

**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 DE LA RAZA BROWN SWISS EN TRES  
PARCIALIDADES DEL DISTRITO DE TARACO”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. JAIME URIEL BORDA QUISPE**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2019**

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

## TESIS

“SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB) EN  
VACUNOS DE LA RAZA BROWN SWISS EN TRES PARCIALIDADES DEL  
DISTRITO DE TARACO”

PRESENTADA POR:

Bach. JAIME URIEL BORDA QUISPE

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

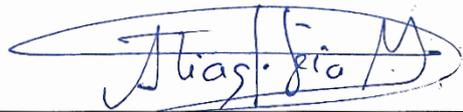
PRESIDENTE:

  
Dr. FELIPE SANTIAGO AMACHI FERNANDEZ

PRIMER MIEMBRO:

  
M.Sc. ROLANDO DANIEL ROJAS ESPINOZA

SEGUNDO MIEMBRO:

  
M.Sc. MERY LUZ ALIAGA TAPIA

DIRECTOR:

  
D.Sc. NATALIO LUQUE MAMANI

ASESOR:

  
Mg. HUGO VILCANQUI MAMANI

Área: Salud animal

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

Fecha de sustentación: 06/06/2019

## DEDICATORIA

*Con Cariño.*

*A Dios por haberme dado la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para terminar este trabajo.*

*A mi padre **J. Basilio Borda hanceo** por los ejemplos de perseverancia, amor, comprensión y apoyo en todos los momentos difíciles.*

*A mi querida madre **Rosa, Quispe maldonado** por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor infinito.*

*A mis hermanos, **Fredy, William R., Washington, Zandra, Gerson A., E. Cesar** y sobrinos (as) **Miriam M., A. Jordan** y **Dayana Z.** quienes me apoyaron siempre motivándome a ser mejor profesionalmente.*

*A mis Abuelos **Eusebio (†)** y **Ana María(†)**, que desde el cielo ilumina cada paso en mi camino.*

*A mi amada novia **Noheми CA**, quien es la razón de mi vida **TZM**.*

*Ami cuñada, **Vilma**, por apoyarme siempre animicamente.*

*A mis amigos (as) **Macoq, Amilcar, Richard, Jhon**.*

***Jaime Uribe L. BORDA Z.***

## AGRADECIMIENTOS

*En primer lugar, agradezco a mi familia por estar siempre y apoyarme en toda mi carrera.*

*A mi alma Mater, la UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO, y a la Gloriosa Facultad de MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA: por haberme dado las bases y elementos en la enseñanza de esta admirable profesión.*

*A mi director de tesis D.Sc.: Natalio LUZUE MAMANI, al Mg. Hugo VILCANZU MAMANI, mi asesor de tesis por toda la paciencia, valioso tiempo y conocimientos que me sirvieron de gran ayuda. Gracias por todo el apoyo.*

*A mis jurados, Dr. Felipe S. AMACHI FERNANDEZ, M.Sc. Rolando Daniel ROJAS ESPINOZA, M.Sc. Mery Luz ALIAGA TAPIA: por haberme admitido, contribuido a la corrección y perfección de este trabajo de investigación.*

*Al laboratorio de Salud animal con sede en el CIP Chuquibambilla de la FMVZ-UNAP y al personal que lo compone por haberme brindado las facilidades para procesar mis muestras.*

*A los productores ganaderos de la cunca lechera del distrito de Taraco por haberme facilitado el manipuleo de sus ejemplares para extraer muestras de sangre para mi trabajo de investigación.*

*A todos mis compañeros de la promoción 2016 II, Amigos y familiares que de una u otra forma contribuyeron en el logro del presente.*

*Con gratitud verdadera :*

*Jaime Uriel BORDA 2.*

*"Hay que arriesgarse a hacer cosas nuevas. Si aciertas es tu recompensa, si te equivocas, es una lección." (AR).*

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
RESUMEN .....	10
ABSTRACT.....	11
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>12</b>
1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	14
1.1.1 OBJETIVO GENERAL.....	14
1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1.1. RESEÑA HISTÓRICA .....	15
2.1.2. DISTRIBUCION.....	16
2.1.3. DEFINICIÓN .....	16
2.1.4. SINONIMIAS. ....	17
2.1.5. ETIOLOGÍA. ....	17
2.1.6. TAXONOMIA. ....	18
2.1.7. VIAS DE TRANSMISIÓN.....	18
2.1.8. PATOGENIA.....	22
2.1.9. SINTOMATOLOGÍA.....	25
2.1.10. LESIONES.....	27
2.1.11. DIAGNOSTICO. ....	28
2.1.12. TRATAMIENTO.....	30
2.1.13. CONTROL Y ERRADICACIÓN.....	30

2.2.	ANTECEDENTES.....	31
2.2.1.	A NIVEL MUNDIAL. ....	31
2.2.2.	A NIVEL NACIONAL. ....	33
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
3.1.	LUGAR DE ESTUDIO.....	37
3.2.	UNIDAD DE ESTUDIO.....	38
3.3.	METODOLOGIA. ....	40
3.4.	ANÁLISIS DE DATOS .....	48
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>51</b>
4.1.	SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA. ....	51
4.2.	SEGÚN SEXO. ....	55
4.3.	SEGÚN EDAD. ....	57
4.4.	SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO.....	59
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>62</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>63</b>
	ANEXOS .....	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Curva de calibración del lector Chromate 4300. ....	46

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1: Distribución de animales para la investigación.....	39
Tabla 2: Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss de las parcialidades de; Jasana Pocsellin, Jasana Capallino y Requena del distrito de Taraco - Huancané - Puno. Segun variables; sexo, edad y estado reproductivo.....	51

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**FMVZ** = Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

**CIP**=Centro de Investigación y Producción.

**VLVB** = Virus de la Leucosis Viral Bovina.

**VLB** = Virus de la Leucosis Bovina.

**ELISA** = Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay.

**IG** = Inmunoglobulinas.

**Gp** = glicoproteína.

**CP** = control positivo.

**CN** = control negativo.

**OD** = densidad óptica.

**PBS**= Buffer de Fosfatos Salino

**PCR** = Reacción en Cadena de la Polimerasa.

**IDGA** = Inmunodifusión en Gel Agar.

**Abs** = Absorbancia

**SN** = Seroneutralizacion.

**RIA** = Radio Inmuno Ensayo.

**ID** = Inmunodifusión.

**WB** = Western Blot.

**PPD** = Derivados Proteicos Purificados.

**gp51**= Glicoproteína 51

**p24**=Proteína 24

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en tres parcialidades (Jasana Pocsellin, Jasana Capallino y Requena) del distrito de Taraco - región Puno. Durante el mes de Noviembre del 2017, con el objetivo de determinar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos *Brown Swiss*; según edad (< a 2 años y > a 2 años), sexo (machos y hembras) y estado reproductivo (preñadas y vacías). Se realizó el muestreo por conveniencia de 90 animales, que se encuentran bajo un manejo de sistema de crianza mixto. Para el estudio se obtuvieron muestras de 7 mL de sangre de la vena yugular, para la detección de anticuerpos contra la LVB, fueron analizados mediante la prueba de ELISA indirecta, en el laboratorio de Salud animal con sede en el CIP Chuquibambilla de la FMVZ-UNAP. El resultado fue de 0.0 % de prevalencia en (0/90) vacunos evaluados según Sexo; machos (0/11) y hembras (0/79), según Edad; < de 2 años (0/29) y > de 2 años (0/61) y según estado reproductivo; hembras preñadas (0/31) y vacías (0/30). En conclusión, los vacunos de los criadores de las tres parcialidades del distrito de Taraco se encuentran libres de esta enfermedad viral. Estos resultados negativos pueden deberse a que en el lugar de estudio no prospera el agente viral debido probablemente a diferentes factores; sistema de crianza, medio ambiente, área geográfica y altitud. Todos estos constituirían los principales factores adversos para la propagación del agente viral; Además, las condiciones climáticas no favorables para los artrópodos picadores. Los insectos tienen un rol importante en la transmisión de Leucosis Viral Bovina principalmente en zonas donde hay una alta infestación e invasión por artrópodos picadores, siendo los mosquitos, moscas picadoras y tábanos los más importantes debido a que su habitad generalmente son ambientes húmedos y calurosos. Sin embargo, esta se limita a zonas tropicales o subtropicales en donde existe alta densidad de estos reactivos en la presencia de la Leucosis Viral Bovina. En comparación con el altiplano peruano pertenece a la región Suni de clima frío-seco con variaciones estacionales, que varía desde los 3,820m. hasta los 6,000m. La temperatura generalmente varía de -5 a 18°C, con una humedad relativa de 24%. Esto no certifica que en posteriores investigaciones se encuentre este agente viral, por lo cual se debe ser implementado con programas de vigilancia epidemiológica.

**Palabras clave:** Leucosis, Seroprevalencia, Vacunos, ELISA.

## ABSTRACT

The present research work was carried out in three parts (Jasana Pocsellin, Jasana Capallino and Requena) of the district of Taraco - Puno region. During the month of November 2017, with the objective of determining the seroprevalence of Bovine Viral Leukosis in Brown Swiss cattle; according to age (<2 years and > 2 years), sex (males and females) and reproductive status (pregnant and empty). The convenience sampling of 90 animals was carried out, under the management of a mixed breeding system. For the study samples of 7 mL of blood from the jugular vein were obtained, for the detection of antibodies against the LVB, they were analyzed by means of the indirect ELISA test, in the animal health laboratory based in the CIP Chuquibambilla of the FMVZ- ONE P. The result was 0.0% prevalence in (0/90) cattle evaluated according to Sex; males (0/11) and females (0/79), according to Age; <2 years (0/29) and > 2 years (0/61) and according to reproductive status; Pregnant (0/31) and empty (0/30) females. In conclusion, the cattle of the breeders of the three partialities of the district of Taraco are free of this viral disease. These negative results may be due to the fact that the viral agent does not thrive in the study site, probably due to different factors; breeding system, environment, geographical area and its altitude. All these would constitute the main adverse factors for the propagation of the viral agent; In addition, the climatic conditions are not favorable for the biting arthropods. Insects play an important role in the transmission of Bovine Viral Leukosis mainly in areas where there is a high infestation and invasion by biting arthropods, being mosquitoes, mincer and horse flies the most important because their habitat are usually humid and hot environments. However, it is limited to tropical or subtropical zones where there is high density of these reactors in the presence of Bovine Viral Leukosis. In comparison with the Peruvian highlands it belongs to the Suni region of cold-dry climate with seasonal variations, which varies from 3,820m. up to 6,000m. The temperature generally varies from -5 to 18 ° C, with a relative humidity of 24%. This does not certify that this viral agent is found in subsequent investigations, which is why it should be implemented with epidemiological surveillance programs.

