



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y AGRONOMÍA

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

Determinación Seroprevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina en Predio, comuna de Curacaví, Santiago, Chile.

Trabajo de titulación para ser presentado
como requisito para optar al título de
Médico Veterinario.

Profesores Responsables:

Profesor Guía: Dr. Roberto Muñoz

Profesor Corrector: Dr. Vicente Aljaro

ALVARO MORALES DÍAZ

SANTIAGO- CHILE

2018

Agradecimientos

Primeramente quisiera agradecer a Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mí vida, por los triunfos y momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más, ya que sin su bendición y amor todo hubiera sido un fracaso.

Le agradezco a mis padres, hermanos, amigos, familia de mi señora, porque ellos han sido parte importante en mi formación integral como ser humano y siguen contribuyendo para que cada día mejore. A mis padres por haberme proporcionado la mejor educación y lecciones de vida, por cada día hacerme ver la vida de una forma diferente y confiar en mis decisiones y conocimientos. En especial a mi señora por ser un pilar demasiado importante en mi vida y por haberme entregado el más hermoso tesoro, mi hija Sofia.

Le agradezco a la universidad por haberme aceptado ser parte de ella y abiertos sus puertas para poder estudiar mi carrera así como también a todos los docentes por haber transmitido sus conocimientos.

Agradecer de manera muy especial a mi tutora en mis prácticas tanto básica como profesional, Doctora Andrea Abdala García; mí formación se la debo a sus conocimientos y la paciencia que tuvo en todo momento para enseñar y confiar siempre en mí.

Y para finalizar, doy las gracias a todos mis compañeros de clases, por haberme brindado su compañerismo, amistad, apoyo moral y a los lectores de mi tesis, por permitir que mis expectativas, investigaciones y conocimientos, incurran dentro de su repertorio de información.

Alvaro Andrés Morales Díaz

Dedicatoria

Dedico esta tesis a Dios, por brindarme la fuerza vital para permitirme llegar hasta ésta etapa.

A mi hija y señora, quienes me inspiran a seguir adelante.

Del mismo modo a mis padres, hermanos, por apoyarme siempre de manera incondicional y abnegada, por ser mi ejemplo en cuanto a superación, perseverancia, tenacidad.

Alvaro Andrés Morales Díaz

Resumen

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) es una enfermedad de distribución mundial, siendo su incidencia mayor en los sistemas de producción de leche.

La LEB es provocada por un virus que puede llegar a infectar a un elevado porcentaje de los bovinos de un establecimiento. Sin embargo sólo un bajo número de ellos, generalmente mayores de tres años, pueden desarrollar síntomas clínicos de la enfermedad caracterizada por la presencia de tumores (linfosarcoma) los que llevan casi siempre a un desenlace mortal. El resto de los bovinos infectados que no desarrollan la enfermedad clínica, constituyen la principal fuente de contagio de la infección, puesto que son portadores de por vida del virus.

El objetivo de este trabajo fue obtener la prevalencia de LEB, en un predio ubicado en la comuna de Curacaví de la ciudad de Santiago, Región Metropolitana, Chile; mediante el kit de inmuno-ensayo de bloqueo INGEZIM BLV COMPAC 2.0 ® para la detección de anticuerpos específicos frente al virus de la LEB en el suero.

Para la toma de muestra fueron sometidos al estudio 42 animales del predio, que superan los 6 meses de edad, cada uno de ellos identificado con crotal DIIO.

Posteriormente las muestras fueron procesadas y sometidas al ensayo en el laboratorio de la Cooperativa Agrícola Lechera de Santiago (CALS). Los resultados fueron: 3 individuos reaccionantes al kit, todos ellos sin signos clínicos compatibles con la enfermedad. Con tal número de reaccionantes el predio en estudio posee una prevalencia del 7,14% al VLEB.

Índice General: Índice de contenidos

Agradecimientos -----	pág.1
Dedicatoria -----	pág.2
Resumen -----	pág.3
1.- Introducción -----	pág.6
2.- Revisión bibliográfica -----	pág.7
2.1.- Antecedentes Generales -----	pág.7-8
2.2.- Etiología -----	pág.8
2.3.- Transmisión -----	pág.8-9
2.4.- Patogénesis -----	pág.9
2.5.- Signos Clínicos -----	pág.9-10
2.6.- Diagnóstico -----	pág.10
2.7.- Control y Prevención -----	pág.11
2.8.- Situación y Prevalencia mundial -----	pág.11-12
2.9.- Situación y Prevalencia en Chile -----	pág.12-13
2.10.- Importancia Económica -----	pág.13-14
3.- Hipótesis -----	pág.15
3.1.- Objetivos -----	pág.15
3.1.1.- Objetivos Generales -----	pág.15
3.1.2.- Objetivos Específicos -----	pág.15
4.- Materiales y Métodos -----	pág.15-16
5.- Presentación de Resultados -----	pág.17
5.1.- Análisis y Discusión de Resultados -----	pág.18-20
6.- Conclusiones -----	pág.21
7.- Bibliografía -----	pág.22-25

- Índice de Tablas

Cuadro N°1: Resultados Test de ELISA de bloqueo,
animales positivos y negativos ----- pág.17

- Índice de Figuras

Gráfico N°1.- Seroprevalencia del diagnóstico de LEB
en porcentaje de los animales muestreados ----- pág.18

1.-Introducción

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) es una enfermedad infecciosa producida por un retrovirus. La principal característica de esta patología se debe a su mecanismo linfoproliferativo, en donde la mayoría de los animales cursan con signos subclínicos, mientras que un porcentaje menor la desarrolla de manera clínica. Ésta, afecta principalmente a bovinos mantenidos en un sistema de hacinamiento y de constante estrés, produciendo la disminución de su respuesta inmune. Existen distintas maneras de transmisión, en la cual se considera la vía iatrogénica de mayor importancia en su diseminación.

