

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**



**“SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB) EN VACUNOS  
BROWN SWISS DE LA CUENCA LECHERA DEL DISTRITO DE POMATA”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. JULIO ARCANGEL QUISPE HUAYTA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2018**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

“SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB) EN VACUNOS BROWN SWISS DE LA CUENCA LECHERA DEL DISTRITO DE POMATA”

PRESENTADA POR:

Bach. JULIO ARCANGEL QUISPE HUAYTA  
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE:

D.Sc. ZACARIAS CONDEMAYTA CONDEMAYTA

PRIMER MIEMBRO:

Mg.Sc. DIANNETT BENITO LOPEZ

SEGUNDO MIEMBRO:

M.Sc. MERY LUZ ALIAGA TAPIA

DIRECTOR / ASESOR:

D.Sc. NATALIO LUQUE MAMANI

ASESOR:

M.Sc. ELOY AMADOR CONDORI CHUCHI

Área : Sanidad animal

Tema : Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss

Fecha de sustentación: 08/11/2018

## DEDICATORIA

*El presente trabajo le dedico con eterna gratitud y entrañable cariño a mis Padres Quintina Huayta y Rufino Quispe, quienes con su invaluable apoyo y paciencia me ayudaron y formaron a ser un profesional de éxito.*

*A mis hermanos Froilán y Roger, por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho.*

*A mi Tío, MVZ. Walter Alfonso Zuñiga Huayta, le dedico a Ud., no tiene comparación todo el apoyo brindado en todo momento y ser mi pilar para alcanzar mis metas en mi formación profesional.*

*A mi director de tesis D.Sc. Natalio Luque Mamani, a mi asesor M.Sc. Eloy Amador Condori Chuchi, por el apoyo y las sugerencias respectivas durante el proceso de elaboración del presente trabajo.*

## AGRADECIMIENTO

*Gracias a DIOS nuestro Padre Celestial, por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento ofreciéndome lo mejor y buscando lo mejor para mi persona*

*El amor recibido, la dedicación y la paciencia con la que cada día se preocupaban mis padres por mi avance y desarrollo de este trabajo de investigación, es simplemente único. Gracias a mis Padres Quintina y Rufino.*

*No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a su aporte, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo, lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos. Le agradezco, y hago presente mi gran afecto hacia usted, Tío, MVZ. Walter Alfonso Zuñiga Huayta.*

*Agradezco a mi alma mater, la Universidad Nacional Del Altiplano - Puno*

*A la gloriosa facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme formado profesionalmente y a los docentes y administrativos quienes imparten sus sabias experiencias y conocimientos.*

*A mi director de tesis D.Sc. Natalio Luque Mamani. Por su grandiosa dirección y participación en la presente investigación.*

## ÍNDICE GENERAL

pág.

ÍNDICE DE FIGURAS.....	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	8
RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	14
2.1. MARCO TERICO.....	14
2.1.1. RESEÑA HISTÓRICA.....	14
2.1.2. SINONIMIA.....	15
2.1.3. AGENTE ETIOLOGICO.....	16
2.1.4. TAXONOMIA.....	17
2.1.5. PATOGENIA.....	17
2.1.6. TRANSMISIÓN.....	19
2.1.7. FACTOR PREDISPONENTE.....	21
2.1.8. SINTOMATOLOGÍA.....	22
2.1.9. LESIONES.....	23
2.1.10. DIAGNOSTICO.....	25
2.1.11. TRATAMIENTO.....	26
2.1.12. CONTROL Y ERRADICACIÓN.....	27
2.1.13. PREVENCION.....	28
2.2. ANTECEDENTES.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1. Lugar de estudio.....	33
3.2. Población y muestra.....	33
3.3. Metodología de la investigación.....	36
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
4.1. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS BOVINA.....	46
4.2. SEGÚN SEXO.....	49
4.3. SEGÚN EDAD.....	51
4.4. SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO.....	54
V. CONCLUSION.....	56
VI. RECOMENDACIONES.....	57
VII. REFERENCIAS.....	58
ANEXOS.....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Monti et al. (2005) se muestra las vias de contagio para la enfermedad de la leucosis viral bovina.....	21
FIGURA 2. Curva de calibración del lector Chromate 4300.....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de animales según; Sexo, Edad y Estado reproductivo, para la investigación .....	35
Tabla 2: Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito Pomata – Puno. ....	46
Tabla 3: Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata - Puno, según; sexo animal. ....	49
Tabla 4: Serorevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata - Puno, según; Edad animal.....	51
Tabla 5: Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata - Puno, según; Estado reproductivo. ....	54

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

LVB: Leucosis Viral Bovino

LP: Linfocitosis Persistente

OD: Densidad Óptica

AGID: Inmunodifusión en Gel de Agar

ELISA: Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas

OIE: Organización Internacional de Sanidad Animal



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la cuenca lechera del distrito de Pomata, en vacunos de la raza Brown Swiss, teniendo como objetivos; determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Viral Bovina (LVB), según Sexo; (hembras y machos), Edad; (menores de 2 años y mayores de 2 años) y Estado reproductivo; (vacías y preñadas). Con muestras de sangre procedentes de 87 vacunos, cuyo suero sanguíneo fue conservado a - 20°C hasta el momento de su análisis. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Salud Animal del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, FMVZ – UNA – Puno, mediante la técnica de ELISA indirecto, utilizando el kit IDEXX Leukosis serum X2, para la detección de anticuerpos específicos para el virus de la leucosis bovina. Los resultados obtenidos indican que no hay vacunos reactivos positivos frente al virus 0,0% (0/87), según Sexo; machos (0/11) y en hembras (0/76), según Edad; menores de 2 años (0/29) y mayores de 2 años (0/58) y según Estado reproductivo; en preñadas (0/31) y vacías (0/27). Se concluye que los vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata no son portadores de la enfermedad de la leucosis bovina.

Palabras Clave: Leucosis, Sangre, Seroprevalencia, Vacuno, ELISA.

### ABSTRACT

The present research work was carried out in the milk basin of the district of Pomata, in cattle of the Brown Swiss breed, having as objectives; determine the seroprevalence of antibodies against Bovine Viral Leukosis Virus (LVB), according to Sex; (females and males), Age; (under 2 years and older than 2 years) and reproductive status; (empty and pregnant). With blood samples from 87 cattle, whose blood serum was kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the time of analysis. The samples were processed at the Animal Health Laboratory of the Chuquibambilla Research and Production Center, FMVZ - UNA - Puno, using the indirect ELISA technique, using the IDEXX Leukosis serum X2 kit, for the detection of antibodies specific to the virus. bovine leukosis. The obtained results indicate that there are no positive reactors cattle against the virus 0.0% (0/87), according to Sex; males (0/11) and in females (0/76), according to Age; under 2 years (0/29) and over 2 years (0/58) and according to reproductive status; in pregnant (0/31) and empty (0/27). It is concluded that the Brown Swiss cattle of the district of Pomata are not carriers of bovine leukosis disease.

**Key Words:** Leucosis, Blood, Seroprevalence, Cattle, ELISA.

## I. INTRODUCCIÓN

La leucosis viral bovina, tiene una importancia económicamente no sólo por la pérdida de mercado para exportación que requiere ganado libre de LVB, sino también por los costos en que se incurre para el diagnóstico, por la muerte prematura de algunos animales, como resultado del linfosarcoma y la pérdida de canales en mataderos (Betancur y Rodas, 2008).

El Perú cuenta con una población de ganado total de 5 millones 50 mil bovinos. La población aproximada de ganado vacuno del distrito de Pomata es de 16490 Cabezas, de las cuales más del 72% son vacunos criollos y el resto son vacunos mejorados Brown swiss (Minagri, 2015).

El distrito de Pomata, presenta todas las condiciones necesarias de ser una zona ganadera, tanto en la producción de carne y leche, bajo una crianza semi extensiva y/o extensiva tomando en cuenta que la mayoría de los criadores son pequeños productores y cuentan con una importante población ganadera, a la fecha no existe trabajos de investigación en seroprevalencias o caracterización realizados en este distrito (Dirección Agraria Regional, 2009).

El impacto de la enfermedad de la Leucosis Viral Bovina radica en la limitación que genera la infección para la exportación de vacunos y las pérdidas por aumento de los reemplazos, pérdidas de ingresos por decomisos de carcasas a causa de los linfomas, disminución de la producción de leche (Barua, 2011). Las repercusiones que ocasiona en el comercio internacional de animales en pie y

productos de origen animal, como lácteos, semen, embriones, etc. (Mariño, 2003).

El virus de la leucosis bovina (LVB) es lábil e íntimamente asociado a la célula. La transmisión ocurre por contacto directo o transplacentalmente a través de la transferencia de sangre o secreciones como calostro y leche que contiene linfocitos infectados. La seroprevalencia es mayor en el ganado lechero que en ganado de carne (Cullinane y Maguire, 2013).

El desconocimiento por parte de los criadores, respecto a las diferentes alteraciones que puede causar esta enfermedad en los animales y las pérdidas económicas, también el costo para llevar a cabo la prueba de ELISA, impiden al criador para que sus animales sean sometidos a dicha prueba de laboratorio. Por lo mencionado anteriormente se realizó el presente trabajo de investigación, con la finalidad de contribuir para el conocimiento de esta enfermedad al distrito de Pomata.

## **1.1. Objetivos de la investigación**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss de la cuenca lechera del distrito de Pomata.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis viral Bovina según Sexo; (machos y hembras).

- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis viral Bovina según Edad; (menores de 2 años y mayores de 2 años).
- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis viral Bovina según Estado reproductivo; (preñadas y vacías).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. MARCO TERICO

#### 2.1.1. RESEÑA HISTÓRICA

La leucosis viral bovina (LVB) es una enfermedad linfoproliferativa producida por un retrovirus que infecta a células linfoides tipo B y que se integra al genoma del hospedero a través del complejo de pre-integración. Es una enfermedad de distribución mundial con particular predilección por sistemas de producción intensiva. Desde el punto de vista sanitario y económico la LVB tiene un impacto significativo por los costos en diagnóstico, descarte de animales, disminución de los índices productivos, impacto en índices reproductivos, costos por servicios médicos y la limitación en exportación de productos cárnicos y lácteos. La comercialización de semen y embriones procedentes de animales infectados (Baruta et al, 2011). El primer reporte de la enfermedad se realizó en Alemania en el año de 1871, con la descripción de nódulos de tamaño variables, de superficie lisa y de color amarillo en el bazo de un bovino adulto. Más tarde en Estados Unidos para el año de 1906 se reportarían dos casos de linfosarcoma bovino que cursaban además con conteos de linfocitos superiores a 50 células por mm<sup>3</sup>. Estudios de seroprevalencia efectuados en el Perú, han demostrado que esta enfermedad afecta más a bovinos lecheros y estudios evidencian un incremento en la prevalencia viral en los bovinos de las cuencas lecheras de Lima y Cajamarca (Hung, 1987).