**Keywords:** Leukosis, Seroprevalence, Cattle, ELISA.

## I. INTRODUCCIÓN

De acuerdo al último Censo Agropecuario (CENAGRO 2012) la Región Puno tiene una población de 617,163 vacunos, esto representa una cifra importante en relación a la población total de vacunos del país. De esto, la provincia de Huancané cuenta con una población de 50,116 vacunos y el distrito de Taraco, lugar donde se tomó las muestras para el presente trabajo, cuenta con una población de 20,624 vacunos.

Las enfermedades infecciosas, bacterianas, virales y parasitarias afectan negativamente la productividad de los animales. La Leucosis Viral Bovina (LVB), es una enfermedad causada por un retrovirus de la familia Retroviridae y como tal posee una reverso-transcriptasa responsable de la síntesis de una copia de ADN a partir de ARN viral (Burny *et al.*, 2002). Una vez que el animal está infectado con LVB, la infección se prolonga de por vida (Dinter y Morein, 1999).

En vacunos esta enfermedad (LVB) produce una alteración directa del sistema inmune del ganado infectado, llegando a desarrollar tumores en diferentes órganos y tejidos del animal portador, además, estos animales (positivos a LVB) tienen restricción a la exportación de ganado en pie, semen y/o embriones; todo esto genera importantes pérdidas en la comercialización de ganado y material genético (Trainin y Brener, 2005).

Las pérdidas económicas que se reportan, en vacas infectadas con el BLV, van desde una reducción en la producción de leche, hasta un aumento en los costos de reemplazo e incremento en los gastos veterinarios (Pelzer, 1997; Sargeant *et al.*, 1997; Ott *et al.*, 2003; Erskine *et al.*, 2012). Además, los productores de animales de cría incurren en pérdidas, debido a restricciones en la exportación de ganado bovino seropositivo (OIE, 2012).

Los estudios de estimaciones para determinar el impacto de la LBE en la producción han sido inconsistentes. Algunos investigadores determinaron una relación entre infección con el BLV y producción de leche, con disminuciones de un 2,5% a 3,5% (Brenner et al., 1989; Emanuelson *et al.*, 1992; 1998) hasta un 11% en vacas seropositivas, en comparación con animales seronegativos (D'Angelino *et al.*, 1998). En este mismo sentido, Mora (1997) determinó menor producción de leche en vacas seropositivas que en seronegativas al BLV.

Finalmente, la mayor pérdida económica, cuantificable, que ocasiona la LBE, es la restricción de venta y exportación de vacas seropositivas a mercados internacionales y el decomiso de vacas con linfosarcomas en mataderos (Radostits, 1999; Rhodes, 2003). Según Ott y *col.*, (2003) una mayor proporción de sacrificio de vacas seropositivas, conlleva a una mayor tasa de condena de animales que presentan tumores.

Esta enfermedad (LVB) es de distribución mundial; en el Perú se ha reportado casos positivos en diferentes regiones. Sin embargo, en el distrito de Taraco no se tiene información sobre la presencia o no de esta enfermedad, ya que muchas veces se puede presentar en forma subclínica. Considerando esta deficiencia de información respecto a la presencia o ausencia de esta enfermedad en el distrito de Taraco, es que se realizó el presente trabajo de investigación planteándonos los siguientes objetivos:

## 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* en tres parcialidades del distrito de Taraco.

### 1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la Seroprevalencia de la leucosis viral bovina en vacunos de la raza *Brown Swiss*, según edad (menores de 2 años y mayores de 2 años).
- Determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza *Brown Swiss*, según sexo (machos y hembras).
- Determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza *Brown Swiss*, según estado reproductivo (preñadas y vacías).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. RESEÑA HISTÓRICA

Las primeras descripciones de la LVB datan de 1871 en Alemania, realizadas por Leisering. Se cree que los primeros casos aparecieron en la zona de Memel (Lituania) y luego se desplazaron hacia el oeste del continente. En los años posteriores a la Segunda Guerra Mundial se incrementaron los casos de enfermedad con tumores en Alemania y otros países del este de Europa, lo que originó la profundización de las investigaciones en esta zona. A su vez, vacas infectadas fueron exportadas desde las costas del Mar Báltico a EEUU y así llegó la enfermedad a América, expandiéndose por EEUU y Canadá, principalmente en el ganado lechero. Los demás países de América probablemente la han adquirido a través de importaciones para mejorar los rebaños de los mismos (Johnson y Kaneene, 1991).

La LVB fue reportada por primera vez en Gran Bretaña en 1978 y es bastante común en Europa continental (Geoffrey, 2000).

Un siglo más tarde, se comenzó a investigar la etiología infecciosa de la LEB debido a la presentación de tumores de características transmisibles entre bovinos de un mismo rodeo donde se realizaban prácticas de inmunización que incluían la transferencia de sangre entera entre los animales (Olson, 1961).

Finalmente en 1970 se confirmó la naturaleza transmisible de la infección probándose que la inoculación de sangre y leche procedente de bovinos afectados era capaz de provocar tumores en bovinos y ovinos. En 1972 se comprobó la presencia de anticuerpos específicos dirigidos contra el virus de la leucosis bovina (LVB) en suero de

bovinos con tumores linfoides utilizando el ensayo de inmunofluorescencia, (Miller y Olson, 1972).

### **2.1.2. DISTRIBUCION.**

La leucosis enzootica bovina presenta una distribución mundial y los países con mayor prevalencia son: Venezuela 49%; Japón 44% y filipinas 32%. En estudios realizados en florida se reportó una prevalencia de 48% en ganado lechero y 7% en ganado productor de carne. Otros estudios indican que existe una predisposición del 25,5% en animales mayores de 2 años y un 12,6% en menores de dos años. En estudios realizados en México, particularmente en baja californi, se encontró una prevalencia de 32% (Chamizo, 2005).

### **2.1.3. DEFINICIÓN**

La Leucosis Viral Bovina (LVB), es una enfermedad infecciosa, crónica, viral, contagiosa, que afecta naturalmente al ganado bovino. La mayoría de las infecciones son subclínicas, pero dentro de los tres años posteriores al contagio alrededor del 30% de los afectados desarrollará linfocitosis persistente, y una proporción menor de linfosarcomas en diversos órganos. (Baruta, 2011).

Los animales infectados con LEB en su mayoría permanecen clínicamente normales, una tercera parte inmortaliza a los linfocitos B, en este caso se observa una linfocitosis persistente y de 1 a 10 % desarrolla proceso tumoral. (Johnson y Kaneene, 1991).

La LVB tiene un periodo de incubación prolongado y curso crónico e inaparente, del 30 a 70 % de los animales infectados son portadores asintomáticos, con un proceso de linfocitosis persistente; solamente el 0.5 al 5% cursan con manifestaciones clínicas de

linfosarcoma. Afecta a bovinos adultos, aunque la infección puede aparecer en animales jóvenes; las hembras sometidas a factores estresantes están expuestas a perder formas más severas de la enfermedad, (Resoagli *et al.*, 1998; Rosciani *et al.*, 1997).

#### **2.1.4. SINONIMIAS.**

La Leucosis Viral Bovina (LVB) también llamada linfosarcoma, linfoma maligno, Leucosis Bovina Enzootica; es un proceso neoplásico común en ganado bovino. Los primeros casos clínicos fueron observados en Bendixen en 1908 en Dinamarca, (Hung, 1987).

#### **2.1.5. ETIOLOGÍA.**

El virus se caracteriza por tener presente la enzima transcriptasa reversa que es la responsable de la síntesis de una copia de ADN viral. Poseen viriones envueltos en lipoproteínas, son esféricos, con 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 virus de la Leucosis Viral Bovina pertenece a la familia Retroviridae, es un Retrovirus y como tal posee una reverso-transcriptasa responsable de la síntesis de una copia de ADN a partir de ARN viral. El ADN así formado (pro virus) puede conservarse en el núcleo de ciertas células del hospedador y esta propiedad original es la causa de las características particulares de las diferentes infecciones debidas a retrovirus (Burny *et al.*, 2002; Toma *et al.*, 1990).

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).

#### 2.1.6. TAXONOMIA.

Según **Mohanty y Dutta, (1993)** la expresión del material genético es un virus RNA monocatenario, que presenta la siguiente clasificación:

<b>Clase</b>	:	VI
<b>Familia</b>	:	Retroviridae
<b>Subfamilia</b>	:	Oncovirinae
<b>Tipo</b>	:	C
<b>Género</b>	:	Deltaretrovirus

#### 2.1.7. VIAS DE TRANSMISIÓN.

##### 2.1.7.1. TRANSMISIÓN DIRECTA

- a) **La transmisión por vía oral:** Que considera principalmente a la leche y el calostro como fuentes de infección en terneros, estableciéndose 2 hipótesis que detallan la transmisión por esta vía, siendo la primera que considera el papel protector de los anticuerpos de origen calostrual absorbidos por el ternero; la

segunda hipótesis contempla la impermeabilidad de la mucosa intestinal a los linfocitos infectados después de 24 a 36 horas de vida del ternero (Van der Maaten *et al.*, 1981; Lassauzet y *col.*1991).