Es una enfermedad de distribución mundial con particular predilección por sistemas productivos lácteos intensivos. Desde el punto de vista sanitario y económico la LEB tiene un impacto significativo económico por los costos en diagnóstico, descarte de animales, disminución de los índices productivos, impacto en índices reproductivos, tratamientos de patologías concomitantes, entre otros (Bautista *et al.*, 2012).

El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de la infección por el virus de Leucosis Enzoótica Bovina en 42 bovinos sobre los 12 meses de edad, que pertenecen a un predio, ubicado en la comuna de Curacaví, Región Metropolitana, Santiago. Para la obtención de los resultados se utilizó como prueba de diagnóstico el test de ELISA de bloqueo INGEZIM-BLV COMPAC 2.0.

La hipótesis planteada indica que en el predio en estudio debería tener un porcentaje menor al 4% de seroprevalencia de infección por virus de LEB. Esta deberá ser aceptada o rechazada de acuerdo a la aplicación de la siguiente fórmula epidemiológica de seroprevalencia:

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{Número de animales enfermos}}{\text{Número de animales muestreados}} \times 100$$

(Pardo, 2006)

2.- Revisión Bibliográfica

2.1 Antecedentes generales

La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una patología infecciosa, de curso crónico e inaparente, ampliamente distribuida, ocasionada por el virus de la LEB (VLEB), un Deltaretrovirus tipo C oncogénico. Este virus tiene marcado tropismo por los linfocitos B del bovino, donde prolifera trayendo como resultado un animal seropositivo e infectado de por vida (OIE, 2008). Se ha descrito una fase inicial de la enfermedad con seroconversión positiva de anticuerpos, contra el antígeno de superficie del virus, la glicoproteína (gp 51), en la cual no hay manifestación clínica ni linfosarcomatosis (LS) o linfocitosis persistente (LP); posteriormente, el 30% genera LP o LS (Schwartz y Levi, 1994).

Esta patología también puede ser considerada como una forma en la cual los animales poseen resistencia genética, adquiriendo anticuerpos anti-Virus de LEB, sin presencia de linfosarcoma ni linfocitosis persistente. Los Bovinos quedan infectados de por vida con el Virus de la Leucosis Bovina, produciendo permanentemente anticuerpos en contra de las distintas proteínas de este agente (Giraud *et al.*, 2010).

El VLEB causa linfomas y otros desórdenes en el ganado; el virus está distribuido en todo el mundo y produce un gran impacto económico en el sector ganadero en muchos países (decomisos, muerte de animales, costos veterinarios, reemplazos tempranos). (Johnson y Kaneene, 1992), especialmente en lecherías, debido a las prácticas de manejo (Hopkins y DiGiacomo, 1997).

La primera descripción de la LEB es reportada en Alemania por Leisering en el año 1871, quien detectó la presencia de nódulos redondos y amarillentos en un bazo aumentado de tamaño en una vaca (Torres *et al.*, 2007). Luego de la Segunda Guerra Mundial, los casos de esta patología aumentan con presencia de tumores en Alemania y otros países del este de Europa, generando por consiguiente la profundización de su investigación. La LEB llega a EEUU expandiéndose hasta Canadá y el resto del continente, por medio de la exportación de ganado infectado trasladado desde el Mar Báltico (Baruta, 2011).

En Chile la enfermedad fue descrita por Schultz (1962), quien describió 5 casos clínicos en la provincia de Talca y Bío Bío. En 1965 Saelzer realizó un estudio prospectivo en lecherías de Santiago, encontrando un 7,7% de animales positivos y un 9,8% de animales sospechosos, usando como método de diagnóstico las claves hematológicas (Islas *et al.*, 1990). La información acerca de la seroprevalencia y las prácticas de manejo locales que pudieran influenciar la propagación del virus son insuficientes y desactualizadas, para poder planear una estrategia de control que sea sustentable y efectiva; dadas las características de la enfermedad, tales como la ausencia de tratamiento curativo, ausencia de vacunas eficientes, la baja dosis infectante, larga duración de la infección, transmisión iatrogénica por medio de agujas u otros elementos traumáticos y transmisión a través de insectos y artrópodos hematófagos (Foil *et al.*, 1989; Hasselschwert *et al.*, 1993).

2.2- Etiología

Su agente causal es el *Virus de Leucosis Bovina* (VLB) quien afecta a los linfocitos B, sin embargo, también posee capacidad de infectar otras células como linfocitos T y monocitos (Gatti, 2007). Actualmente, su clasificación corresponde a un virus que pertenece a la familia Retroviridae, Subfamilia Oncoviridae (Berríos, 2001), Género Deltaretrovirus y con morfología de tipo C, la cual posee partículas de core central y espículas visibles en su envoltura (González, 2007).

El genoma viral está constituido por dos cadenas de ARN de polaridad positiva unidos por su extremo 5' e integrado por tres genes estructurales: gag, pol y env, los cuales son necesarios para su síntesis, además comparte con otros deltaretrovirus la región X (OIE, 2008). Estos genes codifican para la producción, entre otras, de la proteína estructural p24, y de las proteínas de la envoltura, la p51 y p30. (Johnson y Kaneene, 1992). El virus es muy poco resistente a las influencias exteriores por lo que tiene escasa viabilidad, de menos de cuatro horas fuera del animal.(Orloff *et al.*, 1993).

2.3.- Transmisión

La transferencia horizontal es el método habitual de difusión. Se requiere contacto físico estrecho y el intercambio de materiales biológicos contaminados. El virus está presente sobretudo en linfocitos y se puede encontrar en la sangre, la leche y los tumores. El ganado sensible normalmente se infecta por exposición a linfocitos infectados. La transmisión natural se produce principalmente en bovinos > 1-5 años de edad, mediante contacto cercano entre animales y posiblemente por insectos o murciélagos infectados (Merck, 2007).