### 2.1.2. SINONIMIAS

La leucosis enzoótica bovina, es el término que se utiliza para describir dos enfermedades relacionadas con el mismo agente la linfocitosis persistente y linfosarcoma del adulto esta es una enfermedad viral que afecta al ganado bovino, en el manejo, sanidad, producción y exportación. (Gómez, 2008).

Es una enfermedad crónica y mortal de los adultos, caracterizado por tumores en los linfonodos y/o determinados órganos, causada por el virus de la leucosis bovina, por lo general este contagio solamente causa una reacción serológica de producción de anticuerpos específicos contra VLB que se inicia 6 - 8 semanas más tarde y que permanece clínicamente inaparente de por vida (Dirksen et al., 2005).

La forma enzoótica de la leucosis bovina. Esta es la única forma de la enfermedad en el que el virus de la leucosis bovina (VLB) ha demostrado tener un papel etiológico donde se muestra la forma tumoral. Las otras formas de leucosis, comúnmente llamadas esporádicas, incluyen terneros con linfoma, linfoma tímico (a veces considerado como linfoma juvenil) y linfoma de la piel. No hay evidencia de que estos sean menos frecuentes. Los tipos de neoplasias de linfoides que se producen están relacionados con BLV (Dinter y Morein, 1990).

Leucemia bovina, Leucosis bovina, Leucosis vírica bovina, Linfosarcoma bovino, Leucosis bovina enzoótica (LBE), Neoplasia maligna, Linfoma maligno del ganado, Linfocitomatosis bovina (Blowey y Wearver, 2004).

### 2.1.3. AGENTE ETIOLÓGICO

La partícula viral completa e infectante se denomina virion que es una molécula de ácido nucleico encerrado por una cápside, cubierto por espículas glucoproteicas. El genoma viral puede estar formado de una molécula de ácido nucleico, ya sea de ADN o ARN. La envoltura o nucleocápside está formado por capsomero que son cubiertas proteicas. El virus se encuentra en los linfocitos (células B y T) donde los anticuerpos circulantes no son capaces de neutralizarlo. Por lo tanto, una vez que el animal está infectado con VLB, la infección se prolonga de por vida (Dinter y Morein, 1990).

El virus se caracteriza por tener presente la enzima transcriptasa reversa el cual es la responsable de la síntesis de una copia de ADN viral. Poseen viriones envueltos en lipoproteínas, son esféricos, con una cápside isométrica o en forma de báculo, y con ARN única. Mide aproximadamente de 80 a 120nm de diámetro, posee espículas que consiste en dos glicoproteínas, la gp30 y gp51 que están ubicados en el exterior de la envoltura. La nucleocapside está formado por cuatro proteínas p24, p14, p12, p10 que son las que forman el grupo específico del antígeno (Dirksen et al., 2005).

El virión es aparentemente termolábil y foto lábil, la infectividad se reduce en gran medida mediante manipulaciones de rutina en laboratorio. El virus se destruye fácilmente calentando a 56 °C durante 30 min. También se ha demostrado que VLB está inactivado en leche calentada a temperaturas de 60 °C durante más de 1 minuto y por rutina temperaturas de



pasteurización. La envoltura viral contiene lípidos, lo que hace que el virus sea susceptible a la destrucción por solventes orgánicos (Van der Maten et al., 1981).

#### **2.1.4. TAXONOMIA**

Familia: Retroviridae

- Subfamilia: Oncoviridae
- Género: Deltaretrovirus
- Especie: Virus de la leucosis bovina (Van der Maten et al., 1981).

#### **2.1.5. PATOGENIA**

El virus es intracelular y la forma de afectar a los tipos celulares es a través de una enzima denominada transcriptasa reversa y utilizando mecanismos citoplasmáticos celulares, sintetiza ADN a partir de su ARN logrando con ello incorporarlo al azar en el genoma celular donde permanece, preservando la infección a través de la multiplicación de estas líneas celulares (Faúndez, 2005). Las infecciones son de por vida, pero la mayoría de los animales permanecen sub clínicamente infectado. Aproximadamente el 30% de los animales infectados desarrollan linfocitosis persistente, un pequeño porcentaje del ganado infectado desarrolla linfosarcoma. La célula objetivo para el virus es el linfocito B. A pesar de que el virus de la leucosis bovina no posee un oncogen, hay secuencias de ácido nucleico en el extremo 3' del gen en la región X que codifica las proteínas reguladoras Tax y Rex. Estas proteínas son

fundamentales para transformación de neoplasias (Cullinane y Maguire, 2013).

La patogenia de la leucosis bovina es compleja. La infección se traduce por tres estados sucesivos y acumulativos:

#### **La infección inaparente**

El animal no presenta ningún signo clínico, ni hematológico, únicamente su respuesta serológica es positiva. La infección puede adquirirse antes del nacimiento (pequeño porcentaje de infección in útero); la tasa de infección en los rebaños leucósicos aumenta con la edad. Después de la infección, el plazo de seroconversión varía de 2 a 8 semanas (Toma et al., 1990).

#### **La linfocitosis persistente**

La fórmula sanguínea de un bovino afectado está perturbada por un aumento persistente de los linfocitos. La linfocitosis persistente aparece raramente antes de la edad de los 2 años. Según los rebaños, alcanza del 10 al 90% de los animales infectados. Lo más frecuentemente persiste varios años, hasta la muerte del animal. A veces, esta linfocitosis precede a la aparición de los tumores, siendo entonces la duración de la evolución variable, entre algunas semanas a algunos años. La linfocitosis persistente corresponde a una proliferación policlonal de linfocitos B, caracterizada por una presencia simultánea de numerosos clones linfocitarios distinguibles por las zonas diferentes de integración de los provirus en los cromosomas (Toma et al., 1990).

### **El linfosarcoma**

Es ésta la única forma clínicamente visible y se caracteriza por la aparición de tumores, asociada a una linfocitosis persistente y a una respuesta serológica positiva. El linfosarcoma aparece en general en los animales entre 6 y 8 años. No se desarrolla más que sobre un escaso porcentaje de los bovinos infectados, o sea, cada año, el 0,5 al 1 % de los animales infectados. La evolución se hace rápidamente hacia la muerte (Toma et al., 1990). Sin embargo, en 2003 utilizando pruebas de diagnóstico como ELISA se detectaron anticuerpos contra la proteína p24 en el 74% de un grupo de humanos en riesgo. Posteriormente se determinó la presencia de la glucoproteína gp51 en el 7% de casos de cáncer de mama, lo que sugiere que el virus tiene carácter potencialmente zoonótico y que puede infectar naturalmente células humanas (Ochoa-Cruz et al., 2006).

#### **2.1.6. TRANSMISIÓN**

La transmisión de la enfermedad puede ser horizontal de bovino a bovino o vertical de madre a hijo. Una vez que el virus ingresa al organismo se aloja en el interior de los linfocitos y se transmite principalmente a partir del contacto de un animal sano con la sangre de otro infectado; esto es lo que se conoce como transmisión horizontal. El hombre juega un papel importante en este proceso (Gómez, 2008). La forma más común de transmisión es por vía iatrogénica a través de prácticas grupales de manejo en pobres condiciones de higiene (Nagy y Tyler, 2007). Esto sucede, por ejemplo, al compartir el uso entre varios animales de los

mismos elementos contaminados con sangre infectada, entre ellos pueden mencionarse a las agujas hipodérmicas, jeringas, instrumental de cirugía, guantes para tacto rectal, descornadores, elementos para realizar el tatuado, etc. (Gómez, 2008).

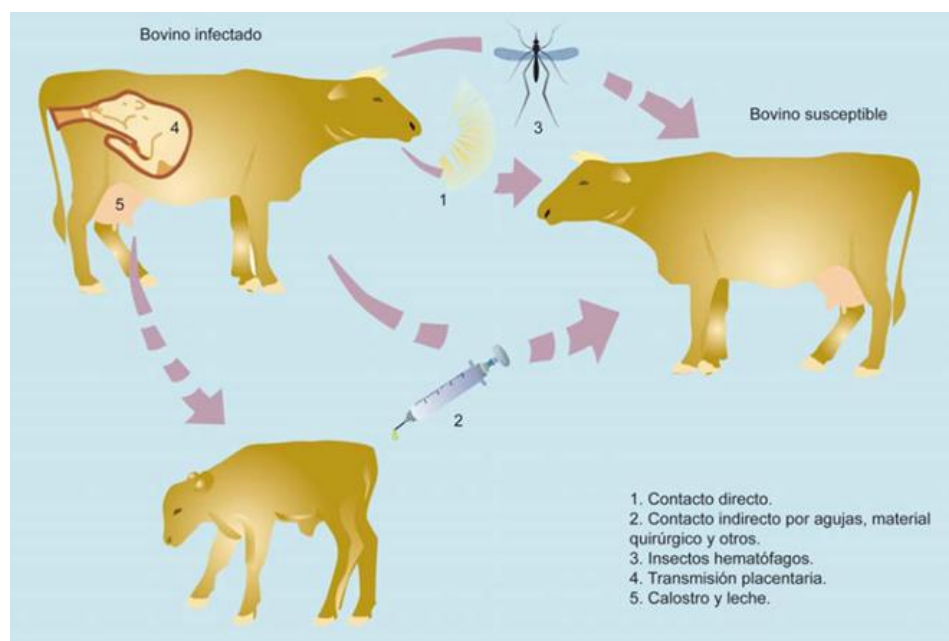
En ello tiene gran importancia el contacto con bovinos viejos recién adquiridos o del propio establecimiento, que son positivos a LVB, sobre todo a través de la saliva, flujo nasal y secreción traqueal, orina, flujo loquial; el ataque por insectos o ectoparásitos hematófagos. (Dirksen et al., 2005)

Hay que tener presente que para que se produzca el contagio sólo basta el contacto con la milésima parte del volumen de una gota de sangre proveniente de un bovino infectado. También ciertos insectos que se alimentan de sangre, como mosquitos, tábanos o garrapatas, pueden participar como vectores en la transmisión de la enfermedad (Gómez, 2008).

El virus se encuentra en el calostro y la leche de animales infectados y puede ser transmitido de madre a hijo en la lactancia. La vía transplacentaria también es responsable de aproximadamente el 5 % de terneros infectados nacidos de madres portadoras. La prevalencia aumenta a partir de los 6 meses de edad, con la mayor incidencia entre los 2 y 6 años, siendo mayor en explotaciones de bovinos tipo de leche que en bovinos tipo carne (Gonzales et al., 2001).

Teniendo en cuenta estas vías de contagio, se entiende que el ganado bovino lechero esté más expuesto al virus que el de carne en razón del

mayor número de maniobras que se llevan a cabo sobre los primeros, sumado al estrecho contacto que existe entre los animales de la granja. Si bien, puede haber presencia del virus en el semen debido a la salida, por traumatismos, de linfocitos infectados al tracto urogenital de los machos (Gómez, 2008).



*FIGURA 1.* Monti et al. (2005) se muestra las vías de contagio para la enfermedad de la leucosis viral bovina.