- b) Vía respiratoria:** Es importante considerar a la expectoración de las vías aéreas de bovinos infectados que son potencialmente virulentos y de mucha importancia en la transmisión de esta enfermedad (Grau y Monti, 2010).
- c) Vía Venérea:** El papel de la vía venérea para ser de menor importancia ya que existe un agente espermático inactivante del virus lo que explicaría las dificultades del aislamiento del virus en el esperma de bovinos infectados; Se ha establecido que una de cada 4 vacas se infecta con esperma bovino conteniendo linfocitos infectados (Cañibano, 2011; Toma y *col.* 1990).
- d) Transmisión en útero:** Es necesario evaluar la presencia del virus en los linfocitos infectados del recién nacido como un método más seguro para el diagnóstico precoz (Giraud y *col.* 2010). Las tasas de transmisión en útero varían de un máximo de 14 a 25 % hasta el 3 a 6% de las hembras infectadas; Se comprobó que el riesgo es mayor en los casos donde la madre desarrolla linfocitosis persistente o linfosarcoma (Thurmond *et al.*, 1983).

#### 2.1.7.2. TRASMISIÓN INDIRECTA

Se basa en la virulencia de la sangre de los animales infectados.

- a) Transmisión por los artrópodos picadores:** Los insectos juegan un rol preponderante en la presencia de la Leucosis Viral Bovina principalmente en zonas donde hay una alta infestación e invasión por artrópodos picadores, siendo

los mosquitos, moscas picadoras, tábanos y garrapatas los más importantes. (Giraudó y *col.* 2010).

**b) Transmisión iatrógena:** La falta de un adecuado manejo de praxis clínica por parte de los médicos veterinarios y técnicos de campo generan grandes riesgos en la salud bovina. Principalmente en la transmisión de enfermedades como es el caso de la Leucosis Viral Bovina, (Bruner y *col.* 1988) citan errores habituales como:

- El uso de agujas y jeringas en varios animales.
- Uso de instrumental quirúrgico infectado.
- Palpaciones recto vaginales con un mismo guante.
- Materiales de aretado y descorne no desinfectado
- Toma de muestras de sangre múltiples sin la debida asepsia y uso de desinfectantes.

Desde el punto de vista analítico tenemos que considerar principalmente a la fuente viral que está representado por los bovinos infectados y de aquí todo material propio de ellos como secreciones, excreciones y todo líquido corporal que contenga principalmente linfocitos infectados (Gásquez, 1991).

Podemos citar los siguientes materiales:

**a) Sangre:** Vía importante de transmisión (Giraudó y *col.* 2010) entre las principales tenemos:

**Vía intradérmica:** La inoculación intradérmica de 2 500 linfocitos provenientes de animales infectados puede desarrollar infección, equivalentes a 0,5 µl de sangre

entera. **Vía subcutánea:** Volúmenes de sangre de 0,1 y 0,5  $\mu$ l de sangre producen infección en los terneros. La inoculación subcutánea, intramuscular e intravenosa de 1 a 10  $\mu$ l de sangre de un animal infectado sin linfocitosis es infectante.

**Palpaciones:** 2 ml de sangre proveniente de vacas infectadas, colocados por vía rectal, con o sin palpación rectal de por medio, inducen la infección en terneras de seis meses de edad. La transmisión era mayor en aquellas terneras sometidas a palpación rectal

- b) El calostro y la leche:** Se ha puesto en evidencia la presencia del virus en la leche y el calostro de vacas infectadas, siendo importante remarcar que la leche de vacas con mastitis son más virulentas dada la presencia importante de leucocitos específicamente la presencia de linfocitos infectados a través del epitelio de la mucosa intestinal durante las primeras horas de vida. Sin embargo, la infección por esta vía, al parecer, ocurre muy rara vez, posiblemente debido a la existencia de anticuerpos maternos en la leche o calostro que también son absorbidos por el ternero (Blood, 1992).
- c) El espermatozoides:** Si bien puede haber presencia de virus en el semen debido a la salida, por traumatismos de linfocitos infectados al tracto urogenital de los machos, se cree que esta vía de transmisión es poco probable en bovinos. La transmisión del Virus de la Leucosis Bovina mediante el trasplante embrionario puede ocurrir muy raramente (Giraudó, y col. 2010).
- d) Orina y heces;** No se ha reportado casos de contagio por estas excreciones orgánicas en condiciones normales, pero en situaciones patológicas puede aumentar el riesgo de infección dada la presencia de linfocitos infectados (De la Sota, 2005).

- e) **Saliva:** Se ha demostrado que de 17 vacunos infectados, sólo 5 mantenía una saliva virulenta, lo que representa el 30% de riesgo de infección por esta vía (Toma y col. 1990).
- f) **Secreciones Nasales y Bronquiales:** Se ha establecido que principalmente las secreciones pulmonares y bronquiales tienen mayor virulencia a diferencia de secreciones nasales ya que mostraron ser menos virulentas. (Castelli y Manzini, 2001).

En general la presencia de linfocitos infectados en secreciones o excreciones condiciona su virulencia pudiendo ser aumentada por lesiones inflamatorias locales dada la extravasación sanguínea de los vasos. Además es necesario considerar que la sangre sobretodo y la leche son los materiales más virulentos desde el punto de vista epidemiológico (Toma y col. 1990)

#### **2.1.8. 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 subclínicamente 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).

El perfil genético del genoma huésped predispone el desarrollo de los tumores. El factor más importante en la progresión clínica de la enfermedad es el complejo mayor de histocompatibilidad. Los tumores se producen a causa de la infiltración de linfocitos B transformados, que se acumulan en tejidos tales como hígado, corazón, ojos, piel, pulmones y ganglios linfáticos. (Gillet y Florins, 2007)

Durante el primer mes post infección las células infectadas son detectables en sangre, alrededor de las 2 semanas, alcanzan un pico en la tercera semana y luego decrecen rápidamente, lo que sugiere que el virus está entrando a nuevas células huésped en otros tejidos (Fulton y *col.*, 2006).

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 leucósitos 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, *et al.*, 2006).

### 2.1.9. SINTOMATOLOGÍA.

Las manifestaciones clínicas de BLV 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 síntoma. (Radostits, y *col.*, 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 y Maguire, 2013) Cerca del 5 % de vacunos afectados padecen una forma sobreaguda de la LB y mueren sin presentar signos clínicos previos. Esta muerte podría relacionarse con el compromiso de glándulas adrenales, úlcera de abomazo o el bazo seguido de hemorragia interna. La mayor parte de los casos sigue un curso subagudo (hasta de 7 días) o crónico (meses) iniciándose el deterioro del animal con pérdida de apetito, anemia y debilidad muscular. (Blood D. O., 1992).

Aunque las células tumorales se originan de los tejidos linfoides, estos pueden localizarse virtualmente en todos los órganos. En los vacunos adultos las lesiones se observan con mayor frecuencia que el abomazo, corazón, útero y nódulos linfáticos viscerales y periféricos, y en los animales jóvenes a nivel de nódulos linfáticos viscerales, bazo e hígado. Pueden observarse trastornos circulatorios, respiratorios, digestivos, reproductivos, urinarios y neurológicos, cuando estos órganos específicos están comprometidos; sin embargo, los cuadros clínicos típicos de mayor a menor grado son: pérdida de peso, emaciación, disminución de producción láctea, agrandamiento de

nódulos linfáticos externos, apetito depravado, linfadenopatía interna, parálisis de miembros posteriores, fiebre, respiración anormal, protusión de ojos, diarrea o constipación y lesiones cardíacas (Johnson y Kaneene, 1991).

La presencia de deformaciones o masas tumorales subcutáneas en varias partes del cuerpo, también es indicativo de la enfermedad, la presencia de células tumorales en las extensiones de sangre (leucemia) es también bastante específica (Gatti, 2007).

- **Linfocitosis persistente (LP).**

Es una respuesta linfoproliferativa, benigna, sin células neoplásicas ni nódulos neoplásicos aparentes, no hay aumento de linfonodos. No se presentan signos clínicos aparentes, Portador Sano Asintomático con respuesta inmune a la presencia del virus, detectable por medio de pruebas de laboratorio como ELISA, RIA, IDGA, PCR, etc. (Quinn *et al.*, 2005).

Una proporción variable de animales infectados estimada en el 30% desarrolla linfocitosis persistente (Ferrer *et al.*, 1978; Hamilton *et al.*, 2003).

- **Leucemia.**

Hematológicamente se debe distinguir leucemia de linfocitosis persistente; la leucemia hace referencia a la presencia de células tumorales o anormales detectadas en la corriente sanguínea indicando transformación neoplásica de la médula ósea y presencia de linfosarcoma. Estas células neoplásicas en sangre aparecen entre 5 – 10% de los casos de linfosarcoma y se conocen como prolinfocitos, células de Rieder, linfoblastos, paralinfoblastos, aunque solo los dos últimos tipos asociados a figuras de mitosis, pueden ser de significación diagnóstica en leucemia (Ferrer *et al.*, 1978).

### 2.1.10. 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 reemplazando 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 subagudo (hasta de 7 días) o crónico (meses) iniciándose el deterioro del animal con pérdida de apetito, anemia y debilidad muscular. (Blood, D. O., 1992).

La afección hepática es más significativa en los animales adultos que en los jóvenes, con un aumento de tamaño, consistencia blanda, y coloración pálida difusa del órgano. En el pulmón las lesiones son raras, pudiéndose presentar en la forma infiltrativa, difusa y nodular (Chamizo, 1997).

Resulta constante la localización de los tumores en los ganglios linfáticos, describiéndose la extensión de afección de estos órganos en: Generalizada: afecta 76 a 100%, Diseminada: afecta 26 a 75%, Localizada: afecta 1 a 25%. Los ganglios linfáticos afectados son los iliacos, seguidos por los intratorácicos y mesentéricos y los superficiales (pre escapular, pre crurales, y de la región cervical. Se muestran aumentados de tamaño en forma difusa El musculo esquelético puede estar afectado de

igual forma. En el intestino pueden observarse lesiones semejantes a las del abomaso (Pestana, 1995).

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).

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, D., 1992).

#### **2.1.11. DIAGNOSTICO.**

Las pruebas serológicas AGID y ELISA son las pruebas que actualmente recomienda la OIE para el diagnóstico de la infección con BLV. (OIE, 2008).

Actualmente podemos considerar principalmente 2 técnicas de diagnóstico, la inmunodifusión en agar gel (IDGA) y la prueba ELISA que son ampliamente utilizados a nivel mundial; en ambas pruebas se puede utilizar el suero sanguíneo bovino y la leche en el caso de vacas como muestras primarias para el diagnóstico de esta enfermedad y puede darse en forma individual o grupal (Pestana, 1995).