La transmisión puede ocurrir vía instrumentos quirúrgicos contaminados, por ejemplo, gubias de descornado, tatuadoras de oreja y agujas hipodérmicas. También puede producirse durante transfusiones de sangre, tests de tuberculina y administración que contengan sangre. La transmisión a través de sangre infectada es posible por el paso de linfocitos infectados por medio del epitelio intestinal durante las primeras horas de vida, no obstante, la infección por esta vía es rara, posiblemente por la presencia de anticuerpos maternos en la leche. La infección congénita se observa en el 4-8% de los terneros nacidos de vacas positivas al VLEB, debido a la exposición transplacentaria al virus durante la gestación (Merck, 2007).

2.4.- Patogénesis

La exposición de las vacas al VLEB lleva a cuatro posibles desenlaces: 1.- el fallo de infección en el animal, probablemente debido a resistencia genética; 2.- el establecimiento de una infección permanente y el desarrollo de niveles detectables de anticuerpos (portadores latentes); 3.- el establecimiento de una infección permanente y una linfocitosis benigna persistente; 4.- el desarrollo de linfosarcoma maligno, con o sin linfocitosis persistente (Merck, 2007).

2.5.- Signos Clínicos

El período de incubación habitual es de 4 a 5 años, la mayoría de los casos ocurren 4 a 5 años después de la introducción del primer evento o de una transfusión sanguínea procedente de otro rebaño. Esta forma es rara en animales menores a los 2 años y su frecuencia ocurre en grupos etarios de 4 a 8 años (Radostits, 2002). Debido a esto, la enfermedad se manifiesta en un curso clínico lento, afectando comúnmente a bovinos sobre los 2 años y aumenta su incidencia según aumenta su edad (Gatti, 2007; Merck, 2007).

El signo característico de la LEB es la linfadenopatía, el cuadro clínico generalmente inicia con adelgazamiento, disminución del rendimiento y producción, determinando luego trastornos funcionales que afectan de manera sistémica (Rebhun, 1995).

Aquellos animales que presentan linfocitosis persistente, si bien no cursan con la presencia de tumores o linfocitos neoplásicos, ni disminución en su producción láctea o cárnica, si se puede hablar de que sufren un desorden inmunológico con una marcada disminución en la síntesis y actividad de las inmunoglobulinas. Para el caso contrario, los bovinos que presentan linfosarcomas tienen un curso silente produciendo la muerte tanto al inicio del cuadro como en etapas avanzadas de éste (De la Sota, 2005).

La localización de los tumores suelen ser más comunes en los linfonódulos iliacos, considerando en su generalidad que la consistencia de ellos varía de blandos edematosos, turgentes firmes o friables (Gatti, 2007). Los signos clínicos observables corresponden a la disminución del apetito, emaciación, astenia y anemia (De la Sota, 2005). En algunos casos existe la infertilidad o momificación del feto debido a tumoraciones en las paredes del útero. También se describe como signo específico de la enfermedad, la exoftalmia y degeneración del tejido retrocular y/o de las estructuras internas del ojo (Gatti, 2007).

Como consecuencia de las adenopatías, se produce una serie de trastornos funcionales de origen mecánico tales como: compresión de los bronquios pulmonares (disnea), compresión del nervio vago (bradicardia, meteorismo crónico, médula espinal con parálisis al tren posterior), edema tórico y cardiaco, entre otros (De la Sota, 2005).

2.6.- Diagnóstico

En los estudios de infección con VLB se han empleado numerosos métodos diagnósticos tales como: seroneutralización (SN), radioinmunoensayo (RIA), inmunodifusión (ID), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Western Blot (WB) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (González *et al.*, 2001). En varios países existen programas oficiales para el control y erradicación de la LEB. El diagnóstico se realiza rutinariamente por métodos serológicos. Los anticuerpos que primero se detectan son los dirigidos contra gp51 y p24 del virus. La mayor parte de las pruebas rutinarias como ID y ELISA detectan anticuerpos contra la glicoproteína gp51, que son de aparición temprana. La ID ha sido por muchos años la prueba de elección por su alta especificidad y aceptable sensibilidad. Recientemente se desarrollaron distintos equipos comerciales de ELISA para ser utilizados en muestras de suero y/o leche (González *et al.*, 2001). PCR es una prueba conveniente para detectar DNA proviral en muestras de sangre, suspensiones de órganos y material tumoral, siendo un método sensible que permite un diagnóstico rápido y temprano (González *et al.*, 2001).

La detección serológica de anticuerpos contra la gp51 de la envoltura viral mediante las técnicas de ID o ELISA, constituye el método más comúnmente usado para identificar animales infectados, ya que son reconocidas por la OIE y aceptadas por la mayoría de los gobiernos como pruebas oficiales (Rama, 2009),

Las pruebas oficiales utilizadas por el SAG serán ID y ELISA, las cuales deben ser tomadas por un Médico Veterinario Acreditado y enviadas a un laboratorio acreditado una vez publicada la norma respectiva (Monti *et al.*, 2010).

2.7.- Control y Prevención

La enfermedad puede erradicarse de un rebaño e incluso de un país o mantenerse controlada. La opción elegida depende en principio de la prevalencia de la infección en el rebaño y si existen indemnizaciones oficiales para las vacas sacrificadas (Radostits, 2002).

No hay que olvidar cómo se da la transmisión del virus y que no se puede saber que animales seropositivos desarrollarán linfosarcoma; también hay que tener presente que un animal infectado será transmisor potencial de virus de por vida.