### 2.1.7. FACTOR PREDISPONENTE

Los factores predisponentes a la infección están asociados con las características del virus de los animales susceptibles y con las características de manejo a los que son sometidos los animales. El

cambio de clima, la zona, los tipos de manejo y alimentación. La forma de pro-viral, circulantes en los líquidos del organismo y estos pro-virus se conservan en el núcleo de las células susceptibles (linfocitos “B”) del hospedador (Grau y Monti, 2010). Las infecciones por retrovirus son persistentes y se prolongan durante toda la vida del organismo del hospedador y puede ser detectado por algunas pruebas serológicas. El hecho de que este virus se encuentra permanentemente en los linfocitos resulta que la sangre de animales infectados representa el mayor riesgo de infección (Villar et al., 2010).

#### **2.1.8. SINTOMATOLOGÍA**

Las manifestaciones clínicas de LVB comienzan después de los dos años de edad, aunque el período de mayor frecuencia de presentación es de 5 a 8 años. En muchos casos los animales infectados permanecerán asintomáticos por mucho tiempo, y solamente alrededor de un 10% desarrollarán síntomas luego de un largo periodo de incubación, los signos clínicos se manifestarán por el rápido desarrollo de linfosarcomas. Además, según su localización u órgano afectado producirán una gran variedad de signos y síntomas (Radostis, 2002).

Los signos de presentación están determinados por los sitios de formación de tumores e incluyen agrandamiento de los ganglios linfáticos superficiales, alteraciones digestivas, debilidad general y pérdida de peso. (Cullinane & Maguire, 2013). Del ganado infectado, alrededor del 30% desarrolla linfocitosis persistente, pero esto no está asociado con ningún signo clínico. En esos pocos animales que sí desarrollan la

enfermedad, los signos se ven a los 4 a 8 años de edad; hay tumor de linfoides (Murphy et al., 1900).

La linfocitosis persistente sin síntomas clínicos aparece antes, pero raramente antes de los dos años. Muchas vacas permanecen en el estado preclínico de la enfermedad durante años, con frecuencia durante toda la vida productiva, sin ninguna reducción aparente en su rendimiento, aunque los animales pueden infectarse con LVB a cualquier edad, los tumores se observan típicamente en animales de más de tres años (Kahn, 2007).

El estadio serológicamente positivo contra LVB, basado en la presencia de anticuerpos, es clínicamente inaparente con la única excepción de una parte de los animales que presentan una linfocitosis persistente. Al principio del estadio tumoral también faltan síntomas de enfermedad, hasta que los tumores alcanzan un tamaño tal que causan trastornos funcionales, estos varían según la localización, por lo que el cuadro clínico de la LVB es muy variado (Dirksen et al., 2005).

#### **2.1.9. LESIONES**

Las lesiones más constantes son tumores en los ganglios linfáticos, los más frecuentemente afectados son los iliacos (65 a 83%), intratorácicos (62 a 74%), mesentéricos (66%) y los superficiales (pre escapulares, la región cervical) (41 a 62%). Estos se muestran a menudo lisos o con

nódulos, sin adherencia a tejidos circundantes, consistencia blanda y edematosa o firme turgente y friable (Chamizo y Brito, 2005).

En algunos casos puede observarse hemorragia o pequeños focos de necrosis de apariencia seca y color amarillento. Cuando está afectada la médula ósea (aunque no se establezca en los registros, quizás debido a que los huesos generalmente no se examinan con regularidad) aparece un tejido blanco gris o blanco remplazando el color rojo que se observa en la médula hemopoyética normal (Cañibano, 2011).

La muerte podría relacionarse con el compromiso de glándulas adrenales, úlcera de abomaso o el bazo seguido de hemorragia interna. La mayor parte de los casos sigue un curso sub agudo (hasta de 7 días) o crónico (meses) iniciándose el deterioro del animal con pérdida de apetito, anemia y debilidad muscular (Blood, 1992).

El bazo se afecta en un 10 a un 50% de los casos, pudiendo presentar un aumento moderado de tamaño o una esplenomegalia tumoral; la superficie de corte aparece seca y se observan nódulos blanquecinos (Chamizo y Brito, 2005). En los riñones se ven lesiones infiltrativas con hemorragias visibles, nódulos y atrofia del parénquima renal (Gatti, 2007). El abomaso puede presentar infiltración de sus paredes con un engrosamiento de las mismas y hasta se pueden ver úlceras (Valencia y Menélik, 2008).

La leucosis viral bovina produce una linfadenopatía generalizada con dilatación simétrica de la mayoría de los ganglios periféricos que, a



menudo, presenta otras lesiones (Blowey y Wearver, 2004). La presencia de deformaciones o masas tumorales subcutáneas en varias partes del cuerpo también es indicativa de la enfermedad, la presencia de células tumorales en las extensiones de sangre (leucemia) es también bastante específica (Gatti, 2007).

#### **2.1.10. DIAGNOSTICO**

Las pruebas serológicas AGID y ELISA son las pruebas que actualmente recomienda la OIE para el diagnóstico de la infección con Virus de la leucosis bovina (Organización Internacional de Sanidad Animal, 2008).

Diferenciación de LVB esporádica, que generalmente afecta a los terneros y al ganado adulto joven. Antiguamente, se usaban recuentos de linfocitos sanguíneos para el diagnóstico de laboratorio y para la erradicación de LVB.

Varias pruebas serológicas pueden ser utilizado para la detección de anticuerpos contra este virus, generalmente anticuerpos dirigidos contra el gp51 y p24 del virus. Anticuerpos presentes en terneros menores a 6 meses de edad pueden ser de origen calostrual. La célula infectada generalmente se co-cultivan con una célula indicadora lineal, como células de pulmón bovino y la producción del virus infeccioso se fomenta mediante el uso de mitógenos (Cullinane y Maguire, 2013).

Las principales desventajas de estas pruebas son su incapacidad para diferenciar anticuerpos maternos pasivos de una infección activa, los cuales persisten durante los primeros 6 meses de vida (Monti et al., 2005).

ELISA, El principio de esta prueba es la detección del complejo antígeno-anticuerpo mediante el uso de un antisuero (anticuerpo monoclonal) conjugado con un marcador como la enzima peroxidasa, la misma que es detectada por el desarrollo de color al ponerse en contacto con el substrato (Kahn, 2007). Otra ventaja es que permite la identificación de individuos infectados en 24 horas (Martin et al., 2000).

#### **2.1.11. TRATAMIENTO**

No existe tratamiento para esta enfermedad ni tampoco vacunas comerciales (Blowey y Wearver, 2004). No se ha intentado tratamientos en gran número de animales. Cabe obtener remisiones pasajeras de los signos en bovinos afectados mediante el uso de mostaza nitrogenada (anticancerígeno) durante tres a cuatro días (Blood et al., 1985).

### 2.1.12. CONTROL Y ERRADICACIÓN

No hay que olvidar como se da la transmisión del virus y que no se puede saber que animales seropositivos desarrollaran linfosarcoma; también hay que tener presente que un animal infectado será un transmisor potencial del virus de por vida (Chamizo y Brito, 2005).

Las medidas de control deben incluir el chequeo de los animales previos a ingresar al rebaño o comprar animales en planteles libres de Leucosis, muestreos periódicos a animales mayores de 18 meses para identificar positivos. Animales con sintomatología clínica deben ser eliminados del plantel (Minagri, 2010).

Se ha 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 ganaderas. Se recomienda realizar el análisis serológico a intervalo de seis meses. En países en los que la prevalencia de la infección por el LVB es demasiado elevada, para poder eliminar todos los animales seropositivos de las granjas, se deberían adoptar prácticas de manejo dirigidas a reducir la diseminación de la infección (Blood et al., 1985).

Los hatos muy pequeños o con pocos animales infectados pueden deshacerse de los animales seropositivos y cambiarlos por animales seronegativos, realizando la prueba antes de introducirlos al hato (Pelzer y Spencher, 1993).

La metodología para el control y la erradicación depende de la edad de los animales afectados, el porcentaje de animales infectados en el rodeo, la infraestructura del establecimiento y las prácticas de manejo. Se debe tomar muestra a todo ganado de reciente adquisición y cuarentenarlo hasta tener el resultado (Flores y Rivera, 2000).

### **2.1.13. PREVENCIÓN**

Para una mejor prevención de la enfermedad únicamente debe permitir la introducción de bovinos en un establo o su importación a un determinado país cuando se tiene la certeza de que en el establo de procedencia no exista infección por el virus de la leucemia bovina. 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 (Gonzales et al., 2001).

## 2.2. ANTECEDENTES

### 2.2.1. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA

En el año 2011 se presentaron reportes de la enfermedad que se dieron a conocer por la Sub dirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica (SARVE) de la Dirección de Sanidad Animal (DSA) del SENASA, en la cual se presentan un total de 5 notificaciones de sospecha de Leucosis Viral Bovina a nivel nacional (1 en Arequipa, 3 en Cajamarca y 1 en Puno); los resultados arrojados después de la prueba (que no está especificada) fueron negativos a la presencia de LVB (SARVE, 2011). Asimismo, la leucosis bovina se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo; sin embargo, dependiendo del modo de transmisión del virus, el grado de infección es diferente dentro de un país o rebaños de una misma región (Pelzer y Spencher, 1993).

Los estudios realizados dieron una seroprevalencia del 21% para LVB. No se encontraron diferencias significativas asociadas a las variables raza, edad o estado reproductivo de los animales ( $p \geq 0.05$ ), pero si entre la presencia de anticuerpos contra LVB y las variables zona, tipo de explotación y sexo. Se demuestra la circulación del virus de la LVB en Montería, (Colombia) (Betancur y Rodas, 2008).

La investigación se llevó a cabo con el fin de realizar una determinación serológica de leucosis viral bovina en novillas de levante y vacas adultas. Se recolectaron 100 muestras de sangre de hembras escogidas al azar, pertenecientes a tres fincas del sector La Guafilla, de la vereda Morichal, en

Yopal, Casanare (Colombia), las cuales fueron analizadas para anticuerpos contra el LVB. La técnica serológica empleada fue la prueba de ELISA indirecta (Bautista et al., 2013).

El presente trabajo de investigación se realizó en el valle de Sama, perteneciente a la provincia de Tacna, durante el periodo septiembre - noviembre 2008. Teniendo como propósito determinar la seroprevalencia contra el virus de la leucosis viral bovina (LVB), según sexo y edad de los bovinos. Con un tamaño de muestra de 149 bovinos mayores de 2 años, los que fueron tomados al azar; las muestras fueron procesadas en el laboratorio SENASA-Lima, mediante la técnica de ELISA indirecto. El estudio evidencio una seroprevalencia de 22,8% para el valle de Sama (Romero, 2008).