Rama, (2009). Realizo el primer estudio comparativo de IDGA, ELISA y PCR como herramientas diagnósticas de LVB en Montevideo - Uruguay. El método diagnóstico más sensible fue la PCR, siendo IDGA la que detectó menor número de animales positivos. Si bien la sensibilidad de IDGA y ELISA fue menor que la de PCR, la

especificidad de ambos métodos fue mayor. El hecho de que la PCR tradicional detecte animales que presentan ADN proviral y que sean serológicamente negativos, pueden deberse a la presencia de animales inmunotolerantes al virus de la LVB. Paralelamente, la PCR permitiría detectar animales infectados antes de que estos desarrollen una respuesta inmunológica, animales cursando un periodo prolongado de latencia o animales con una baja carga de exposición del virus, así como la detección del virus en terneros infectados que recibieron calostro de madres seropositivas.

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 sustrato, (Kahn, 2007). Otra ventaja es que permite la identificación de individuos infectados que no desarrollan una respuesta inmunológica convencional, (Martin, y *col.*, 2000).

#### **2.1.11.1. Diagnóstico diferencial.**

Los principales diagnósticos diferenciales de los cuadros clínicos de linfosarcoma son con Tuberculosis (TBC), Paratuberculosis, Reticulopericarditis Traumática y Carbunco Bacteriano (por ruptura y/o el tamaño del bazo, (Giraudó , 2010).

Para diferenciar LVB de TBC el diagnóstico clínico se hace en base a la observación, anamnesis e identificación de síntomas y alteraciones anatómicas identificables en animales en pie. En el caso de TBC completamente se puede realizar por medio de la reacción de hipersensibilidad tardía, aplicando Derivados Proteicos Purificados (PPD) o Dermoreaccion Bovino, (SENASA, 1994).

Éste depende de los órganos afectados por los linfosarcomas, por ejemplo, el linfosarcoma abomasal puede confundirse con una úlcera o enfermedad de Johne, si

afecta las raíces nerviosas de la médula espinal debe diferenciarse con rabia, espondilosis y otras enfermedades con signos nerviosos (Barrientos, *et al.*, 2008).

#### **2.1.12. TRATAMIENTO.**

No existe tratamiento para esta enfermedad ni tampoco vacunas. 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 es dosis de 30 a 40 mg diarios durante tres a cuatro días (Blood, *et al.*, 1985).

#### **2.1.13. CONTROL Y ERRADICACIÓN.**

El control y la erradicación se puede realizar mediante la identificación de los animales reactivos positivos por medio de pruebas serológicas. Luego sacrificar a los animales infectados y paralelo conservando los rebaños cerrados. Por otro lado, se puede limitar la propagación del virus, modificándolos factores de riesgo en la transferencia de sangre linfocitos por Virus de Leucosis Bovina. No obstante, para la elaboración de programas de control de la Leucosis Bovina se requiere el entendimiento completo de su epidemiología y el modo de transmisión del VLB (Johnson y Kaneene, 1991). Medidas preventivas ayudarán reducir la incidencia y prevalencia de la enfermedad en los rebaños. El éxito de todo programa de control, depende de muchos factores que deben ser ejecutados severamente, estos incluyen: monitoreo serológico en los rebaños, el grado en el cual los productores adoptan las medidas recomendadas y la voluntad para eliminar del hato los animales que resulten positivos al VLB (Ollis, 1996).

La metodología a seguir 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, (Castelli y Manzini, 2001). También depende en principio de la prevalencia de la infección en el rebaño, del valor de los animales del rebaño, y de si existen indemnizaciones oficiales para las vacas seropositivas sacrificadas, (Radostits *y col.*, 2002).

Hay que muestrear a todo el ganado de reciente adquisición y cuarentenarlo 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 (Chamizo y Brito, 2005).

En ausencia de vacunas efectivas, numerosos países han implementado campañas de control y/o erradicación de esta enfermedad. Por ejemplo, la Unión Europea luego de muchos años ha logrado que 12 de los 15 países originales del bloque, se encuentren actualmente libres de LEB (Rodríguez, 2011).

## **2.2. ANTECEDENTES.**

### **2.2.1. A NIVEL MUNDIAL.**

El virus tiene una distribución mundial, aunque las tasas de prevalencia varían ampliamente entre países y continentes, siendo esporádica su presentación en Asia, África y Oceanía, al contrario de lo que ocurre en los Estados Unidos y Europa, donde la enfermedad es Enzootica. Tiene una alta prevalencia en algunos países, por ejemplo; en Nueva Zelanda 36%, Israel 25%, 30% en Australia, Chile 35,9%, Costa Rica 18,4% de los animales y el 51% de los hatos, Estados Unidos de América 23% de las vacas y el 69,6% de los hatos. Tanzania 36%, (Galdino de lima, 1999).

Uruguay en 60 ganaderías de 3 departamentos mediante la técnica de ELISA encontraron una seroprevalencia del 77%, 72% y 57%, en Brazil se encontraron prevalencias del 4% hasta unas mayores al 70% en hatos, (Galdino de lima, 1999); en chiles en diferentes estudios encontraron prevalencias del 21% al 59% (Grau y Monti, 2010).

Estudios realizados para determinar la presencia de anticuerpos al Virus de Leucosis Bovina en rebaños de las provincias occidentales y centrales de Cuba, demostraron una prevalencia de 25,29 % para animales de 11 rebaños muestreados (Delgado *et al.*, 2009).

Estudios realizados en Costa Rica demostraron una amplia distribución de la infección por VLB; de 22 463 sueros examinados 4 153 (18,4 %) reaccionaron positivamente con la prueba IDGA y un total de 953 rebaños (51 %) sostuvieron reactores positivos (Chamizo, 2005).

En la provincia de Corrientes – Argentina, estudios realizados muestran un 11,8 % de prevalencia (Resoagli *et al.*, 1998), estudios realizados en la provincia de La Pampa, demostraron una prevalencia de 22,3 % en predios y 12 % en animales (Alvarez, 2004). En Colombia estudios realizados en el sector de Montería, en 137 muestras de suero de hembras y de 26 toros de 28 fincas, se reportó una prevalencia del 21 % (Betancur y Rodas, 2008)

Vásconez, y *col.*, (2017), la Leucosis Viral Bovina ( LVB) es una enfermedad vírica, manifestada por la presencia de neoplasias y también presentándose de forma asintomática en bovinos de cualquier edad. Su trascendencia socioeconómica radica en las pérdidas por disminución de la productividad lechera, pérdidas reproductivas y decomisos en camales, impidiendo también la exportación de ganado o derivados del

mismo. El objetivo de esta investigación fue determinar la seroprevalencia de LVB en animales menores de dos años en las provincias de Pichincha, Manabí y Chimborazo, las cuales reportan gran producción lechera en Ecuador. Se analizaron 3 307 muestras de suero sanguíneo bovino mediante la técnica serológica ELISA indirecto, de las cuales 480 fueron de Pichincha, 2 348 de Manabí y 479 de Chimborazo. Pichincha presentó una seroprevalencia de 8.13%, con el mayor porcentaje de animales enfermos en la principal cuenca lechera del país, el cantón Mejía. En Manabí se observó 0.89% de seroprevalencia de LVB y en Chimborazo 3.13%. Se observó mayor tendencia a enfermar en clima templado y menor altitud, lo que pudo explicarse por la similitud en las prácticas de manejo y la explotación tipo intensivo (Anexo 1 y 2).

### **2.2.2. A NIVEL NACIONAL.**

En el Perú se realizaron estudios en diferentes departamentos para determinar la prevalencia del LVB mediante la prueba de ELISA Indirecta, con este fin se utilizaron 547 muestras de sueros de bovinos procedentes de diferentes departamentos, donde se determinó 163 (30%) positivos y 384 (70%) negativos, con una especificidad y una sensibilidad de  $93.01 \pm 4.18 \pm 1.3$  las prevalencias del BLV en los departamentos se obtuvo un 34% Lima, 0% Puno, 84% Huánuco, 27% Arequipa, 19% Junín, 31% Cajamarca y 33% San Martín (Manchego *et al.*, 1996).

En el valle de Sama perteneciente a la provincia y departamento de Tacna durante el periodo Setiembre – Noviembre del 2008. Los resultados evidenciaron una prevalencia de  $22,8 \% \pm 6,7 \%$  (34/149) para el valle de Sama, con relación a la edad, los bovinos mayores a 6 años de edad) tienen una mayor probabilidad de contraer la enfermedad con un  $10,06 \% \pm 7,3 \%$  y menos susceptibles los bovinos entre 4 a 5 años con  $5,36\% \pm 7,4\%$  de prevalencia. Con relación al sexo, los bovinos hembras son las más

susceptibles con un  $22,81 \% \pm 6,8 \%$  de seroprevalencia y 0,00% son bovinos machos, (Romero, 2008).

En el año 2013 se determinó la seroprevalencia del Virus de la Leucemia Bovina en un establo lechero de una universidad pública de Lima, Perú, a través de 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 el 100, 97 y 60% de los animales mayores de 5 años, de 2 a 5 años y menores de 2 años fueron seropositivos, respectivamente. (Sandoval *et al.*, 2015).

(Flores y Rivera, 2000), La seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en la cuenca lechera de Arequipa fue de 9,51%; de 261 hatos estudiados aparentemente 14,6% estaban infectados, y la prevalencia por sectores fue: Santa Rita (20,7%), Zamácola (19,7%), Vitor (14,3%), El Cural (13,8%), La Joya (10,3%), Islay (9,5%), Majes (7,1%), y Chiguata (0 %).