Se debe tener en cuenta la utilización de agujas individuales y estériles, el uso de mangas de palpación por cada vaca para disminuir el contagio en hatos infectados o en donde se desconoce si existe enfermedad. Hay que muestrear a todo el ganado de reciente adquisición y mantener en cuarentena hasta tener el resultado. Se recomienda deshacerse de todos los seropositivos, pero de no ser posible, se deben mantener separados de los negativos, evitando cualquier contacto entre ellos (Van *et al.*, 2000; Chamizo, 2005).

En la LEB no existen vacunas comerciales; se han aplicado con éxito las estrategias de análisis y eliminación tanto en los programas de erradicación nacionales como en los desarrollados al nivel de las explotaciones individuales. Se recomienda realizar el análisis serológico a intervalos de seis meses. En países en los que la prevalencia de la infección es demasiado elevada, como para eliminar todos los animales seropositivos de las granjas, de deberían adoptar prácticas de manejo dirigidas a reducir la diseminación de la infección (Quinn *et al.*, 2005).

Para una mejor prevención de la enfermedad únicamente debe permitirse la introducción de bovinos en un establo o su importación a un determinado país cuando se tiene la certeza de que el lugar de procedencia no existe infección por el virus. Como medida de precaución, los animales deben someterse a cuarentena inmediatamente después de su llegada y durante este tiempo investigar en los mismos la posible existencia de anticuerpos específicos (Quinn *et al.*, 2005; Celada y González, 2008).

2.8.- Situación y prevalencia mundial

En 1970, en Estados Unidos (EE.UU) entre el 66% y el 92% de los rebaños lecheros y un 14% de los rebaños de carne estaban infectados. Así mismo, en Canadá (1980) se observa que entre el 40% y 45% de los rebaños lecheros presentaron la infección, mientras que en predios con ganado de carne había entre un 11% y 14% con infección (Chamizo, 2005).

Estudios en Estados Unidos revelan una prevalencia intrapredial variable entre 0-100% y un bajo número de predios con reactores positivos, aunque puede alcanzar un 80% del total de animales del predio. La población adulta infectada se estimó en 20% para Estados Unidos, 6-11% en Canadá, 27% en Francia, 37% en Venezuela; en Inglaterra, Nueva Zelanda y Australia tienen niveles muy bajos, menores al 2% (Radostits *et.al.*, 2006).

Gatti (2007), describe que en 1990 los países con mayor prevalencia son: Venezuela 49%; Japón 44%; Filipinas 32%; La Florida: 48% (leche) y 7% (carne); Mientras que en baja California: 32%. Las pérdidas en EE.UU por muertes y decomisos en frigorífico son millonarias. Argentina en el año 1994, presentaba un 29% de incidencia y entre un 10 % y 67% de prevalencia.

Radostits (2002), agrega que en Francia la prevalencia es de 27%, mientras que en Nueva Zelanda la incidencia es rara alcanzando un 2% de los rebaños lecheros y en Australia, la prevalencia en ganados de engorde llega a un 0,22%.

2.9.- Situación y prevalencia en Chile

En Chile, al igual que en otros países, no existen estadísticas precisas u oficiales sobre la prevalencia de LEB. Sin embargo, desde el año 2014 es una patología que está descrita para denuncia obligatoria en el listado oficial del SAG debido a que se presenta de forma periódica durante todo el año. Este listado está establecido en el Decreto exento N° 389, Ministerio de Agricultura.

En el país, la enfermedad fue descrita por Schultz (1962), quien describió 5 casos clínicos en la provincia de Talca y Bío Bío. Saelzer (1965), realizó un estudio prospectivo en lecherías de Santiago, encontrando un 7,7% de animales positivos y un 9,8% de animales sospechosos., usando como método de diagnóstico las claves hematológicas. Desde 1979, hasta la fecha, es usado como método de diagnóstico el test de inmunodifusión en gel de agar.

Estudios realizados en la VIII Región, señalan el porcentaje de infección entre un 33% a un 40% (Contreras, 1980; Villouta *et al.*, 1984; Torres, 1986).

Los estudios de prevalencia realizados por el Servicio Agrícola y Ganadero, usando como prueba oficial el test de inmunodifusión en gel dio como resultado un 27,2%, 7,2% y 4,9% de prevalencia de la enfermedad para las Regiones VIII, IX y X, respectivamente (Naranjo, 1988).

La prevalencia de LEB a nivel nacional es variable, ya que depende de la región y el tipo de producción del ganado. Existen estudios que se orientaron a precisar la prevalencia de LEB existente en cada predio permitiendo corroborar esta desde la Región de Atacama hasta la Región de Los Lagos (Pinto, 2014), hallando grandes variables en la presentación de la enfermedad según la zona geográfica, dándose a conocer principalmente como zona endémica la Región del Bio-Bio (Islas, 1990; Berríos, 2001).

El SAG estudia la prevalencia de la LEB en el año 1994 a nivel nacional obteniendo los siguientes resultados:

- En la I y II Región, se hace un muestreo de 950 vacas, de las cuales 53 se encuentran positivas. Esto correspondería a una prevalencia del 5,5%.
- Desde la IV a la X Región se seleccionan 40 lecherías con un total de 9.345 bovinos, de los cuales al hacer el muestreo se detectan 1848 vacas positivas. De esto se obtiene una prevalencia del 19,7%.
- Al estudiar las Regiones XI y XII, se estudian 840 bovinos que resultaron ser negativos a las pruebas, lo cual determina que la patología no estaría presente en esas regiones (Berrios, 2001).
- Según lo documentado en el Proyecto de Vigilancia Pecuaria del SAG en el año 1996, la prevalencia predial en las siguientes Regiones fue (Faúndez, 2005):
 - Región Metropolitana: 87%
 - IX Región: 37,9%
 - X Región: 21%

2.10.- Importancia económica

El impacto de la enfermedad radica en la limitación que genera la infección para la exportación de bovinos y la comercialización de semen y embriones, las pérdidas por aumento de los reemplazos, pérdidas de ingresos por decomisos de carcasas a causa de los linfomas, disminución de la eficiencia reproductiva y disminución de la producción de leche. (Erskine *et al.*, 2011). Algunos estudios realizados *in vitro* sugieren que se vería alterada la calidad de la leche, debido a la acción del virus sobre las células epiteliales de la mama. (Motton y Buehring, 2003).