Con la misión de determinar la seroprevalencia del Virus de la Leucosis Bovina, en el Valle Viejo (Santa Rosa, Omo, Rinconada, Chársagua) del distrito de Moquegua. Recolectaron al azar 110 muestras de sangre de vacunos con aptitud lechera, correspondiendo 88 a hembra y 22 a machos, mantenidos bajo crianza semi intensiva. La técnica diagnóstica utilizada, fue la prueba de ELISA indirecta, para la detección de anticuerpos contra el LVB. Los resultados evidenciaron una seroprevalencia del 20% para el Valle Viejo del distrito de Moquegua, con relación a la edad, los bovinos mayores a 6 años de edad) tienen una mayor probabilidad de contraer la enfermedad con un 10,06% y menos susceptibles los bovinos entre 4 a 5 años con 5,36%, según sexo, los bovinos hembras son las más susceptibles con un 22,81% y 0,00% son bovinos machos (Barrera, 2010).

El estudio se realizó en los distritos de Rupa Rupa, Hermilio Valdizan, Daniel Alomías Robles, Mariano Damazo Beraún, Padre Felipe Luyando y José Crespo y Castillo, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco. Con la finalidad de investigar la seroprevalencia del virus de leucosis bovina, mediante la prueba de ELISA Indirecta. Para el estudio se utilizaron 207 muestras, provenientes de animales de las razas Holstein, Brown Swiss y cruces (Holstein x Brown Swiss, Holstein x Cebú y Brown Swiss x Cebú), de 1 a 10 años de edad. Los resultados obtenidos de la seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado fue 12%. Por lo tanto, se recomienda realizar un control estricto en el movimiento de ganado vacuno de un lugar a otro para no incrementar la leucosis bovina (Modena, 2005).

La investigación se realizó en el distrito de Moquegua, con la finalidad de evaluar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina (BLV). Considerando los siguientes factores: Edad (menores y mayores de 2 años), Sexo (machos y hembras) y Estado reproductivo (preñadas y no preñadas). Las muestras de suero sanguíneo fueron tomadas de 94 bovinos, luego evaluadas mediante la prueba de ELISA indirecta que dio los siguientes resultados. La seroprevalencia de Leucosis Enzootica Bovina fue de 65,96% (62/94). La seroprevalencia en los bovinos menores de 2 años fue 37,3% y mayores a 2 años 77,61%. En hembras 66,27% y machos 62,50%. En vacas gestantes 78,78% y no gestantes o vacías 75% (Quequesana, 2016).

Con el objetivo de determinar la seroprevalencia del virus de la leucemia bovina en un establo lechero de la universidad pública de Lima, Perú, a

través de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra el BLV, empleando un kit comercial (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test), para la determinación de anticuerpos circulantes contra el virus. El establo se encontraba infectado, tal y como muchos otros establos lecheros de la zona. Se encontró una prevalencia de 92,7% (51/55), donde los animales mayores de 5 años, de 2 a 5 años y menores de 2 años fueron seropositivos, respectivamente. Se reconoce la importancia de iniciar un plan de control y erradicación que sirva como modelo para los establos comerciales del departamento de Lima (Sandoval et al., 2015).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de Estudio

El trabajo de investigación se realizó en el distrito de Pomata, se encuentra ubicado en la parte Nor - Este de la Provincia de Chucuito. Sus coordenadas geográficas se encuentran entre los 16° 16' 04" de latitud sur y 69° 17' 27" de Longitud Oeste, geográficamente localizada a una altitud de 3862 msnm. (SENAMHI, 2015).

Temperatura promedio de 2° a 16°C, en épocas de invierno en los meses de junio y Julio la temperatura durante la noche desciende hasta -15°C. Registrándose también durante las épocas de lluvias fuertes precipitaciones pluviales, en los meses de diciembre, enero, febrero y marzo, pudiendo este ser variable (Plan de desarrollo concertado del distrito de Pomata, 2010-2011).

Las muestras se analizaron utilizando el test ELISA indirecto, en el Laboratorio de Salud Animal del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, FMVZ – UNA – Puno.

#### 3.2. Población y Muestra

##### 3.2.1. Población

La población aproximada es de 4617 vacunos mejorados (Brown swiss). La razón principal de la crianza de ganado vacuno mejorado es para la producción de leche para su posterior comercialización (Minagri, 2010).

**Unidades de muestreo:** Las unidades de muestreo son las vacas y toros reproductores pertenecientes a la cuenca lechera del distrito de Pomata.

- Vacas y toros menores de 2 años.
- Vacas mayores de 2 años.

**Unidades de análisis:** Las unidades de análisis son las muestras de sangre de las cuales se usó la fracción sérica de las vacas y toros reproductores.

### 3.2.2. Tamaño de Muestra

Para hallar el tamaño de muestra se utilizó el método de muestreo al azar estratificado, con un nivel de confianza del 95% y un error de precisión de 10 %, mediante la siguiente fórmula (Daniel, 1996).

$$n = \frac{Nz^2pq}{(N - 1)d^2 + z^2pq}$$

Dónde:

n = Tamaño de la muestra,

z = 1,96 para el 95% de confianza, 2,56 para el 99%

p = Frecuencia esperada del factor a estudiar

q = 1- p

d = Precisión o error admitido

$$n = \frac{4617(1.96)^2(0.35)(0.65)}{4616(0.1)^2 + (1.96)^2(0.23)}$$

$$n = 87$$

El tamaño de muestra fue de 87 bovinos, (vacas y toros).

### 3.2.3. Distribución de la Muestra

De los animales para el estudio fueron de la raza Brown Swiss, los cuales fueron distribuidos según: Sexo, Edad y Estado reproductivo; considerándose solo, machos menores de 2 años, como reproductor o engorde la gran mayoría ya no opta por la monta natural (11), las hembras menores de 2 años se consideran vacías (18), y las hembras mayores de 2 años se clasifican según su estado reproductivo; vacías (antecedentes que no hayan preñado) (27), preñadas (31).

Tabla 1: Distribución de animales según; Sexo, Edad y Estado reproductivo, para la investigación

<b>Sexo</b>	<b>Macho</b>	<b>Hembra</b>	<b>Hembra Mayor (&gt;) de 2 Años</b>	
<b>Edad</b>	<b>Menor a (&lt;) a 2 Años</b>	<b>Menor (&lt;) a 2 Años</b>	<b>&gt; a 2 años</b>	<b>&gt; a 2 años</b>
<b>Estado reproductivo</b>	<b>Reproductor o engorde</b>	<b>Vacía</b>	<b>Vacías</b>	<b>Preñadas</b>
<b>N° de Animales</b>	11	18	27	31
<b>Sub total</b>	29			58
<b>Total</b>			87	

### **3.2.4. Variables**

#### **variable independiente**

- Edad
- Sexo
- Estado reproductivo

#### **Variable dependiente**

- Seroprevalencia de vacunos

### **3.3. Metodología de la Investigación**

#### **3.3.1. Método de Recolección de Campo**

La toma de muestra se llevó acabo, en la comunidad de Tuquina Tacahua del distrito de Pomata.

- Recaudamos datos y permiso del propietario para manipular sus animales.
- Se sujeta la cabeza en un brete con la ayuda de un cabezal o lazos.
- Se hace la antisepsia con algodón y alcohol yodado en la zona a tomar la muestra de sangre.
- Se colectó sangre no menor a 7 ml, la sangre fue tomada de la vena yugular del animal, con el sistema de tubos al vacío y agujas de 20x1" para cada animal. La sangre fue colectada en tubos sin

anticoagulante, los cuales se codificaron y se registraron en la zona de muestreo.

- Se retira la aguja, luego se ejerce presión sobre la zona de punción con algodón por unos segundos.
- Se desecha las agujas en un reciclador de objetos punzocortantes.
- Después de la sangría los tubos se mantuvieron en posición inclinada y bajo refrigeración (4 a 8 °C) colocándolos en gradillas hasta la formación del coágulo (20 minutos) acomodados en termos apropiados con hielo.
- Luego se centrifugaron las muestras, después de ello, los sueros sanguíneos se aislaron en viales y se mantuvieron en congelación a -20°C.

### **3.3.2. Trabajo de laboratorio**

#### **3.3.2.1. Método de diagnóstico**

El kit IDEXX Leukosis serum X2® proporciona una prueba de inmunoensayo enzimático; método rápido, simple, sensible y específico para detectar anticuerpos frente al virus de la leucosis Bovina (BLV) en muestras individuales de suero o plasma de bovino.

### Descripción y Principios

Las placas de micro titulación se suministran tapizadas con antígeno inactivado. Las diluciones de las muestras que van a ser procesadas se incuban en los pocillos. Cualquier anticuerpo específico frente a BLV se une al antígeno que tapiza los pocillos y forma un complejo antígeno-anticuerpo en la superficie del pocillo. El material que no ha quedado unido se elimina de los pocillos mediante lavado. A continuación, se añade un conjugado formado por una IgG anti-rumiante marcada con la enzima peroxidasa, susceptible a unirse a los anticuerpos de bovino que formaron el complejo con el antígeno de LVB. El conjugado no unido se elimina mediante lavado, y se añade un substrato TMB a los pocillos. El grado de color desarrollado (densidad óptica medida a 450nm) es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo específico frente a BLV presente en la muestra. El resultado se obtiene comparando la densidad óptica de las muestras con la densidad óptica del control positivo.

### Reactivos

A. Placa tapizada con antígeno BLV	10
B. Control Negativo	1 x 1,5ml
C. Conjugado	1 x 110ml
D. Diluyente de la muestra	1 x 110ml
E. Control Positivo	1 x 1,5ml

F. Substrato TMB n. °12	1 x 110ml
G. Solución de frenado n.°3	1 x 100ml
H. Solución de lavado concentrada (10X)	1 x 480ml

Almacenamiento: almacenar los reactivos a 2 – 8°C. los reactivos son estables hasta su fecha de caducidad, siempre y cuando hayan sido almacenados en las condiciones correctas.

### **Desarrollo de la prueba de ELISA**

- 1) Obtener la placa (o placas) tapizada(s) con antígeno y anotar la posición de la muestra. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Guardar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volver a almacenar a 2-8°C.
- 2) Dispersar 90 µl de Diluyente de muestra en cada pocillo.
- 3) Dispersar 10 µl de control positivo (CP) NO DILUIDO en pocillos duplicados.
- 4) Dispersar 10 µl de control negativo (CN) NO DILUIDO en pocillos duplicados.
- 5) Dispersar 10 µl de muestra NO DILUIDA en los pocillos apropiados.
- 6) Mezclar el contenido de los pocillos golpeados levemente la placa o usar un agitador de placas.

- 7) Cubrir la placa e incubar 60 minutos (+-5min) a +37°C (+-3°C) o 14-18 horas a 18-26°C. para ambas opciones las placas deben de estar selladas herméticamente o deben cubrirse e incubarse en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar evaporación.
- 8) Eliminar el contenido liquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 3 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después de lavado final, eliminar el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.
- 9) Dispersar 100 µl conjugado en cada pocillo.
- 10) Cubrir la placa e incubar durante 60 min. (+-5min.) a +37°C (+-3°C). Las placas deben de estar selladas herméticamente o incubarse en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar evaporación.
- 11) Repetir el paso 8.
- 12) Dispersar 100 µl de sustrato TMB n. °12 en cada pocillo.
- 13) Incubar a 18-26°C durante 15 minutos (+-1min).
- 14) Dispersar 100 µl de solución frenado n°3 en cada pocillo.
- 15) Leer y registrar los resultados de las pruebas: Inmediatamente después de añadir la solución de frenado, la placa debe leerse en un lector de ELISA. Se ajustó la densidad óptica (OD) de longitud de onda de lectura a 450 nm.



