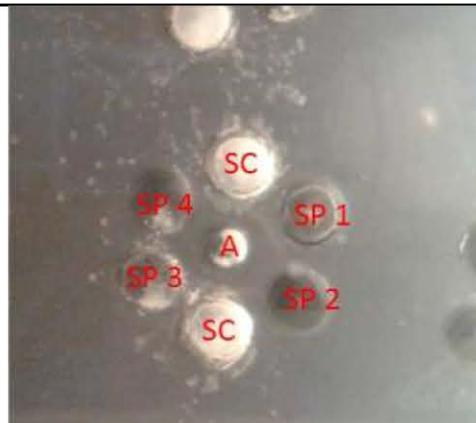
Antígeno BLV	Control positivo	Gel Agar
		

## ANEXO 4

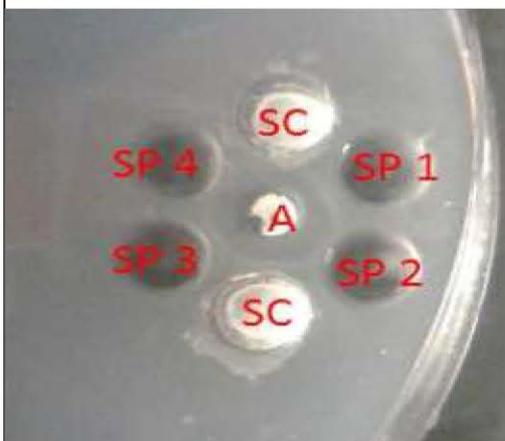
### Resultados



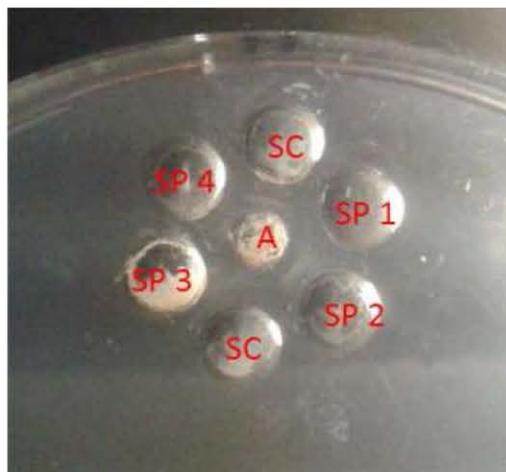
**Suero control (SC) reacciona con el Antígeno (A) mas no hay reacción de los sueros problemas (SP).**



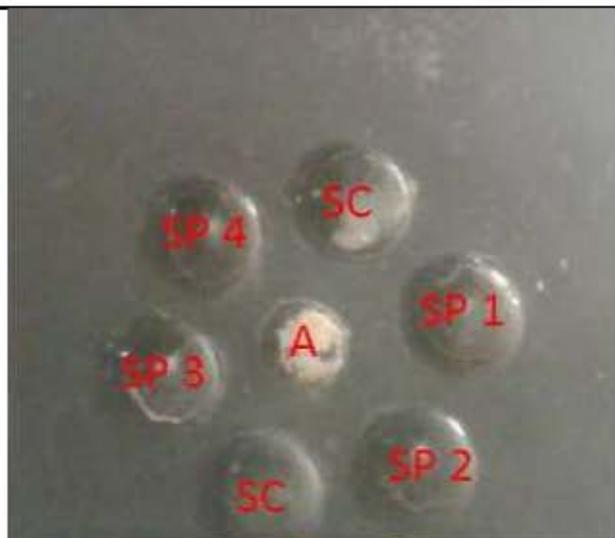
**Suero problema (SP) 1 positivo, reacción con los sueros control, sueros problema 2,3,4 negativos**



**Sueros Control (SC) y sueros problema (SP) reaccionan frente al antígeno, todas las muestras son positivas.**



**Reacción positiva de los sueros problema (SP) 1 y 2, reacción en los sueros control, sueros problema 3 y 4 negativa.**



**Sin reacción en ninguno de los sueros, estas muestras se repitio.**

## ANEXO 5

### ENCUESTA

**Datos Informativos:**

Provincia:.....

Cantón:.....

Parroquia:.....

Nombre Del Predio:.....

Nombre Del Propietario:.....

**Respecto Al Predio Y Ganado:**

Población Total De Animales: .....

Vacas En Producción: .....

Vacas Secas: .....

Vacas Fierro: .....

Terneros: .....

Reproductores: .....

Tipo De Explotación:

     Extensiva 

     Intensiva 

Otro:.....

Tipo De Predio

     Abierto 

     Cerrado 

Método Reproductivo

     Inseminación Artificial 

     Monta Directa 

Sistema De Ordeño

     Manual 

     Mecánico 

Cálculo De Animales A Testar:

## ANEXO 6

	Predios	Producción		%	Seco		%	Total Animales	Muestras			Resultados	
		Total	> 3 años		Total	> 3 años			Producción	Seco	Total	+	-
1	Airon	89	85	89	11	11	11	96	43	6	48	2	46
2	Virginia	61	60	78	17	17	22	77	30	9	39	0	39
3	Pucate	82	79	80	22	20	20	99	40	10	50	8	42
4	Bayushic	52	51	80	13	13	20	64	26	7	32	3	29
5	Rocon	58	45	69	20	20	31	65	23	10	33	5	28
6	Moraspamba	98	91	88	13	13	13	104	46	7	52	27	25
7	Cubillin	53	50	82	11	11	18	61	25	6	31	8	23
8	Guayllabamba	66	65	90	7	7	10	72	33	4	36	8	28
9	San Francisco	59	58	83	12	12	17	70	29	6	35	2	33
	<b>TOTALES</b>							708	292	62	356	63	291