Por otro lado se generan pérdidas indirectas, derivadas del efecto del virus en el sistema inmune: debido a los cambios que se producen en las poblaciones linfocitarias disminuye la capacidad del animal enfermo de resistir al desarrollo de otras enfermedades, o de generar una inmunidad adecuada post inmunización. (Erskine *et al.*, 2011.)

Las principales causas provienen de:

- Costos de los programas de control y sobretodo de erradicación.
- Mortalidad, debido a que un 5% de los bovinos infectados muere anualmente.
- Decomiso total del animal en caso de que se presencie Leucosis tumoral.
- Disminución de la esperanza de vida.
- Sacrificio de los animales seropositivos.
- Disminución del rendimiento productivo, al aumentar la reposición con animales jóvenes disminuye la producción del rebaño, ya que por su corta edad producen menos.
- Limitación en la exportación de animales de cría y semen a países importadores.
- Menor disponibilidad de vaquillas para la venta, debido a esto, aumentan las necesidades de las vaquillas de reemplazo, disminuyendo la disponibilidad de bovinos de venta (Veintimilla, 2013).

En cuanto a los decomisos que proceden, el código internacional de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomiendan el retiro total de la canal en presencia de lesiones macroscópicas múltiples y el aprovechamiento de la carne cuando los animales no presenten lesiones y sólo sean reaccionantes positivos a las pruebas serológicas (Moreno, 2003).

3.- Hipótesis

La seroprevalencia de la enfermedad se debería encontrar menor a un 4% en el predio estudiado.

3.1- Objetivos

3.1.1- Objetivo general:

- Determinar la seroprevalencia de la infección por el Virus de la LEB a nivel de rebaño en un predio ubicado en la comuna de Curacaví, ciudad de Santiago, Región Metropolitana.

3.1.2.- Objetivos específicos:

- Determinar el número de bovinos positivos a LEB en un predio de la comuna de Curacaví.
- Identificar cuantitativamente anticuerpos de los bovinos afectados por LEB, mediante prueba de diagnóstico ELISA de bloqueo, en predios de la comuna de Curacaví.

4.- Materiales y Métodos

En el mes de Octubre del año 2017, se seleccionó un predio, ubicado en la comuna de Curacaví, Región Metropolitana, para determinar la seroprevalencia de LEB.

El tipo de investigación para este estudio corresponde a una metodología cuantitativa descriptiva que se basó en una estrategia observacional ante los acontecimientos y que la temporalidad de su medición será de manera transversal.

Las variables para determinar esta investigación son principalmente la edad de los bovinos seleccionados, presencia de signos clínicos observables, forma de transmisión y la efectividad de la prueba de diagnóstico.

Se seleccionaron 42 bovinos para muestreo. Los bovinos menores a los 6 meses no fueron parte del estudio ya que, la prueba serológica utilizada no discrimina sobre los anticuerpos maternos pasivos de una infección activa en los terneros. Junto con ello, el SAG describe un documento sobre certificación oficial de predios libres de Leucosis Bovina, donde reafirma que los predios sin infección previa requiere hacer las correspondientes pruebas serológicas sobre la edad descrita (12 meses).

Para la recolección de las muestras fueron utilizados los siguientes materiales:

- 42 Tubos al vacío (Vacutainer).
- 42 Agujas 18G con sistema Venoject ®.
- Algodón.
- Alcohol desnaturalizado 95°.
- Guantes de procedimiento.
- Cajas isotérmicas.
- Ice Pack.

La extracción de la muestra sanguínea se obtuvo tras un procedimiento de antisepsia en la zona de la vena coccígea con algodón y alcohol desnaturalizado de 95°. Ésta se puncionó con la aguja de sistema Venoject ® en un tubo al vacío, los cuales fueron rotulados con el número de identificación correspondiente al crotal de cada bovino.

Al obtener las muestras en el predio, se transportaron en una caja isotérmica, mantenidas a una temperatura bajo los 20 C°, usando para ello refrigerantes ice pack y así fueron despachados al laboratorio de destino, que correspondió a la Cooperativa Agrícola Lechera de Santiago LTDA (CALSA), laboratorio de la Región Metropolitana con certificación del SAG.

El análisis de las muestras se hizo por medio de la técnica de ELISA de bloqueo, utilizando para ello el kit INGEZIM BLV COMPAC 2.0 ®, el cuál detecta anticuerpos monoclonales específicos de la gp51 del Virus de la Leucosis Enzoótica Bovina.

Este kit, puede analizar tanto muestras de suero sanguíneo como de leche en animales que cursan con signología subclínica presentando en ensayo de campo una sensibilidad del 98% y una especificidad del 99% en sueros sanguíneos.

En laboratorio se hizo uso de:

- Muestras sanguíneas.
- Agua destilada o desionizada.
- Micropipetas de 5µl a 200µl.
- Puntas de micropipeta de un solo uso.
- Dispositivos para lavado de placas.
- Probetas de 50ml a 250ml.
- Lector ELISA BioTek® modelo EL800 (filtro de 450nm).

5.- Presentación de Resultados

Resultados obtenidos en el Laboratorio certificado de la Cooperativa Agrícola Lechera de Santiago (Cuadro N°1).