- 16) Se devolvió todos los reactivos restantes del kit a 2 - 8 °C para su almacenamiento.

### 3.3.2.2. EQUIPO DE LABORATORIO

#### **ChroMate**®

El **ChroMate 4300** es un instrumento de laboratorio que está previsto para ser usado para el diagnóstico clínico in-vitro. Es un sistema abierto programable y de fácil calibración por el usuario con formato de plato seleccionable, nombrado de pruebas alfanumérico, editado y trazado de curva, y banderas de aviso y mensajes de error.

**ChroMate** es compacto, controlado por microprocesadores, el sistema del fotómetro está diseñado con múltiples propósitos para leer y calcular los resultados de las pruebas, las cuales son leídas en micro platos.

Es un instrumento para fines generales destinados para ser usados por profesionales de laboratorio entrenados quienes están capacitados para seleccionar las funciones y opciones apropiadas para cada aplicación clínica específica.

### **Principios de operación**

El transportador del plato posiciona con precisión cada pozo dentro de la trayectoria óptica para la lectura. La energía de la luz emitida de una lámpara es enfocada por una lente integral, dirigida a través de una apertura, y luego pasada verticalmente a través de la muestra. Una rueda girando constantemente debajo de la muestra posiciona los filtros de tal forma que las lecturas son tomadas muy rápidamente a ambas longitudes de onda la de operación y la diferencia. Usando valores de absorbancia diferencial dicromática corrige imperfecciones del pozo plástico y remueve los efectos de meniscos y turbidez. Una foto detectara, convierte la energía de la luz transmitida en señales eléctricas las cuales son amplificadas e interpretadas.

Un sistema óptico simple lee cada pozo, uno por uno, asegurando así idénticas condiciones ópticas y proporciona un diseño económico y de poco mantenimiento. Un plato con 96 pozos puede ser leído e impreso en el modo de absorbancia en aproximadamente ocho segundos.

### **Modos de pruebas**

El programa de **ChroMate** contiene varias calculaciones seleccionadas pre-programadas con fines generales para facilitar el manejo de datos para pruebas de inmuno enzimas y otras pruebas generales.

**Modo absorbancia**

El lector de micro plato imprime las absorbancias en monocromáticas y dicromática diferencial a la longitud de onda seleccionada por el usuario.

**Modo de porcentaje para absorbancia**

Este modo es un modo de calibración punto-a-punto el cual calcula el % absorbancia para cada muestra y calibrador en adición al valor de la concentración.

Al valor más alto de la absorbancia del calibrador es asignado el 100% y cada absorbancia de la muestra y del calibrador es calculado como un porcentaje de este valor y mostrando en el campo de la interpretación del reporte.

**Modo de regresión polinomial**

El instrumento acepta un numero de calibradores (desde 3 a 7), subsecuentemente calculando concentraciones basadas bajo la mejor curva de calibración que cuadre (regresión polinomial).

$$Y = A + B * X + C * X^2 + D * X^3$$

Cuarto orden es definido por:

$$Y = A + B * X + C * X^2 + D * X^3 + E * X^4$$

La curva de calibración es ajustada por un factor del -10%.

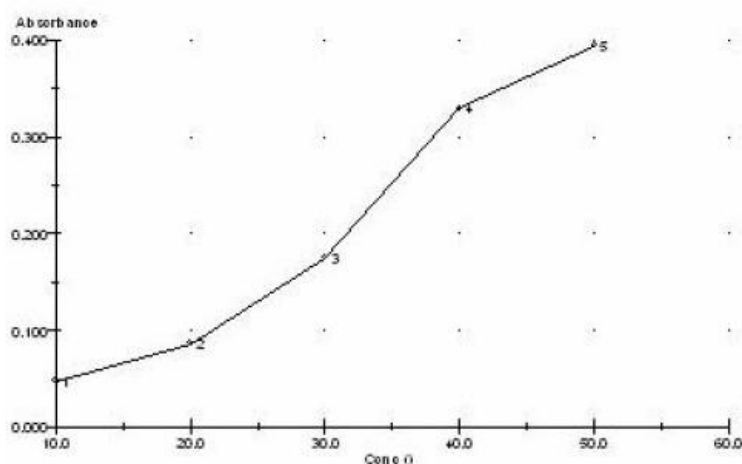


FIGURA 2. Curva de calibración del lector ChroMate 4300.

### 3.3.3. Análisis de datos

#### Criterios de Validación

Los valores de control deben clasificarse dentro de los siguientes límites:

- Los controles positivos deben de producir una media OD  $\geq 2,000$  de absorbancia.
- Los controles negativos deben de producir una media OD  $\leq 0,500$  de absorbancia.

Datos:

- Las muestras de control positivo para anticuerpos del VLB (virus de la leucosis bovina), tuvieron una densidad óptica de 1,390 y 1,439.
- Las muestras de control negativo para los anticuerpos VLB (virus de la leucosis bovina), tuvieron una densidad óptica de 0,232 y 0,249.

Interpretación:

- Las muestras de prueba son positivas para anticuerpos del VLB, si producen una densidad óptica mayor o igual a la media del control de positivo.
- Las muestras de prueba son negativas para los anticuerpos VLB, si producen una densidad óptica menor o igual que la media del control negativo.

#### 3.3.4. Estimación de prevalencia

Para poder estimar la prevalencia serológica del Virus de la Leucosis Viral se realizó mediante la siguiente fórmula (Thrusfield, 1990).

$$P = \frac{\text{Número de muestras positivas}}{\text{Total, de muestras examinadas}} \times (100)$$

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS BOVINA

Tabla 2: Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito Pomata – Puno.

Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
87	0	0,0

En la tabla 2, se observa la seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos del distrito de Pomata, (0/87) en donde no se encontró positivos 0,0%.

Similares resultados encontrados por la SARVE (2011) contrastan los reportes de la enfermedad hecho en el año 2011, los cuales fueron presentados por la Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia, en la cual presentan un total de 5 reportes de sospecha de Leucosis Viral Bovina a nivel nacional; los resultados obtenidos después de la prueba fueron negativos a la presencia de leucosis bovina.

El trabajo de investigación hecho por Betancur y Rodas (2008) nos muestra que, de las 163 muestras examinadas, se detectaron 35 animales positivos 21% y 79% animales negativos. La LVB tiene una amplia distribución mundial se considera que en América la enfermedad se encuentra en forma enzootica.

Estudios realizados en 100 muestras procesadas, Bautista et al. (2013) evidencia prevalencia total de 15% (15 animales) de positividad en la prueba

de ELISA para LBV, y un 85% de negatividad. El 60% corresponde a la prevalencia en la finca Santa Catalina; el 33,3%, a la finca El Paraíso, y el 6,6%, a la finca El Carmen, (Colombia).

Reportes hechos por Barrera (2010). Se observa que de los 110 sueros sanguíneos de vacunos analizados, 22 dieron positivos, lo que representa una prevalencia de 20%, mientras que 88 resultaron negativos con una prevalencia de 80%. Se observa el porcentaje de prevalencia en el Valle Viejo del distrito de Moquegua, indicando un 20% de seropositividad y un 80% de seronegatividad.

Según los resultados obtenidos por Romero (2008) en el presente estudio, de un total de 149 bovinos muestreados, 34 resultaron positivos con una seroprevalencia de 22,81%; y 115 bovinos fueron seronegativos representando el 77,19%. Otro reporte por Modena (2005) de un análisis serológico de 207 muestras de suero sanguíneo mediante la prueba de ELISA Indirecta y el resultado obtenido fue de 25 positivos y 182 negativos dando una seroprevalencia de 12,06%.

El trabajo realizado por Quequesana (2016) de un total de 94 muestras provenientes de animales con apariencia clínica normal, 62 vacunos resultaron positivos a anticuerpos contra el VLB (virus de la Leucosis Bovina) mediante la prueba de ELISA indirecta, lo que representa el 65,96% de seroprevalencia de anticuerpos contra este virus en vacunos de la raza Holstein en la cuenca lechera del distrito de Moquegua. Igualmente,

Sandoval et al. (2015) de muestra seroprevalencia de 95,7% en el establo de la universidad pública de Lima, Perú.

Los resultados de seroprevalencia encontrados por los citados autores es debido a que trabajaron con animales en regiones diferentes a las condiciones del altiplano donde se llevó a cabo el presente estudio, donde existe climas favorables para la difusión del virus, en tanto que en Puno no ofrece temperatura y humedad favorables para su transmisión, como indica Pelzer y Spencher (1993) En lugares con alta seroprevalencia de la enfermedad, existen factores de manejo, tipo de crianza, condiciones ambientales favorables e insectos hematófagos que facilitan la difusión del virus. Asimismo; los insectos hematófagos se asocian a un 3-16% de las infecciones en climas tropicales o estaciones de verano.

Blood (1992) Los insectos hematófagos como tábanos, mosca del establo y garrapatas podrían ser vectores mecánicos del VLB, Se han observado que estos insectos se alimentan más en animales adultos que en jóvenes y que el riesgo de transmisión al insecto se incrementa al aumentar el número de linfocitos circulantes infectados en vacas adultas Los murciélagos también pueden ser vectores mecánicos del VLB.



#### 4.2. SEGÚN SEXO

Tabla 3: Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata - Puno, según; sexo animal.

Sexo	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Machos	11	0	0,0
Hembras	76	0	0,0

En la tabla 3, se observa los resultados según Sexo, en machos (0/11) y hembras (0/76) evidenciaron 0,0% de seroprevalencia.

Según asociación sexo, la investigación realizada por Betancur y Rodas (2008) arrojó algunos resultados concernientes a la influencia del macho con relación a la presencia de LVB en vacas. Como se puede observar de 26 toros muestreados, 11 resultaron positivos 31,4% de seroprevalencia. El valor observado es altamente significativo, lo cual podría estar relacionado con el mayor número de contactos del macho con hembras seropositivas a través de la monta natural.

En el trabajo hecho por Barrera (2010) se observó, de los 110 sueros sanguíneos 88 corresponden a hembras de los cuales 20 resultaron seropositivos lo que representa el 18,18% y de 22 machos muestreados 2 resultaron seropositivos representando el 1,82%. La seroprevalencia de acuerdo al sexo, muestra una mayor predisposición en hembras con 18,18% y para machos de 1,82%. la seroprevalencia de leucosis viral bovina en el valle de Sama es de 22,81%.