Quequesana, (2016), el trabajo de investigación lo realizó en el distrito de Moquegua que está situado en el sur del Perú, sus coordenadas geográficas se sitúan entre  $17^{\circ} 11' 27''$  Latitud sur y  $70^{\circ} 55' 54''$  Longitud oeste, realizado durante el mes de julio del 2015 con el objetivo de evaluar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina (LEB), 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 evaluadas mediante la prueba de ELISA indirecta que dio los siguientes resultados. La seroprevalencia de Leucosis Enzootica Bovina fue de 65.96% (62/94). Los datos fueron procesados mediante la prueba estadística de Chi-cuadrado, tomando en cuenta los factores edad, sexo y estado reproductivo se demostró que, la prevalencia en los bovinos menores de 2 años 37.03% fue (10/27) y mayores a 2 años

77.61% (52/67) que mostraron diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). En hembras 66.27% (57/86) y machos 62.50% (5/8), no existe diferencia estadística ( $p \geq 0.05$ ). En vacas gestantes 78.78% (26/33) y no gestantes o vacías 75% (24/32) tampoco existe diferencia estadística significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Barrera, (2010), Realizó un estudio con el objetivo de conocer la seroprevalencia de anticuerpos contra el Virus de la Leucosis Bovina en el valle viejo de Moquegua. Los resultados obtenidos muestran una prevalencia de 20,00 % para el valle viejo de Moquegua, la seroprevalencia encontrada según sectores fue de 7,27 % en el sector de Omo, 6,36 % en el sector de la Rinconada, 6,36 % en el sector de Santa Rosa y 0,00 % en el sector de Charsagua.

Obando, (2008); con el objetivo de determinar la prevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacas mayores de dos años en la Irrigación de La Joya Antigua, encontró una prevalencia de 19,7 %, con relación a la edad las vacas mayores a 4 años tienen una mayor probabilidad de contraer la enfermedad en un 34,2 %, en comparación con las vacas de 2 a 4 años de edad, las cuales presentan la enfermedad en un 15,4 %; en relación a la producción de leche, las vacas de mayor producción son más susceptibles a la enfermedad que las de menor producción.

SENASA, (2001); un estudio realizado para determinar la prevalencia de Leucosis Bovina en regiones del país reportó: una prevalencia para Madre de Dios de 65,17 %, Ucayali 50,75 %, Pasco 27,25 %, Lambayeque 16,11 %, Moquegua 8,00 % y Puno 0,50 %.

SARVE, (2011), se presentaron reportes de la enfermedad que se dieron a conocer por la Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica (SARVE) de la Dirección de Sanidad Animal (DSA) del SENASA a nivel nacional un total 1237 notificaciones de sospecha de enfermedades infecciosas, la Región Puno tiene un total

de 175 notificaciones establecidos de la siguiente manera: Específicamente a la Leucosis Enzoótica Bovina se presentan un total de 5 notificaciones de sospecha de a nivel nacional 01 en Arequipa, 03 en Cajamarca y 01 en Puno, No existen reportes de ninguna institución ya sean entidades públicas y privadas (Anexo 3).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

##### a. Espacial.

El presente trabajo de investigación se realizó en el distrito de Taraco que comprenden a las parcialidades de; Jassana Pucsellin, Jasana Capallino y Requena; pertenecientes a la provincia de Provincia de Huancané – región Puno, durante el mes de Noviembre del 2017.

El distrito de Taraco, se ubica a 15° 17' 54" de latitud sur, y a 69° 48' 44" de longitud oeste; los cuales se encuentran a una altitud de 3820 m. El clima es seco y frío, con una estación lluviosa de 4 meses. El invierno que absorbe al otoño y va de Mayo a Octubre, con noches frías, pero con días soleado de intensa luminosidad. La primavera que une al verano, es la época de lluvias y se extiende de Noviembre a Abril. La temperatura generalmente varía de -5 a 18°C, con una humedad relativa de 24% y presión atmosférica de 1030hPa (SENAMHI, 2015). Es una zona cuya principal actividad económica es la ganadería de bovinos, que se encuentran bajo un sistema de manejo de alimentación mixta ya que los animales en las horas de la mañana son confinados para luego ser pastoreados en pastos naturales y/o pastos cultivados, de forma controlada con suministro de forrajes conservados (ensilado y/o heno).

##### b. Temporal.

Este trabajo de investigación se realizó durante el mes de Noviembre del 2017 y las muestras fueron procesadas y analizadas en el Laboratorio de Salud

Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, UNA – Puno. Ubicado en la Provincia de Melgar, a una altitud de 3970 m.

### **3.2. UNIDAD DE ESTUDIO.**

#### **a. De los Animales.**

Los animales para el presente estudio de investigación estuvieron constituidos por vacunos de las parcialidades de Jasana Pocsellin, Jasana, Capallino y Requena del distrito de Taraco, de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión:

- Ganado lechero.
- Vacunos de la raza Brown Swiss.
- Sexo (hembras y machos).
- Edad (menores a 2 años y mayores a 2 años).
- Preñadas y vacías.
- Nivel productivo mayor a 10 kg de leche/día/vaca.

Además, se consideró como criterio de exclusión:

- Las comunidades menos representativas en la crianza de ganado vacuno Brown Swiss.
- Vacunos de otras razas.
- Vacunos machos mayores a 2 años de edad.
- Ganado de engorde.
- Nivel productivo menor a 10 kg de leche/día/vaca.

**b. Del tamaño de muestra.**

Para determinar el tamaño de muestra se utilizó el método no probabilístico por conveniencia (Cuesta, 2009).

Los animales para el presente estudio de investigación fueron vacunos, de las parcialidades de Jasana Pocsellin, Jasana Capallino y Requena del distrito de Taraco de la provincia de Huancané región Puno; Tiene la mayor población de ganado vacuno de raza Brown Swiss y con un nivel de producción de leche mayor a 10 kg de leche/día/vaca. (Según reporte de la Asociación de Criadores Agropecuarios del distrito de Taraco). Además solo se trabajó con 19 criadores de las tres parcialidades, donde se seleccionaron 90 vacunos. Se optó por tomar este método no probabilístico por conveniencia debido al costo que implica tanto en la mano de obra a la hora de extraer las muestras de sangre y a la disponibilidad de pocillos del Kit de ELISA, también por la disponibilidad de los animales en el lugar de estudio ya que los propietarios no todos aceptan la manipulación de sus animales; por lo tanto este método nos facilitó el tiempo necesario para conducir el estudio y obtener resultados.

**Tabla 1:**

*Distribución de animales según; Sexo, Edad y Estado reproductivo.*

Sexo	Macho		Hembra	
Edad	Menor (<) a 2 años	Menor (<) a 2 Años	Mayor (>) a 2 años	
Estado reproductivo	Reproductor	Vacías	Vacías	Preñadas
N° de Animales	11	18	30	31
<b>TOTAL</b>			90	

### 3.3. METODOLOGIA.

#### a) Recolección de muestras sanguíneas

Las muestras de sangre se recolectaron en horas de la mañana previa coordinación con los criadores de las tres parcialidades del distrito de Taraco, mediante el uso de registros y/o formatos de los productores, se obtuvo datos de animales muestreados. (Anexo 6).

- Se realizó la sujeción del animal y hemostasia a nivel del tercio inferior en la tabla del cuello.
- Mediante el tacto identificamos el canal por donde pasa la vena yugular.
- Una vez localizado el canal yugular realizamos la antisepsia usando alcohol yodado al 3%.
- Luego Introducir la aguja subcutáneamente hasta alcanzar el espacio intravascular de la vena yugular. El otro extremo de la aguja se coloca el tubo vacutainer sin anticoagulante. Extraendo aproximadamente 7.0 mL de sangre por cada animal. Se rotularon los tubos vacutainer considerando la identificación de cada animal.
- Los tubos fueron colocados en posición inclinada a temperatura ambiental de 18 °C por 20 min. con el fin de favorecer la formación de coágulo y suero sanguíneo. Para su posterior centrifugación a 3500 rpm por 5 min.
- Los sueros sanguíneos se aislaron en viales de 2 mL para mantenerlos a una temperatura de congelación de -20°C, en el Laboratorio de Salud Animal de la FMVZ con sede en el CIP Chuquibambilla.

**b) Obtención del suero sanguíneo:**

- Se centrifugó a 3500 rpm por 5 min.
- los sueros sanguíneos se aislaron 2 mL en viales, los sellamos e identificamos los viales con un número, el cual debe coincidir con la hoja de campo, donde constan los datos de cada animal.
- Luego se mantuvieron en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento del trabajo en el laboratorio salud animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el centro de Investigación y Producción CIP Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

**c) Identificación y transporte de las muestras:**

- Los viales que contiene la muestra de suero sanguíneo fueron rotuladas considerando la identificación de cada animal la cual nos permita identificarla y a su vez que concuerde con la hoja de campo, la misma que posee los datos amplios para el conocimiento de las características individuales del animal. (Anexo 6).
- Las muestras de suero sanguíneo fueron transportadas hacia el laboratorios de Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el Centro de Investigación y Producción CIP Chuquibambilla de la UNA-Puno, Inmediatamente después de su recolección para prevenir alteraciones, utilizamos un termo que contiene en su interior refrigerante para mantener cadena de frio, lo cual nos permite proteger a las muestras durante el transporte.

**d) Descripción y principios de la prueba de Elisa:**

- **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.**

- |                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| 1. Placa tapizada con antígeno BLV | 10        |
| 2. Control Positivo                | 1 x 1,5ml |

3. Control Negativo	1 x 1,5ml
4. Conjugado	1 x 110ml
5. Diluyente de la muestra	1 x 110ml
A Substrato TMB n. °12	1 x 110ml
B Solución de frenado n.°3	1 x 100ml
C 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.

- **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%.