Cuadro N°1: Resultados Test de ELISA de bloqueo, animales positivos y negativos.

Crotal DIO	Valores	Resultados (450nm)	Crotal DIO	Valores	Resultados (450nm)	Crotal DIO	Valores	Resultados (450nm)
4452	2,2	NEG	4475	2,078	NEG	4495	2,13	NEG
4453	2,162	NEG	4478	0,075	POS	4497	2,152	NEG
4457	1,829	NEG	4480	2,185	NEG	4498	1,629	NEG
4458	2,135	NEG	4481	1,922	NEG	4499	2,165	NEG
4459	0,05	POS	4482	2,115	NEG	4500	2,138	NEG
4461	2,381	NEG	4483	2,163	NEG	4501	2,311	NEG
4462	1,979	NEG	4484	1,985	NEG	4503	1,479	NEG
4463	0,13	POS	4485	2,121	NEG	4504	2,136	NEG
4465	1,488	NEG	4486	2,035	NEG	4506	1,238	NEG
4466	2,352	NEG	4488	1,982	NEG	4507	2,111	NEG
4469	2,103	NEG	4489	2,309	NEG	4510	2,105	NEG
4471	2,085	NEG	4490	2,458	NEG	4512	2,025	NEG
4472	2,075	NEG	4491	2,607	NEG			
4473	2,213	NEG	4492	2,756	NEG			
4474	2,18	NEG	4493	2,905	NEG			

5.1.- Análisis y discusión de resultados

Para determinar la seroprevalencia, se debe evaluar la extensión de un problema en una población. Esta evaluación solamente es posible realizarla cuando se compara el número de animales enfermos con el número total de la población muestreada. De igual forma sí se debe comparar la presentación de una enfermedad en una población con la otra, es necesario conocer el tamaño de las poblaciones y su composición (por ejemplo, edad y sexo).

Para medir específicamente la cantidad de animales enfermos en la población se utilizó la fórmula para determinar la seroprevalencia cuando no se tienen datos históricos de la enfermedad.

Los resultados se expresaron en porcentajes (%) de seroprevalencia, considerándose el número de animales positivos entre el total de animales muestreados, para el diagnóstico de Leucosis Bovina, multiplicando el producto por cien. Lo cual se expresa en la siguiente fórmula:

$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ animales positivos}}{\text{N}^\circ \text{ animales muestreados}} \times 100$	$\text{Serorevalencia} = \frac{3 \text{ animales positivos}}{42 \text{ animales muestreados}} \times 100 = 7.14\%$
---	--

Los resultados obtenidos mediante el método de ELISA, para el diagnóstico de seroprevalencia de Leucosis Bovina Enzoótica (LEB) en un predio ubicado en la comuna de Curacaví, ciudad de Santiago, Región Metropolitana, fue de 3 ejemplares reaccionantes (positivos) a la prueba, de una población muestreada de 42 bovinos; lo que equivale a un 7.14 % de seroprevalencia de la enfermedad. Representado en el siguiente gráfico:



Gráfico N°1.- Seroprevalencia del diagnóstico de LEB en porcentaje de los animales muestreados.

En este estudio realizado durante el mes de Octubre de 2017 en un predio de la comuna de Curacaví, se analizaron muestras de suero sanguíneo de 42 animales mayores a los 6 meses.

De ellos se obtuvo como resultados una prevalencia de 7,14% lo que equivale a la cantidad de 3 animales positivos a la prueba, donde ninguno de ellos presentó signos clínicos visibles compatibles con la enfermedad. Esto nos indica que la hipótesis presentada es rechazada debido a que esta planteaba que se encontraría en el predio una seroprevalencia de la enfermedad menor al 4%. Esto se podría explicar debido a que la población muestreada fue pequeña, aumentando así la probabilidad de encontrar mayor cantidad de seropositivos; además a las malas prácticas de manejo en el predio, ya que todos los días los animales eran encerrados en un corral donde compartían los bebederos y comederos, en los cuales se les proporcionaba alimento, aumentando así el contacto entre los animales seropositivos y seronegativos. Prácticas riesgosas corresponden, por ejemplo, a palpaciones diagnósticas, exámenes post parto, inseminación artificial, aplicación de vacunas, toma de muestras de sangre, tatuajes, etc, las que podrían contribuir a la diseminación de la infección si éstas no se realizan con la higiene adecuada. (Radostits, 2007).

Se conoce que la mayoría de los casos se presentan de forma subclínicas. Entre el 30% al 70% de los bovinos infectados desarrollan una linfocitosis persistente y el 0,1% al 10% desarrollan tumores (OIE, 2004). En este caso, el ganado examinado no presenta signos clínicos visibles que fueran compatibles con la enfermedad, pero a pesar de esto 3 de ellos estaban infectados. De acuerdo con la edad se puede observar que las prevalencias afectan más a las vacas con edades mayores, las cuales están en una producción activa y reproductiva, por tanto son las vacas que sufren más estrés en el rebaño y por ende su sistema inmune está más deprimido en comparación con las demás vacas. Cabe señalar que las vacas entre 6 y 9 años representan una cantidad importante en el segmento de vacas en producción. La Leucosis bovina afecta más a animales de 3 o más años de edad, en animales con menor edad la enfermedad está presente pero en cantidades menores, a éstos animales se les clasificaría como persistentemente infectados y se necesitaría una prueba más específica para su diagnóstico, por ejemplo, PCR (Radostits, 2007).

El sistema de producción del predio, también pudo tener influencia sobre el resultado obtenido. Esto hace referencia a que el predio estudiado se mantiene en un sistema extensivo con baja carga de animales por hectárea de superficie, con lo cual se cumple la regla que a menor confinamiento, existe una menor probabilidad de infección, pero a pesar de esto el resultado obtenido se vio influenciado principalmente por los malos manejos de producción, debido a que se observaban animales estresados como consecuencia la respuesta inmune disminuye, siendo más propensos a infectarse con el virus.