Reportes de investigación realizado por Romero (2008) para determinar la seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina según Sexo en el Valle de Sama de un total de 149 bovinos; en machos de un total de 4, no presentaron positivos, lo que constituye un 0,0% y en hembras de un total de 145 bovinos, 34 fueron positivos con un 22,81%. En el distrito de Inclán, en un total de 80 bovinos, según sexo; en machos de un total de 3, no presentaron positivos, lo que constituye un 0,0% y en hembras de un total de 77 bovinos, 21 fueron positivos con un 14,09%. En el distrito de Sama, se observa de un total de 69 bovinos, según sexo; en machos de un total de 1, no presentaron positivos, lo que constituye un 0,0% y en hembras de un total de 68 bovinos, 13 fueron positivos con un 8, 72%.

El trabajo realizado por Quequesana (2016) respecto a la seroprevalencia para hembras fue de 66,27% % (57/86) y machos de 62,5% (5/8), e indica que no existe diferencia porcentual como también no muestra diferencia estadística ( $p \geq 0,05$ ) datos sometidos a una prueba de chi cuadrado, por lo tanto, el sexo no podría considerarse como un factor de riesgo, a la mayor o menor presentación de la Leucosis Bovina.

Al no determinar animales positivos en el presente trabajo, se evidencia que los vacunos hembras y machos, del distrito de Pomata no son portadores del virus de la leucosis bovina.

Cañibano (2011) indica que la enfermedad radica en un gran porcentaje en animales hembras más que en animales machos, siendo las hembras las más predispuestas a las formas severas de la enfermedad. Se presentan más casos en animales hembras, porque las condiciones de manejo y el

tiempo que viven los animales en los sistemas de producción, permiten observar mayor incidencia de ejemplares con la infección.

### 4.3. SEGÚN EDAD

Tabla 4: Serorevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata - Puno, según; Edad animal.

Edad animal	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
< a 2 años	29	0	0,0
> a 2 años	58	0	0,0

En la tabla 4, se observa; nuestros resultados según Edad, para menores de 2 años (0/29) y mayores de 2 años (0/58) son negativos 0,0% de seroprevalencia.

Al análisis del factor Edad, Betancur y Rodas (2008) muestra resultados con relación a seropositividad versus Edad, fue para vacunos de 3 y 4 años 17,1%, de 5 y 6 años de edad 31,4%, y para vacunos más de 7 años 51,4% de seroprevalencia. Se determinó una ligera significancia estadística ( $p \geq 0,05$ ), el cual podría interpretarse como la existencia de una mayor frecuencia de infección dependiendo del intervalo de edad.

Resultados encontrados por Barrera (2010), las muestras analizadas de 110 sueros sanguíneos, 25 corresponden a bovinos menores de 1 año, solo se encontró 1 muestra seropositiva a LVB lo que representa 0,91%; para los animales de 1 a 2 años se analizaron 19 sueros sanguíneos, 4 indicaron seropositividad a LVB, equivalente a 3,64% y para animales mayores de 2

años se analizaron 66 sueros sanguíneos, resultando 17 de ellos seropositivos representando el 15,45% de seroprevalencia.

La edad con mayor seropositividad corresponde a vacunos mayores de 2 años con prevalencia de 15,45%, seguida de los vacunos entre 1 a 2 años con una prevalencia de 3,64%, y con menor seropositividad los vacunos menores de 1 año con 0,91%.

Reportes realizados por Romero (2008) demuestran la seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina según Edad, en el Valle de Sama; se observa en bovinos mayores a 6 años con un 10,06%, seguido de los bovinos que comprenden entre 2 a 3 años, con un 7,37 %. Y finalmente los bovinos de 4 a 5 años con un 5,36%. En el Distrito de Inclán; se observa que los bovinos que han alcanzado mayor seropositividad son los bovinos de 6 a más años de edad con un 6,4 %, seguido de los bovinos de 2 a 3 años, con un 4,69 %. Y finalmente los bovinos de 4 a 5 años con un 3,5%. En el Distrito de Sama; se observa que los bovinos que han alcanzado mayor seropositividad son los bovinos de 6 a más años de edad con un 4,2 %, seguido de los bovinos de 2 a 3 años con un 2,62 %. Y finalmente los bovinos de 4 a 5 años con un 2,1 %de seropositividad.

Los resultados de la seroprevalencia de leucosis bovina hechas por Modena (2005) en función a la edad de los animales, de la provincia de Leoncio Prado (Huánuco). La seroprevalencia de leucosis es en alto porcentaje en animales mayores de 5 años (5%), 6 años (13%), 7 años (36%), 8 años (45%), 9 años

(100%) y 10 años (100%). El mayor porcentaje se registran en animales mayores de 7 años en adelante.

El trabajo realizado por Quequesana (2016) muestra diferencia porcentual al comparar a animales menores a 2 años y mayores a 2 años como factor de riesgo en la mayor o menor proporción de la enfermedad siendo para menores de 2 años de 37,03% y para animales mayores a 2 años de 77,61% de seroprevalencia.

La investigación reportada por Sandoval et al. (2015) en el examen clínico solo se encontró una vaca con los ganglios linfáticos incrementados de tamaño, sin embargo, el 91% de los animales presentaron anticuerpos contra el BLV, asimismo todos los animales mayores de 5 años, y el 97% de los animales entre 2 y 5 fueron positivos a la seroprevalencia de BLV.

En el estudio no se determinó la influencia de la Edad frente a la presencia del virus de la leucosis bovina; sin embargo, los antecedentes del presente estudio demuestran que los animales mayores de 2 años tienen mayor seroprevalencia, posiblemente por el tiempo de incubación del virus, desde el momento que ellos han adquirido la enfermedad, dicho acontecimiento es corroborado por Mariño (2003) esta es una enfermedad que es difícil de identificar clínicamente debido a que su período de incubación es prolongado, los signos se aprecian mayoritariamente después de los 2 años de edad y el periodo de mayor frecuencia es en general entre los 3 a 8 años, además solo una baja proporción de animales desarrollan tumores (0,1 – 5 %).

#### 4.4. SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO

Tabla 5: Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss del distrito de Pomata - Puno, según; Estado reproductivo.

Estado reproductivo	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Preñadas	31	0	0,0
Vacías	27	0	0,0

En la tabla 5, se observa; nuestros resultados según Estado reproductivo, para preñadas (0/31) y vacías (0/27) evidenciaron porcentajes de 0,0% de seroprevalencia.

El trabajo realizado por Betancur y Rodas (2008) al análisis del estado reproductivo; el grado de correlación entre las variables citadas con la seropositividad a la LVB, respecto a los trastornos reproductivos los resultados fueron; para aborto 22,5%, multíparas 14,1% de seroprevalencia, estos resultados no fueron significativos ( $p \geq 0,05$ ) lo que, en otras palabras, quiere decir que la presencia de reactividad a la LVB es independiente de los trastornos reproductivos considerados.

Estudio realizado por Bautista et al. (2013), del 15% de seroprevalencia de LVB en Colombia, 60% corresponde al grupo de vacas adultas (preñadas); 20%, al grupo de vacas horas (secas), y 20%, al grupo de novillas de levante. Reportes hechos por Barrera (2010) demuestra que, de 67 muestras analizadas en hembras vacías y preñadas, las seroprevalencias encontradas son 8,96% y 16,42% respectivamente. Se observa que hay mayor seroprevalencia de LVB en hembras preñadas con un 16,42% y en vacías

8,96%. Del total de 39 hembras preñadas, 28 fueron por inseminación artificial, de las cuales 7 son positivas dando una seroprevalencia de 17,95% y 11 fueron por monta natural, siendo 4 positivas, lo que representa una seroprevalencia del 10,26%.

La prueba para determinar la seroprevalencia realizada por Quequesana (2016) en vacas gestantes es de 78,78% y en vacas no gestantes es de 75% lo que nos da un porcentaje casi similar entre vacas gestantes y no gestantes. Sometiendo los datos a la prueba de Chi cuadrado se determinó que no existe diferencia estadística ( $p \geq 0,05$ ), este no es un factor que determine la mayor presentación de la enfermedad, por lo tanto, una vaca en estado de gestación o vacía tiene la misma probabilidad de infectarse con dicha enfermedad, finalmente se podría indicar que el estado reproductivo no es un factor de riesgo.

Al no determinar animales positivos en el presente trabajo, se evidencia que los vacunos del distrito de Pomata no son portadores del virus de la leucosis bovina, muy a pesar de que el manejo reproductivo en estos animales es mediante la inseminación artificial.

Johnson y Kaneene (1991) demuestran que la enfermedad está ampliamente difundida a nivel mundial; sin embargo, se indica que los niveles de infección están entre el 0 y 84% dependiendo del área geográfica, de los rebaños dentro de una misma región y del tipo de crianza de los vacunos, los cuales podrían estar relacionado con el mayor número de contactos del macho con hembras seropositivas a través de la monta natural, la inseminación artificial y el trasplante de embriones.

## V. CONCLUSIONES

- En la cuenca lechera del distrito Pomata no existe la presencia del virus que produce la enfermedad de la leucosis viral bovina.
- La seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en los vacunos Brown Swiss según; Sexo fue negativo.
- La seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en los vacunos Brown Swiss según; Edad no se determinaron animales positivos a leucosis bovina.
- La seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en los vacunos Brown Swiss según; Estado reproductivo para los vacunos estudiados fue negativo.



## VI. RECOMENDACIONES

- En la cuenca lechera del distrito de Pomata, los vacunos de la raza Brown Swiss no tienen la infección viral, por lo tanto, implementar la vigilancia epidemiológica.
- Para futuras investigaciones, se deben de utilizar otras pruebas complementarias de laboratorio para analizar el virus de la leucosis bovina.

## VII. REFERENCIAS

- Barrera Ancco, M. L. (2010). *Seroprevalencia de leucosis viral bovina (lvb) en el valle viejo del distrito de moquegua* (tesis de pregrado). Facultad de Ciencias Agrícolas. Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna.
- Baruta, D. A., S. M., Ardoino, J. L., Brandan., R. E., Sosa, E., Mariani, y E. M., Albretch. (2011). Leucosis bovina enzoótica. General pico- República Argentina. *Ciencia veterinaria* Vol 13, Nº 1. ISSN: 1515-1883.
- Bautista, R. N., R. Y., Nova, M. O., Pulido-Medellín, y R. J., Andrade-Becerra, (2013). *Determinación serológica de leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas de la vereda Morichal, Yopal, Casanare*. Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja. e-mail: pequisnabr@hotmail.com.
- Betancur H., C., y G. J., Rodas (2008). seroprevalencia del virus de la leucosis viral bovina en animales con trastornos reproductivos de montería. *Rev.MVZ Córdoba*. volumen 13. pp. 1200.
- Blood , D. C., J. A., Henderson, y O. M., Radostis. (1985). *Medicina Veterinaria*. 5 ta edicion. Mexico D. F.: interamerica Me Graw - Hill.
- Blood, D. O. (1992). *Medicina Veterinaria-Enfermedades Virales*. Mexico D. F.: interamericana S. A. de C. V.
- Blowey, W. R., y D. A., Wearver. (2004). *Atlas a color de enfermedades y transmision del Ganado vacuno*. (2da ed.). España: Elsevier.
- Cañibano, E. (2011). *Leucosis Enzoótica Bovina* (tesis de posgrado). Facultad de ciencias Veterinarias. Escuela profesional de ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Tandil - Argentina .
- Chamizo, E. G., y R., Brito. (2005). Leucosis bovina enzoótica como causa de ineficiencia reproductiva en el ganado lechero. *Rev. Electrónica de*

*veterinaria. REDVET. Vol.7. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070505.html>.*

Cullinane, A., y D., Maguire. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology*. (C. Hewat, Ed.). *MOSBY ELSEVIER*. Canada. *volumen II*. pp 920.