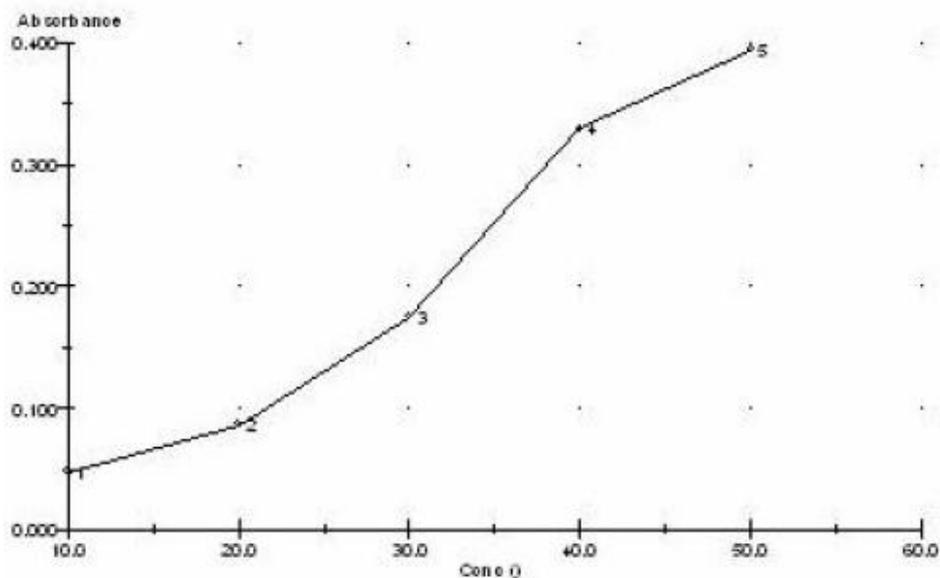


Figura 1. *Curva de calibración del lector Chromate 4300.*

#### e) Procedimientos de la prueba de Elisa:

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran 18-26 °C antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos suavemente.

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  $\mu\text{l}$  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 ( $\pm 5\text{min}$ ) a  $+37^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) o 14-18 horas a  $18-26^{\circ}\text{C}$ . 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 líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 300  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  conjugado en cada pocillo.
10. Cubrir la placa e incubar durante 60 min. ( $\pm 5\text{min.}$ ) a  $+37^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). 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  $\mu\text{l}$  de sustrato TMB n.º12 en cada pocillo.13. Incubar a  $18-26^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos ( $\pm 1\text{min}$ ).
13. Dispersar 100  $\mu\text{l}$  de solución de frenado n. º3 en cada pocillo.
14. Leer los resultados a una longitud de onda de 450 nm.
15. Cálculos:

**f) Resultados a la prueba de Elisa.**• **cálculos:**

$$\bullet \text{ CP}_x = \frac{\text{CP1A}(450\text{nm}) + \text{CP2A}(450\text{nm})}{2}$$

$$\bullet \text{ CP}_x = \frac{1.592(450) + 1.606(450)}{2} = 719.5 \text{ nm}$$

Dónde:

1.592 = Resultado del primer control positivo a la prueba de ELISA.

1.606 = Resultado del segundo control positivo a la prueba de ELISA.

- Promedio OD controles positivos = 719.5 nm.

$$\bullet \text{ CN}_x = \frac{\text{CN1A}(450\text{nm}) + \text{CN2A}(450\text{nm})}{2}$$

$$\bullet \text{ CN}_x = \frac{0.181(450) + 0.164(450)}{2} = 77.6 \text{ nm}$$

Dónde:

0.181 = Resultado del primer control negativo a la prueba de ELISA.

0.164 = Resultado del segundo control negativo a la prueba de ELISA.

- Promedio OD controles negativos = 77.6 nm.

**3.4. ANÁLISIS DE DATOS****a) Criterios de validación:**

Los valores de los controles deben clasificarse dentro de los siguientes

límites:

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

**b) Muestra:**

Para la interpretación de los resultados es preciso transformar las DO 450 en porcentajes de inhibición (%IN) utilizando la siguiente formula:

$$M/P\% = \frac{\text{Muestra A (450)} - \text{CN}\bar{x}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}} \times 100$$

**c) Interpretación de los resultados:**

NEGATIVO: M/P% < 30nm

POSITIVO: M/P%  $\geq$  40nm

*Fuente: Kit para la detección de anticuerpos frente al Virus de la Leucosis Bovina (LVB).*

- Las muestras de prueba son positivas para anticuerpos del VLB, si producen un M/P% densidad óptica mayor o igual a 40 nm.
- Las muestras de prueba son negativas para anticuerpos del VLB, si producen un M/P% densidad óptica menor a 30 nm.

**d) Cálculo de prevalencia.**

El Cálculo de la prevalencia fue mediante la siguiente fórmula (Thrusfield., 1990).

$$\text{Prevalencia (\%)} = \frac{\text{Número de animales positivos a la LVB.}}{\text{Número total de animales muestreados.}} \times 100$$

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

De las 90 muestras de suero sanguíneo procesadas, ninguno fue reactivos positivos frente a anticuerpos contra Leucosis Viral Bovina mediante la prueba serológica de Elisa indirecta; representando una seroprevalencia de 0.0% (Tabla 2).

**Tabla 2: Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza *Brown Swiss* de las parcialidades de; Jasana Pocsellin, Jasana Capallino y Requena del distrito de Taraco. Según; Sexo, Edad y Estado reproductivo.**

Variables		N° de animales	Número total	Positivos	Porcentaje %
<b>Sexo</b>	Machos	11	90	0	0.0
	Hembras	79			
<b>Edad</b>	< de 2 años	29	90	0	0.0
	> de 2 años	61			
<b>Estado reproductivo</b>	Preñadas	31	61	0	0.0
	Vacías	30			

*Fuente: Resultado obtenido en la presente investigación.*

En la tabla 2, se observa los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación, de un total de 90 vacunos de raza *Brown Swiss*, muestreadas según Sexo; machos (0/11) y hembras (0/79), según Edad; < de 2 años (0/29) y > de 2 años (0/61) y según estado reproductivo; hembras preñadas (0/31) y vacías (0/30) de las parcialidades de; Jasana Pocsellin, Jasana Capallino y Requena del distrito de Taraco, no se encontró ningún caso positivo con 0.0% de prevalencia.

Estos resultados del presente trabajo de investigación demuestran que la seroprevalencia de la infección es 0.0%, debido probablemente a diferentes factores, sistema de crianza, medio ambiente, área geográfica y altitud. El lugar de estudio por pertenecer a la región Suni de clima frío-seco con variaciones estacionales (Pulgar, J. 1967), que varía desde los 3,820m. hasta los 6,000m. La temperatura generalmente varía de -5 a 18°C, con una humedad relativa de 24% y presión atmosférica de 1030hPa (SENAMHI. 2015). Todo estos constituirían los principales factores adversos para la difusión del agente viral; Además, las condiciones climáticas no favorables para los insectos hematófagos que facilitan la difusión del virus, ya que no existe la presencia del vector Tabanidos.

Según datos corroborados por; SARVE (2011) contrastan los reportes de la enfermedad viral en el año 2011 se presentaron reportes de la enfermedad que se dieron a conocer por Subdirección de Análisis de Riesgo 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 Enzootica Bovina a nivel nacional (1 en Arequipa, 3 en Cajamarca y 1 en Puno); los resultados obtenidos después de la prueba fueron negativos a la presencia de Leucosis Bovina.

Al no existir estudios previos en la zona sólo podríamos comparar con estudios similares de otras regiones;

Según estudios realizador por Modena, (2005), cabe indicar de 207 muestras de suero sanguíneo mediante la prueba de ELISA Indirecta, en el cual encuentra 25 positivos y 182 negativos dando una prevalencia de  $12.06 \pm 4.4\%$ . Provincia Leoncio Prado, Región Huánuco. Nos indica la prevalencia de Leucosis Bovina por distritos, observándose una mayor prevalencia en el distrito de Rupa Rupa ( $33 \pm 31\%$ ) seguido

por Daniel Alomias Robles ( $29\pm 34\%$ ), Mariano Oamazo Beráun ( $23\pm 14\%$ ), Padre Felipe Luyando ( $9\pm 12\%$ ), José Crespo Castillo ( $8\pm 5\%$ ) y el distrito de Hermilio Valdizan no presentó animales reactivos a la prueba de ELISA Indirecta. En zonas con clima tropical los niveles de infección son mayores, y uno de los factores determinantes sería la presencia de insectos, artrópodos e incluso mamíferos hematófagos (murciélagos), los cuales estarían favoreciendo la transmisión horizontal del virus, aunado al manejo de los animales sin medidas adecuadas de limpieza (Díaz, P. y col., 1999). En consecuencia, el Virus de Leucosis Bovina es posiblemente transmitida por vectores como son los tábanos o moscas del caballo (*Tabanus fuscicostatus*), mosquitos (*Anopheles sp*), moscas de establos (*Stomoxys calcitrans*), moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*) y garrapatas comunes (*Boophilus microphilus e ixodes sp*) (Foil et al., 1989). Esta teoría no se sustenta en el lugar de estudio ya que el clima es frío-seco, baja humedad relativa y baja presión atmosférica, su hábitad generalmente está relacionado con sitios soleados y húmedos, regularmente inundados de agua dulce o salobre, dado que necesitan suelos empapados para su desarrollo de sus huevos, larvas y pupas. Son muy abundantes durante el verano, especialmente en días calurosos y soleados (Villacide, J. y Masciocchi, M. 2012).

Por otro lado Barrera, (2010). Quien realizó un estudio con el objetivo de conocer la seroprevalencia de anticuerpos contra el Virus de la Leucosis Bovina en el valle viejo de Moquegua. Los resultados obtenidos muestran una prevalencia de 20 % para el valle viejo de Moquegua, los resultados obtenidos revelan una mayor prevalencia en el sector de Omo con  $31 \pm 0,04\%$ , Rinconada y Santa Rosa con valores  $21 \pm 0,04\%$  para ambos, y una prevalencia nula en el sector de Charsagua. Los sectores de mayor riesgo de infección a la LVB, tienen en común la ubicación geográfica y altitudes de 1000 a 1150

m. reuniendo así condiciones aparentemente favorables para el desarrollo de la LVB. Sin embargo la baja prevalencia sería debido a que en el sector Charsagua hay un número menor de 54 vacunos por fundo determinando una baja densidad poblacional, manejo limitado de los animales, mayor distancia entre los fundos y las condiciones climáticas de las zonas determinadas por su posición geográfica, así las más altas tasas de prevalencia corresponden a las áreas de menor elevación sobre el nivel del mar. Comparando los resultados negativos obtenidos del presente estudio pueden deberse a que existe una dependencia de la enfermedad con el clima y altitud, así lo demuestra Vásconez *et al.*, (2017) (Anexo 1 y 2), ya que el distrito de Taraco se encuentra ubicado a una altitud de 3820 m. El clima es seco y frío, con una estación lluviosa de 4 meses. El invierno que absorbe al otoño y va de Mayo a Octubre, con noches frías, pero con días soleado de intensa luminosidad. La primavera que une al verano, es la época de lluvias y se extiende de Noviembre a Abril. La temperatura generalmente varía de -5 a 18°C, con una humedad relativa de 18% y 1036hPa de presión atmosférica (SENAMHI, 2012).