Los predios de mayor densidad, como en lecherías, representan la mayor proporción de animales infectados y a su vez el mayor número de reactores positivos a LEB, esto se debe a que principalmente se llevan a cabo mayor cantidad de prácticas de manejo que en predios medianos o de pequeña densidad se realizan con menor frecuencia o simplemente no se realizan (Grau, 2009). Esta situación no se presentó en los animales estudiados, ya que a pesar a la baja densidad de ellos el porcentaje de seropositivos fue mayor al rango menor del 4% que se esperaba.

Para poder lograr una mayor asertividad en los resultados, se sugiere realizar varias muestras de diferentes ganados a nivel nacional e intrapredial, con una temporalidad de tiempo definido y de ésta manera obtener un resultado más fidedigno, ya que en cada ganado se realizan manejos de una forma particular y existen varios factores de contagio.

Cabe destacar que la prueba diagnóstica ELISA de bloqueo, es efectiva y confiable, ya que posee un 99% de especificidad y un 98% de sensibilidad para la detección del VLB. Estos datos permiten dar una mayor seguridad a los dueños que someten a sus animales a esta prueba para detectar la patología, sin embargo, no podemos descartar que aun así, exista una probabilidad mínima de falsos negativos. En cuanto a la elección de este test, se debe tener en cuenta la importancia de que la especificidad sea elevada con el objetivo de minimizar la posibilidad de falsos positivos y junto con ello, optimizarla en animales con referencia de no infectados, para disminuir los posibles errores de muestreo.

En el presente estudio se indica que en el predio, si se instaurara al programa de certificación de predios libres, podría representar una buena oportunidad para los productores de este establecimiento, ya que pocos ejemplares están infectados y poseen pocos animales, por lo que les sería más sencillo obtener un estatus de certificación libre que a los predios grandes.

Para mantener la infección bajo control es importante considerar el realizar medidas preventivas para evitar que la enfermedad se propague en la explotación, esto se puede lograr mediante un programa de diagnóstico serológico periódico, eliminación de los seropositivos, mayor preocupación por realizar prácticas semiológicas de manera higiénica y usando elementos en su mayoría desechables o de material apto para desinfección.

6.- Conclusiones

Se determinó que la seroprevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina en el predio ubicado en la comuna de Curacaví, fue de un 7,14%. Siendo este resultado mayor al que fue planteado en la hipótesis, donde se esperaba una seroprevalencia menor al 4%.

Se detectaron anticuerpos, mediante el kit INGEZIM BLV 2.0® (ensayo inmuno-enzimático de bloqueo) del virus de Leucosis bovina, resultando positivos a la prueba 3 ejemplares de 42 analizados.

Se evidencia que la enfermedad puede pasar desapercibida debido a la presencia de individuos con linfocitosis persistente (LP), ya que ninguno de los reaccionantes positivos presentó signos clínicos visibles compatibles con la enfermedad.

7.- Bibliografía

- Baruta, D; Ardoinio S; Brandan J; Sosa R; Mariani E; Albretch E. (2011). *Leucosis Bovina Enzoótica*, Revista de Publicaciones Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Volumen 13 (1): pp.9-16.
- Bautista, N.A., Nova, A., Pulido, M.O, y Andrade R.J. (2012) *Determinación serológica de leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas de la vereda Morichal, Yopal, Casanare.Papel Seriado*.Vol. 1. N° 1. pp.31-37
- Berrios, P. (2001). *Antecedentes en Chile de Enfermedades Virales de los Animales Domésticos: Enfermedades erradicadas y bajo control*. Avances en Ciencias Veterinarias. Volumen 16 (1 -2): pp.12-13.
- Celada, M. M., y González, P. L. (2008). Leucosis Viral Bovina. Obtenido el 14 de mayo de 2008, de UNAM: <http://www.fmvz.unam.mx>.
- Contreras, R. (1980). *Diagnóstico de la leucosis enzoóticas bovina en la zona de Los Angeles, mediante la técnica de inmunodifusión en gel agar*. V Reunión Anual, Sociedad Chilena de Producción Animal. Chillán, Chile. Resumen, 29.
- Chamizo, E. (2005). *Leucosis Bovina Enzoótica*, Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, ISSN1695-7504; Volumen VI (07): pp.1-25.
- De la Sota, M. (2005). *Leucosis Enzoótica Bovina, Manual de Procedimientos*. Dirección Nacional de Sanidad Animal. Buenos Aires, Argentina. pp.34.
- Erskine, R.J.; Bartlett, P.C.; Sabo, K.M.; Sordillo, L.M. (2011). *Bovine Leukemia Virus Infection in Dairy Cattle: Effect on Serological Response to Immunization against J5 Escherichia coli Bacterin*. Veterinary Medicine International vol. 2011, Article ID 915747, 5 pages. doi:10.4061/2011/915747.
- Faúndez, P. (2005). *Determinación de seropositividad de Leucosis Enzoótica Bovina en lecherías de la comuna de Rengo, san Fernando, Tinguiririca, Chimbarongo y San vicente de Tagua Tagua de la VI Región*. Memoria de título para optar a Médico Veterinario. Chillán, Chile. Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria. pp. 49.
- Foil L, D French, P Hoyt, C Issel, DLeprince, J McManus, C Seger. (1989). *Transmision of bovine leukemia virus by Tabanus fuscicostatus*. Am J Vet Res 50, pp. 1771-1773.