Daniel, W. (1996). *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 3ª ed. México: Limusa. P. 198-209

Dinter, Z., y B., Morein. (1990). Virus infections of. Department of Veterinary Microbiology, Section of Virology, Swedish University of, United States and Canada: *Elsevier Science Publishers B.V. 100(2)*, 122-31.

Dirección Agraria Rregional, (2009). Dirección informática agraria Puno. Series agrícolas-pecuarias. Puno.

Dirksen, G., D. H., Grunder, y M., Stober. (2005). *Medicina interna y cirugía del bovino*. (4ta ed.). Argentina: Inter - Medica.

Faúndez, P. (2005). *Determinación de seropositividad de leucosis enzoótica bovina en lecherías de las comunas de Rengo, San Fernando, Tinguiririca, Chimbarongo y San Vicente de la Tagua*. Centro de Proyectos Externos FAU. Universidad de Chile - Tagua de la IV Región.

Flores, A., y A., Rivera. (2000). Seroprevalencia del virus de leucosis bovina en la cuenca lechera de Arequipa. *Inv Vet Perú*. Facultad de Medicina Veterinaria del Perú de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 114-148.

Gatti, M. (2007). Enfermedad de gran importancia y limitante para la exportación de ganado en pie: Leucosis Bovina. *la lechuza roja*. Revista de Dinámica Económica y Control. vol. 31, número 6, 2061-2084.

Gómez, R. (2008). *Enciclopedia bovina* (1ra ed.). Universidad autónoma de Mexico, Mexico D. F.: interamerica Me Graw - Hill.

Gonzales, E. T., G. A., Oliva, A., Varela, E., Bonza, M., Licursi, y M. E., Etcheverrigaray. (2001). Leucosis enzoótica bovina: evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, ELISA, WB, PCR) en bovinos inoculados

- experimentalmente. Universidad Nacional de la Plata - Argentina. *Analecta Veterinaria*, Vol. 38 Núm. 1.
- Grau, M., y G., Monti. (2010). Prevalencia serológica predial e intrapredial para el virus de la leucosis bovina (VLB) en lecherías de las regiones de Los Ríos y de Los Lagos de Chile. *Med Vet*, 42, 87-91.
- Hung, A. (1987). *Bovine Leukemia infección in Perú-E. I. R. L. Martergraf*. IVITA. *Onderstepoort J Vet Res.*; 52 : 133-144.
- Johnson, R., y J. B., Kaneene. (1991). *Bovine leukemia virus*. Part I. Descriptive epidemiology. Clinical manifestations and diagnostic test. Continuing education. California, USA: Elsevier. 12(13)2:315-327.
- Kahn, B. A. (2007). *Manual Merck de Veterinaria*. (6ta ed.). Brcelona - España: Editorial Océano
- Mariño, B. (2003). *Prevalencia de tambos infectados con el virus de la leucosis bovina (LBV) mediante determinación de anticuerpos en leche por el ELISA*. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: irmad@censa.edu.cu
- Martin, D., A., Arjona, N., Viana, I., Soto, N., Barquero, y L., Gómez. (2000). Comparación de métodos serológicos y virológicos para el diagnóstico de la infección por el Virus de Leucosis Bovina Enzoótica (BLV). *Med Vet*. 2Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia - Colombia.
- Minagri, (2010). Ministerio de Agricultura – Puno. Oficina de estudios económicos y estadística, Campaña Agropecuaria. Puno.
- Minagri, (2015). Ministerio de Agricultura. Oficina de estudios económicos y estadística, Campaña Agropecuaria. Puno
- Modena Lopez, E. (2005). *Seroprevalencia De Leucosis Viral Bovina En La Provincia De Leoncio Prado* (tesis de pregrado). Facul Tao De Zootecnia del departamento Académico De Ciencias Pecuarias. Tingo María, Perú.

- Monti, G., K., Frankena, B., Engel, W., Buist, H., Tarabla, y M., Jong. (2005). Evaluation of a new antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine leukemia virus infection in dairy cattle. En: *veterinary Diagn invest. Mexico*.
- Murphy, A. F., P. E., Gibbs, C. M., Horzinek, y J. M., Studdert. (1900). *Veterinary Virology* (3ra ed.). California, USA: Elsevier.
- Nagy, D., y S., Tyler. (2007). Kleiboeker. Decreased Periparturient Transmission of Bovine Leukosis Virus in Colostrum-Fed Calves. *Vet Intern Med. Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria. La Universidad de Melbourne - Victoria. Australia*.
- Ochoa-Cruz, A., A., Uribe, y M., Gutiérrez. (2006). Universitas Scientiarum. Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 11(2): 31-40.
- Organizacion Internacional de Sanidad Animal. (2008). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Enzootic Bovine Leukosis. (6ta, Ed.) *Proc Natl Acad Sci USA.*; 73: 1014-1018.
- Pelzer, K. D., y D. J., Spencher. (1993). controlling BLV infection on dairy operations Vterinary Medicine. *J Am Vet Med Assoc.* 244 (8): 914-22. doi: 10.2460 / javma.244.8.914. EE. UU.
- Plan de desarrollo concertado del distrito de Pomata. (2010-2011). Modelos de Desarrollo Rural con Enfoque Territorial Juli Pomata”. Asociación para el desarrollo Sostenible y Fomento Agroecológico “ADESFA”.
- Quequesana Manchego, H. S. (2016). *seroprevalencia de la leucosis enzootica bovina en la cuenca lechera del distrito de moquegua* (tesis de pregrado). Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Puno - Peru.

- Radostis, O. (2002). *Leucosis bovina enzoótica, medicina veterinaria tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. España: Acriba.
- Romero, S. (2008). *Seroprevalencia de leucosis viral bovina (lvb) en el valle de sama- Tacna* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Sandoval , R. M., A. C., Delgado, L. G., Ruiz, y O. C., Ramos. (2015). Determinación de la Seroprevalencia del Virus de la Leucemia Bovina en un Establo Lechero de Lima, Perú. *Rev Inv Vet ; 26(1): 152-158*.
- SARVE ,(2011). Boletín Estadístico. Dirección de Sanidad Animal. Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/11/Bolet%C3%ADn-SARVE-2011-cuadro-2.pdf>
- SENAMHI. (2015). Servicio Nacional de Hidrología y Meteorología de la ciudad de Puno.
- Thrusfield, M. (1990). *Epidemiología veterinaria. Presentación de los datos numéricos. Demostración de asociación. Encuestas. Estudios observacionales. Epidemiología serológica*. ISBN: 8420006742. Idioma: SPA. P.imprenta: Zaragoza - España : Acriba,. xi, 339 p. : 24 cm.
- Toma, B., M., Eloit, y M., Savey. (1990). Las enfermedades animales por retrovirus: Leucosis Enzoótica Bovina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*
- Valencia, A., y G., Menélik. (2008). Determinación de la Prevalencia de abortos causada por leucosis viral bovina (LVB) en vacas Holsteins Friesian (Sos taurus), en el período de abril- setiembre con la prueba de Elisa en establos de la sección "A" de la Irrigación de Majes Provincia de Cayl. Arequipa.

- Van der Maaten, M. J., J. M., Miller, y M. J., Schmerr. (1981). Effect of colostral antibody on bovine leukemia virus infection of neonatal calves. *Vet. Res.* College of Veterinary Medicine, University of Missouri-Columbia, Columbia.
- Villar, D., L., Duque, C., Giraldo, J., Perez, F., Pallares, y K., Schwartz. (2010). Posterior Paralysis in a Holstein Cow with Enzootic Bovine Leukosis. *Rev Colom Cienc Pecuaria* vol.25 no.2 Medellín Apr.

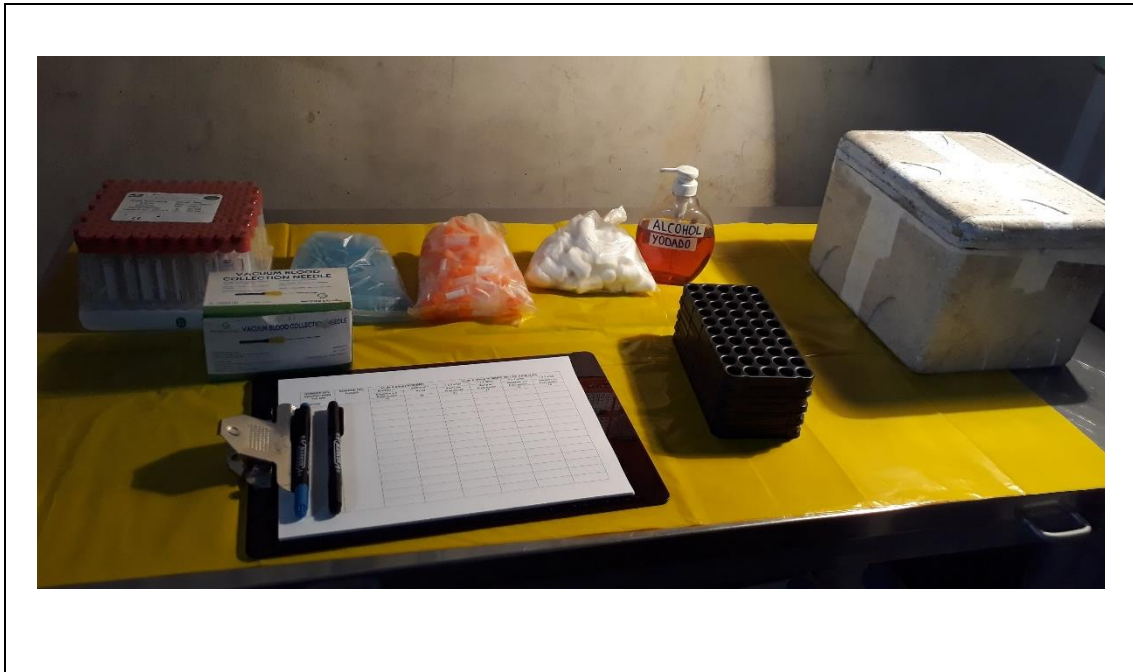
## ANEXOS

### MATERIALES QUE SE USO PARA LA TOMA DE MUESTRA

- Alcohol yodado
- Torundas de algodón
- Ligadura para hemostasia
- Aguja vacutainer
- Tubo vacutainer
- Gradillas
- Caja térmica
- Contenedores para objetos punzo cortantes
- Guantes de látex
- Registro de muestreo
- Tablero
- Lapicero



PANEL FOTOGRÁFICO



a. Preparación de materiales para la toma de muestra.



b. Conversación con el propietario de los vacunos antes de empezar a muestrear.



c. Sujeción del animal.



d. Realizando la hemostasia para dar mejor visibilidad a la vena yugular.





e. Extracción de sangre en el tubo vacutainer sin anticoagulante.



f. Toma de datos del propietario del animal.