- Gatti, M. (2007). *Monografía sobre Leucosis Bovina, enfermedad de gran importancia y limitante para la exportación de ganado en pie*. Sitio argentino de Producción Animal, laboratorios Santa Elena, Uruguay.

http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/67-leucosis.pdf.

- Giraudó, J; Bérnago, E; Schneider, M; Magnano, G; Macías, Analía; Sticotti, E; Mació, M. (2010). *LeucosisEnzoóticaBovina*.

http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Prod_Animal/Documentos/2012/Sanidad%20Ganadera/Giraudó%20et%20al%202010%20R%C3%ADo%20Cuarto.pdf.

- González, E. (2007). *Microbiología Veterinaria*. Stanchi, N. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina. Editorial Inter-médica.

- Gonzalez ET, GA Oliva, A Valera, E Bonzo, M Licursi, ME Etcheverrigaray. (2001). *Leucosis enzoótica bovina: Evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, Elisa-I, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente*. *Analecta Vet* 21, pp. 12-20.

- Hasselschwert D, D French, D Hribar, L Luther, D Leprince, MJ Van der Maaten, CWhetstone, L Foil. (1993). *Relative suseptibility of beef and dairy calves to infection by bovine leukemia virus via tabanid (Diptera: Tabanidae) feeding*. *J Med Entomol* 30, pp. 472-473.

- Hopkins SG, RF DiGiacomo. (1997). *Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle*. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 13, pp. 107-128.

- Islas L; Inchaurtieta. (1990). *Prevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) en lecherías de las comunas de San Fernando, Chimbarongo y Placilla*. *Monografías de Medicina Veterinaria, Volumen 12* (1). <http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/10459/10515>.

- Johnson R, JB Kaneene. (1992). *Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leucosis*. *Vet. Bull* 62, pp. 287-312.

- Merck. (2007). *Manual Merck de Veterinaria*. (6 th. ed.,). Ed. Océano, Barcelona, España. pp. 581-585.

- Monti, G; Muñoz, C; Amperse, N. (2010). *Certificación oficial de predios libres y unidades colectivas libres de Brucelosis y/o Tuberculosis y/o Leucosis Bovina*. Validation of several commercial test for detecting Bovine Leukemia Virus (BLV) infection under chilean conditions, without gold standard. SAG. pp. 21-22.
- Moreno, B. (2003). *Higiene e Inspección de Carnes*. Volumen II. Madrid. Díaz de Santos.
- Motton, D.D.; Buehring G.C. (2003). *Bovine leukemia virus alters growth properties and casein synthesis in mammary epithelial cells*. J Dairy Sci. 86(9): pp.2826-2838.
- Naranjo, Y. J. (1988). *Diagnóstico de situación de la leucosis bovina en las Regiones VIII, IX y X de Chile*. Chile. Servicio Agrícola y Ganadero. Taller Diagnóstico Leucosis Bovina, Temuco. 15 al 16 junio 1988. pp. 1-3.
- OIE (2008). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 6Th Edition. Chapter 2.4.11. Enzootic Bovine Leukosis. pp.729-738.
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.11_EBL.pdf
- Orloff, S.; Wallingford, J.; McDougal, J. (1993). *Inactivation of human inmunodeficiencu virus tipe I in human milk: effects of intrinsic factors in human milk and of pasterurization*. J. Hum. Lact. 9:pp.13-17.
- Pardos, E. (2006). *Compendio de Epidemiología Universidad Nacional Agraria de la facultad ciencia animal Managua*.
- Pinto, D. (2014). *Prevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina en un predio ubicado en la localidad de Longotoma, Comuna de La Ligua*. Memoria de Título para optar a Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Facultad de Recursos Naturales y Ciencias Silvoagropecuarias. pp.48.
- Quinn, P., Markey, B., Carter, M., Donnelly, W., y Leonard, F. (2005). *Microbiología y Enfermedades Infecciosas Veterinarias*. Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Radosits, O; Gay, C; Blood, D; Hinchcliff, K. (2002). *Tratado de enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. 9 Edición. España, Editorial McGraw- Hill Interamericana.
- Rebhun, W, (1995). *Enfermedades del Ganado Vacuno Lechero*. Zaragoza, España, Editorial Acribia S.A.
- Schwartz, I. y Levy, D. (1994). *Pathobiology of bovine leukemia virus*. Vet Res; 25: pp.521-536.

- Torres Guajardo, R. (1986). *Estudio de la prevalencia de la leucosis enzoótica bovina en un sector lechero de la provincia de Ñuble*. Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Departamento de Medicina Veterinaria (Tesis de Grado). 33.
- Torres, A; Ruiz, M. (2007). *Determinación de la reacción clínica de un grupo de animales positivos a Leucosis Bovina a la aplicación de un tratamiento isopático*. Memoria de Título para optar a Médico Veterinario. Bogotá, Colombia. Universidad de la Salle, Facultad de Medicina Veterinaria. pp.114.
- VanLeeuwen, J.A.; Keefe, G.P.; Tremblay, R.; Power, C.; Wichtel, J.J. (2000). Seroprevalence of infection with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhea virus in maritime Canadá dairy Cattle. *Can. Vet. J.*, 42: pp.193-198.
- Veintimilla, A. (2013). *Diagnóstico de Leucosis Bovina por el Método Agar en Gel Difusión (IDGA) y cuenta de Leucocitos en bovinos faenados en el camal frigorífico de Loja*. Memoria de Título para optar a Médico Veterinario. Loja, Ecuador. Universidad Nacional de Loja, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. pp.73.
- Villouta, G.; Rudolph, W.; Correa, J.; Gonzalez, T.; Rodriguez, M.; Contreras, H. (1989). *Diagnóstico de la infección a virus leucemia bovina por dos pruebas comerciales de inmunodifusión y su relación con linfocitosis permanente*. *Cien. Investig. Agraria*. 11: 223228.