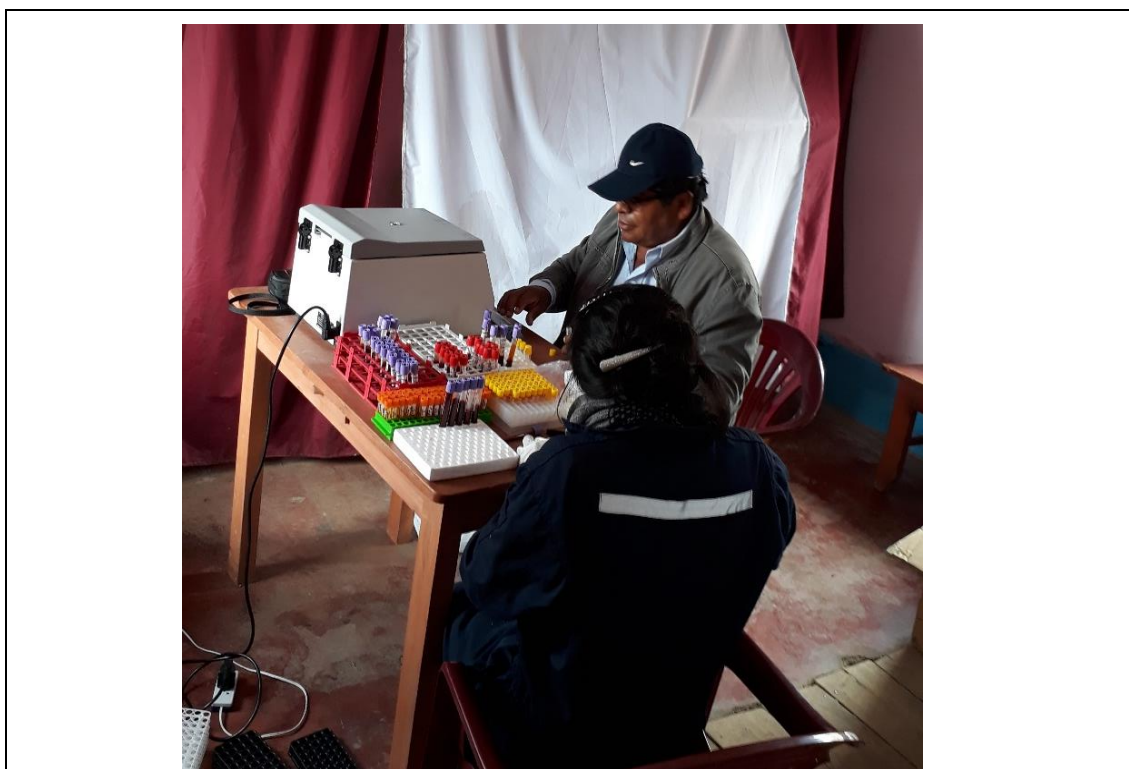


g. Recolección de muestras de sangre en los respectivos tubos vacutainer.



h. Centrifugación y extracción de suero sanguíneo.





i. Rotulado a los viales ya con suero sanguíneo.



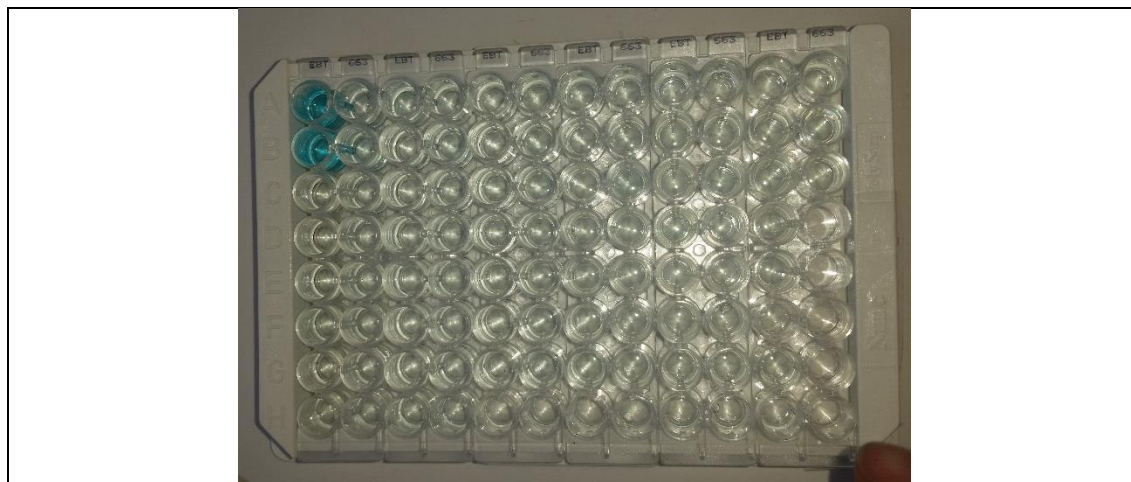
j. El kit IDEXX Leukosis serum x2.



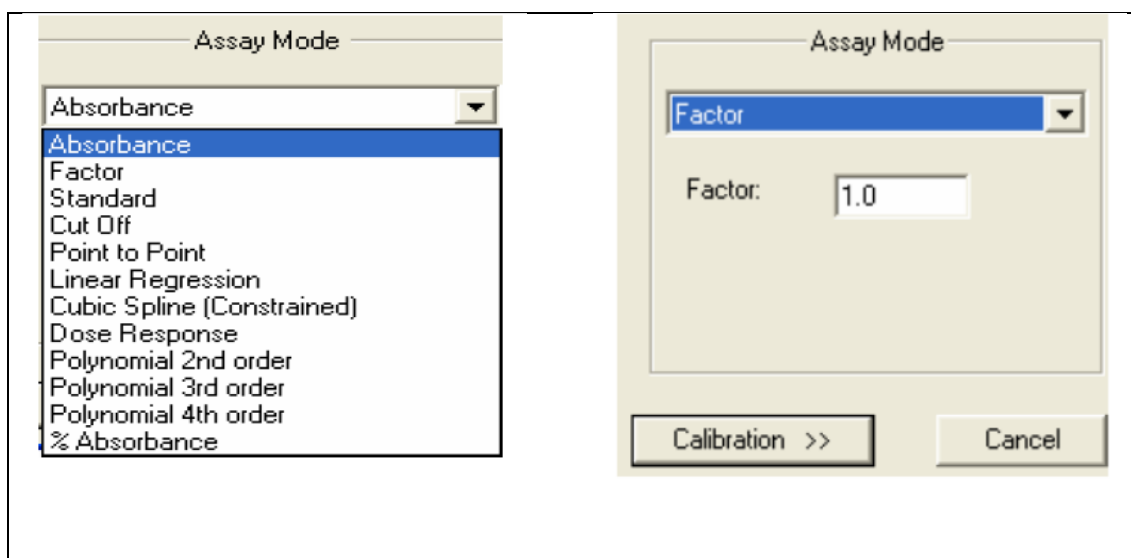
k. Muestras de suero sanguíneo en orden para la prueba de ELISA.



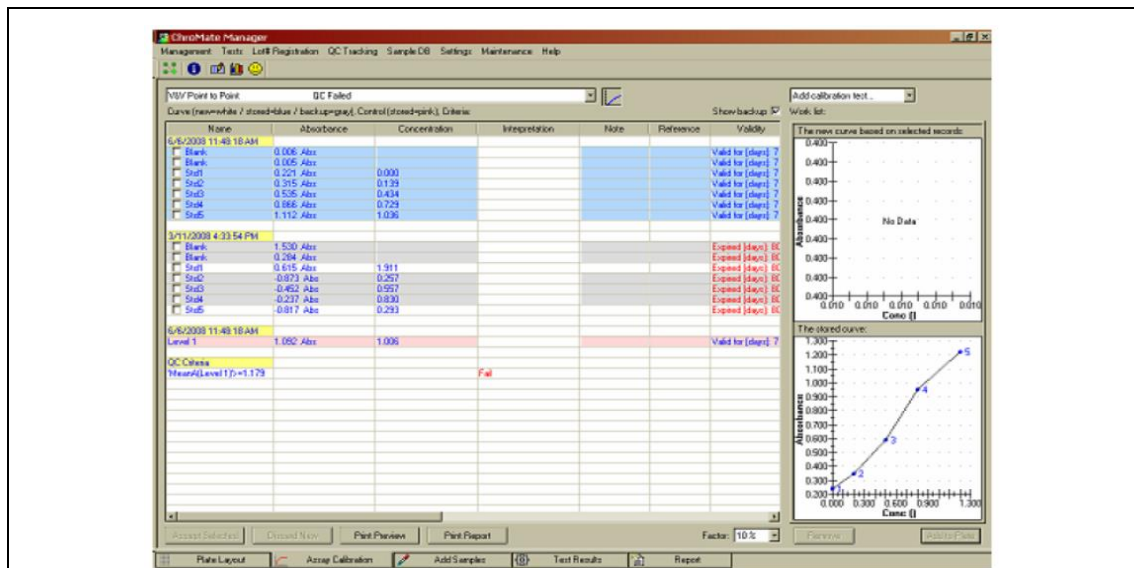
l. Dispensado de muestras en cada pocillo.



m. Viraje de las muestras testigo POSITIVO en los pocillos A1 y B1.



n. El lector de micro plato modo de absorbancia.



o. El lector de micro plato, calibración ajustada por un factor del -10%.

Resultado de Prueba leucosis arcangel quispe

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1.390	0.236	0.267	0.246	0.227	0.254	0.249	0.243	0.252	0.250	0.244	0.242
B	1.439	0.290	0.240	0.276	0.242	0.253	0.229	0.257	0.265	0.252	0.262	0.233
C	0.232	0.240	0.237	0.246	0.232	0.263	0.234	0.298	0.241	0.270	0.272	0.257
D	0.249	0.259	0.237	0.252	0.241	0.253	0.241	0.246	0.276	0.260	0.260	0.067
E	0.221	0.225	0.246	0.263	0.246	0.240	0.248	0.262	0.267	0.254	0.266	0.086
F	0.246	0.234	0.235	0.241	0.240	0.242	0.246	0.260	0.249	0.281	0.255	0.122
G	0.216	0.235	0.242	0.259	0.279	0.264	0.269	0.258	0.256	0.260	0.264	0.095
H	0.227	0.232	0.261	0.268	0.247	0.256	0.247	0.251	0.253	0.244	0.262	0.111

p. Resultados impreso de la prueba de ELISA.