Mientras tanto Cabana (2012), en el distrito de Locumba - Tacna encontró una prevalencia de un 54,5% seropositiva frente a un índice de 45,5% seronegativa, estos índices reflejan el impacto significativo en los vacunos de leche en el distrito de Locumba. Flores y Rivera (2000) que reportó una seroprevalencia de 12.8% de un total de 410 muestras de sangre utilizando la prueba ELISA indirecta en la cuenca lechera de Arequipa las muestras fueron tomadas de 261 rebaños lecheros de 8 áreas diferentes del valle de Arequipa con el 14.6% de los rebaños infectados; la prevalencia fue mayor en los rebaños más grandes, lo que sugiere que las prácticas de manejo contribuyen para aumentar el riesgo de transmisión viral. Los resultados de seroprevalencia encontrados

por los citados autores, que trabajaron con animales en diferentes regiones a las condiciones del altiplano peruano, donde existe climas favorables para la difusión del virus, en tanto que en el lugar de estudio no ofrece temperatura y humedad favorables para su transmisión, como indica Pelzer y Spencher, (1993).

#### **4.2. SEGÚN SEXO.**

En la tabla anterior, se evidencia que, los resultados de seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina fue de 0.0% en vacunos machos (0/11) y hembras (0/79).

Romero, (2008), Estudió Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina según sexo en el Valle de Sama, de un total de 149 bovinos; de un total de 4 machos no se presentaron anticuerpos contra la Leucosis Viral Bovina, lo que constituye un 0,00 % y en hembras de un total de 145 bovinos, 34 positivos con un 22,81 % de seroprevalencia. Mientras en el distrito de Inclán, de un total de 80 bovinos, de 03 machos no presentaron anticuerpos contra la Leucosis Viral Bovina, lo que constituye un 0,00 % y en hembras de un total de 77 bovinos, 21 fueron positivos con un 14,09 % de seroprevalencia, y en el distrito de Sama, de 01 macho no presentaron anticuerpos contra la Leucosis Viral Bovina, lo que representa 0,00% y de 68 hembras 13 fueron positivos que representa 8,72 % de seroprevalencia de un total de 69 bovinos examinados. Los valores sometidos a la prueba estadística de chi-cuadrado muestran que no existe asociación estadística significativa entre la LVB y el sexo del bovino, con un nivel de confianza al 95% y un valor  $p > 0,05$ .

Al contrastar estos resultados son inferiores con el de Díaz (2000) quien en el centro poblado menor de Obenteni, Ucayali reportó un 12,9% en vacas y 28,6% en toros ; de

igual manera, Mamani, (2008) reporta 21,81% para hembras y 0% en machos para el valle de Sama. Del mismo modo los resultados reportados por Obando (2008) con una prevalencia de LVB de 19,7%. En la irrigación de la Joya Antigua.

Valores muy altos reporta Quequesana (2016), nos muestra que la seroprevalencia para hembras fue de 66.27% y machos de 62.5% 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.

Betancur H. y Rodas G. (2008), quienes indican que si existe diferencia estadística, siendo para machos 31.4% y hembras de 68.6% esta diferencia podría deberse al menor número de machos muestreados en el presente estudio ya que los machos por tener una mayor numero de contactos sexuales con hembras seropositivas y posibles secretoras de virus son más sensibles a contraer la enfermedad.

Barreda (2010). se observa que de los 110 sueros sanguíneos 88 corresponden a hembras de los cuales 20 resultaron seropositivos lo que representa el  $18,18 \pm 0,01\%$  de prevalencia de LVB y 22 machos. resultaron seropositivos 2 sueros sanguíneos representando al  $1,82 \pm 0,03\%$  de prevalencia de LVB. Mientras que las altas tasas de prevalencia en otras áreas estarían dadas por el tipo crianza intensivo de los animales determinando un gran confinamiento, así mismo las prácticas de manejo inadecuadas que realizan en el establo (Diaz, P. y col., 1999).

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. 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 ( Johnson y Kaneene 1991).

#### **4.3. SEGÚN EDAD.**

En la tabla 2, se observa los resultados de seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina según edad animal; donde fue de 0.0% de prevalencia en animales menores a dos años (0/29) y en mayores de 2 años (0/61).

Los resultados del presente trabajo son inferiores a lo reportado por Obando, (2008), quien reporta que las vacas que son mayores a 6 años de edad tienen una mayor probabilidad en contraer la enfermedad en un 34,2% en comparación de las vacas de 2 a 3 años de edad. Del mismo modo Díaz, (2000) reportó para vacas 12,9%, vaquillas 7,39%, toros 28,6% y toretes 9,50%, lugar en Valle de Sama.

Barrera A. (2010) reportó de 110 sueros sanguíneos analizados, 25 corresponden a bovinos menores de 1 año, solo se encontró 1 muestra seropositiva a LVB lo que representa  $(0.91 \pm 0.02\%)$  de prevalencia; mientras en los animales de 1 a 2 años se analizaron 19 sueros sanguíneos, del cual 4 indicaron seropositividad a LVB, lo que equivale a  $(3.64 \pm 0.04\%)$  de prevalencia, y en los 66 animales mayores de 2 años que

se analizaron, resultaron 17 de ellos fueron seropositivos representando una prevalencia de  $15.45 \pm 0.01\%$  de LVB, siendo este resultado superior al presente trabajo.

Modena, (2005) determinó la seroprevalencia de leucosis bovina en función a la edad de los animales pertenecientes a la provincia de Leoncio Prado; donde registra, en animales mayores de 5 años ( $5 \pm 7\%$ ), 6 años ( $13 \pm 13\%$ ), 7 años ( $36 \pm 25\%$ ), 8 años ( $45 \pm 22\%$ ), 9 años ( $100 \pm 7\%$ ) y 10 años ( $100 \pm 10\%$ ) y no registrándose reactores a la prueba, en los animales de 1 a 4 años de edad.

Así podemos comparar con los resultados de Quequesana (2016), presento una 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%. Además, que sometidos a la prueba estadística de chi cuadrado se observa una diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). Comparando con los estudios realizados por Romero (2008), los cuales son para vacunos de 2 a 3 años con 7,37%, 4 a 5 años con 5,36% y mayores de 6 años con 10,06%. Mientras tanto Cabana, ( 2013) encontró que son mayores para vacunos de 4 a 5 años y menores a vacunos de 6 meses a un año de edad, esto se atribuye que en el valle de locumba la LVB se está diseminando por prácticas inadecuadas de manejo (transmisión horizontal), en especial en los animales que ya ingresaron en una etapa reproductiva, por lo tanto, también en una etapa productiva en la cual hay un mayor estrés condicionando una baja del sistema inmunológico de estos animales y mayor predisposición a LVB. Estos valores positivos encontrados en estos lugares se deberían a un sistema de crianza intensivo, los animales están expuestas a hacinamiento, mayor contacto, lo que sería un factor de riesgo para la trasmisión del

agente, (Delgado 2000). En tanto en las zonas donde se tomaron las muestras, si bien la mayoría de predios son de explotación semi intensivo, estos se encuentran distanciados y los animales disponen de mayores áreas lo que evita la transmisión de la enfermedad. Además, el movimiento de animales es restringido debido a que los ganaderos trabajan con su propia recria y la leche se vende al porongueo, lo cual evita el ingreso de vehículos a los predios.

Esto concuerda con los trabajos de Ferrer, (1979), Cavrini et al., (1982) y Cittone et al., (1984), los cuales señalan una mayor prevalencia de la infección en animales manejados en forma intensiva y con edades entre los 3-8 años.

#### **4.4. SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO.**

En la tabla 2, se observa los resultados de seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina según estado reproductivo; hembras preñadas (0/31) y hembras vacías (0/30) que en los dos grupos no se encontraron animales positivos, por lo cual es 0.0% de prevalencia en hembras preñadas y/o vacías.

Barrera, (2010). Se observa que de 67 muestras analizadas a hembras mayores de 2 años y las prevalencias encontradas en hembras vacías y preñadas son 8,96% y 16,42% respectivamente. Se observa que hay mayor prevalencia de LVB en hembras preñadas con un 16,42% y en vacías 8,96%. se observa que, del total de 39 hembras preñadas, 28 fueron por inseminación artificial (IA), de las cuales 7 son positivas dando una prevalencia de 17,95% y 11 fueron por monta natural (MN), siendo 4 positivas, lo que representa una prevalencia del 10,26%. 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.

Quequesana, (2016), en vacas gestantes es de 78.78% y en vacas no gestantes es de 75.00% 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 ( $p \geq 0.05$ ) entre vacas gestantes y no gestantes.

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, los resultados no fueron significativos ( $\chi^2$ : 3.167,  $p = 0.205$ ,  $p \geq 0.05$ ) lo que, en otras palabras, quiere decir que la presencia de reactividad a la LVB es independiente de los trastornos reproductivos considerados.

Al no determinar animales positivos en el presente trabajo, se evidencia que los vacunos del distrito de Taraco no son portadores del Virus de la Leucosis Bovina, a pesar de que el manejo reproductivo en estos animales es mediante la inseminación artificial. Esto se debe posiblemente al factor clima y radiación solar alta, ya que el virus es muy poco resistente a las influencias exteriores por lo que tiene escasa viabilidad, de menos de cuatro horas fuera del animal. Los rayos ultravioleta, la congelación descongelación repetida y la pasteurización inactivan el virus, al igual que los desinfectantes utilizados habitualmente (Orloff, et al., 1993).

## V. CONCLUSIONES

- De acuerdo a la prueba serológica de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss de las parcialidades del distrito de Taraco Provincia de Huancané región Puno. Fue 0.0%, de seropositividad según la prueba de Kit de ELISA, lo que demuestra que no hay animales seropositivos de la enfermedad viral tanto por machos (0/11), hembras menores de 2 años (0/18), hembras mayores de 2 años (0/61), hembras preñadas (0/31) y hembras vacías (0/30).

## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios similares a este trabajo de investigación, en el área de la selva alta del región Puno, para conocer el comportamiento de la Leucosis Viral Bovina.
- Realizar capacitaciones sobre las prácticas de manejo, sistema de crianza y medidas de bioseguridad, afín de evitar un brote y difusión de la enfermedad viral.
- Implementar programas de monitoreo de la enfermedad, con el objetivo de ratificar la ausencia de esta enfermedad de la Leucosis Viral Bovina.

## VII. REFERENCIAS

- varez, N. (2004).** Leucosis Enzoótica Bovina: Estudio Seroepidemiológico en rebaños de la provincia de la Pampa Argentina. Revista Ciencia Veterinaria Vol. 6, n°1.
- Barrera, M. (2010).** Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina (LVB) en el valle viejo del distrito de Moquegua, 2010. universidad nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna facultad de Ciencias Agrícolas Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Barrientos, P., Hernández, B., G.V., L., G.F., O., Y R.E., F. (S.F.). (2008).**UNAM. Recuperado el 16 de 05 de 08, de [www.hydra.dgsca.unam.mx](http://www.hydra.dgsca.unam.mx).
- Baruta, D. A., Ardoino, S. M., Brandan, J. L., Sosa, R. E., Mariani, E., y Albretch, E. M. (2011).** Leucosis Bovina Enzoótica. República Argentina. Ciencia veterinaria Vol 13, N° 1. ISSN: 1515-1883.
- Betancur, C., y Rodas, J. (2008).** Seroprevalencia del Virus de la Leucosis Viral en Animales con trastornos reproductivos de montería. Rev. MVZ Córdoba. 13(1): 1197-1204.
- Blood, D. C., Henderson, J. A., Y Radostis, O. M. (1985).** Medicina Veterinaria. 5ta edicion. Mexico D. F.: interamerica Me Graw - Hill.
- Blood, D. O. (1992).** Medicina Veterinaria. Volumen 11, 7ma Edición Pág. 87-95.
- Blowey, W. R., y Wearver, D. A. (2004).** Atlas a color de enfermedades y transmision del Ganado vacuno. (2da ed.). España: Elsevier.
- Brenner, J., M. Van Haam, D. Savir, Z. Trainin, (1989).** The implication of BLV infection in the productivity, productive capacity and survival rate of dairy cow. Vet. Immunol. Immunopathol. 3: 299–305.
- Bruner, B.C., Scott, L., y Timoney, E. M. (1988),** Cornell University Press 8va.

- Burny, a.; Bruck, C.; Chantreme, H.; Cleuter, Y.; Dekegel, D.; Ghysdael, J.; Kettman, K.; Leclerq, M.; Leunen J.; Mammerickx M.; et Portetelle D. (2002).** Bovine Leukemia virus molecular biology and epidemiology. *Viral oncology* Edit G. Klein, 231-289.
- Cabana, P. (2012).** Seroprevalencia de antígenos de Leucosis Viral Bovina (LVB) en vacunos de leche en el distrito de Locumba – Tacna. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann- Tacna
- Cañibano, E. (2011).** Leucosis Enzoótica Bovina (tesis de posgrado). Facultad de Ciencias Veterinarias. Escuela profesional de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Tandil - Argentina.
- Castelli, M. E.; Manzini, V. (2001).** Prevalencia de anticuerpos contra la Rinotraqueitis y la Leucosis Viral Bovina en vaquillonas Holando Argentino preservicio del centro de Santa Fe y Este de Córdoba. Evolución de la infección de Leucosis Enzoótica Bovina. *Anuales del 24° Congreso Argentino de Producción Animal de Ciencias Veterinarias*. Buenos Aires, p. 49..
- Cavrini, C. G. (198).** Distribution of BLV infection in some provinces in northern Italy. En: Straub, O.C. Ed. *Fourth International Symposium on bovine leukosis*. The Hague, Holland, Martinyz Nijhoff Publishers. . Straub, O.C. Ed., 442-449.
- CENAGRO IV, (2012).** Censo Nacional Agropecuario - Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 525p.
- Chamizo, (1997).** Leucosis Bovina Enzoótica. En: *Patología Especial y Diagnóstico de las Enfermedades de los Animales Domésticos*.1995. 1° Ed. UABC, Mexicali. P. 78-81.
- Chamizo, E.G. (1997).** Leucosis Bovina Enzoótica – Revisión. *Revista Electrónica Veterinaria* 7: 1 – 25.

- Chamizo, G. y Brito, R. (2005).** Leucosis Bovina Enzoótica como causa de Ineficiencia Reproductiva en el Ganado Lechero. ARA.
- Chamizo, G., (2005).** Leucosis Bovina Enzoótica, Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, 6(7), 3-25.
- Cittone, E. G. (1984).** Prevalence of BLV infection in relation to breed, management and animal turnover. En: Straub, O.C., Ed. Fifth International Symposium on Bovine Leukosis. Luxembourg., 341-344.
- Cuesta, M. (2009).** Introducción al muestreo. Universidad de Ovideo.
- Cullinane, A., y Maguire, D. (2013).** Clinical Veterinary Microbiology. (C. Hewat, Ed.). MOSBY ELSEVIER. Canada. volumen II. pp 920.
- D'Angelino., J.L., M. Garcia, E.H. Girgel. (1998).** Productive and reproductive performance in cattle infected with bovine-leukosis virus. J. Dairy Res. 65: 693-695.
- De la Sota, M. (2005).** Manual de procedimientos Leucosis Bovina Enzoótica. Mayo.de.2005.Disponible.en:[http://www.intranet.senasa.gov.ar/intranet/imagenes/archivos/dnsa/manuales de procedimiento/09%20Leucosis.pdf](http://www.intranet.senasa.gov.ar/intranet/imagenes/archivos/dnsa/manuales%20de%20procedimiento/09%20Leucosis.pdf).
- Delgado, I. Alfonso, A. Martínez, N. Abeledo, M.A. Rodríguez, M. y Barrera, M. (2009);** Presencia de anticuerpos al Virus de la Leucosis Bovina en rebaños Pertencientes a las provincias Occidentales y Centrales de Cuba, REV. SALUD ANIMAL. VOL. 31 N° 1 (2009): 24.
- Díaz P., Manchego A., y Rivera H. (1999)** Prevalencia del Virus de la Leucosis Bovina (LVB) en el centro poblado menor Obenteni gran Pajonal - región Ucayali.
- Díaz, T. (2007).** Leucosis Bovina Enzoótica (Linfosarcoma Bovino). Producir XXI, Bs. As., 15(184):36-38. \*Laboratorio Lobos. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar).

- Dinter, Z., y Morein, B. (1999).** 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.
- Dirksen, G., Grunder, D. H., y Stober, M. (2005).** Medicina Interna y Cirugia del Bovino. (4ta ed.). Aegentina: Inter - Medica.
- Emanuelson, U., K. Scherling, H. Pettersson. (1992).** Relationships between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in Swedish dairy herds. Prev. Vet. Med. 12: 121–131.
- Erskine, R., P. Bartlett, T. Byrem, C. Render, C. Febvay, J. Houseman. (2012).** Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. J. Dairy. Sci. 95:727-734.
- Faúndez, P. (2005).** Deter Determinación de Seropositividad de Leucosisenzoótica Bovina en Lecherias de las Comunas de Rengo, San Fernando, Tinguiririca, Chimbarongo y San Vicente de la Tagua. Centro de Proyectos Externos FAU. Universida de Chile - Tagua de la IV Región.
- Ferrer, J.F.; Marshak, R.R.; Abt, D.A.; Kenyon, S.J. (1979).** Persistent Lymphocytosis in Cattle: its cause, Nature and Relation to Lymphosarcoma. Ann RechVet. 9(4):851-7.
- Flores, A. y H. Rivera. (2000).** Seroprevalencia del Virus de Leucosis Bovina en la Cuenca Lechera de Arequipa. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú., vol. 11 num. 2 UNMSM.
- Foil, (1989).** Transmission of bovine leukemia virus by *Tabanus fuscicostatus*. Resumen en JAVMA. 195( 11 ): 1583.

- Fulton, JR., E., B., Portella, M., y Radke. (2006).** Dissemination of Bovine Leukemia Virus-infected cells from a newly infected sheep lymph node. *Journal of Virology* 80 (16):, 7873–7884.
- Galdino de Lima, P. (1999).** Prevalencia da leucose enzootica dos bovinos no estado do Para. Tesis de Maestria. Faculdade de Ciencias Agrarias do Para. Universidade Federal do Para. Para. Brasil. [http:// www.ipades.com.br/publicacoes/IPADES-LEUCOSE-ENZOOTICABOVINOS - PARA.pdf](http://www.ipades.com.br/publicacoes/IPADES-LEUCOSE-ENZOOTICABOVINOS - PARA.pdf) (15/01/2015).
- Gásquez, A. (1991).** Patología veterinaria. Editorial Interamericana. Madrid. España.
- Gatti, M. (2007).** Enfermedad de gran Importancia y Limitante para la Exportación de Ganado en pie: Leucosis Bovina. la lechuza roja (5 ed.).
- Geoffrey W. (2000).** Diccionario enciclopédico de Veterinaria. Quinceava Edición en Español, 780 pp.
- Gillet, N., y Florins, A. (2007).** Mechanisms of Leukemogenesis induced by Bovine Leukemia virus: Prospects for Novel Anti-retroviral Therapies in Human. *Retrovirology*, 4: 1-32.
- Giraud, J., Bergamo M., Schneider, E., Magnano, G., Macias, A., Sticotii, E., Y Macio, M.(2010).** FA y V, UNRC. Leucosis Enzoótica Bovina. Argentina.
- Grau, M. y Monti, G. (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. Chile. Disponible en <http://mingaonline.uach.cl/pdf/amv/v42n2/art10.pdf>
- Hamilton, V.T.; Stone, D.M.; y Cantor, G.H. (2003).** Translocation of the B Cell Receptor to Lipid Rafts is Inhibited in B Cells from BLV-Infected, Persistent Lymphocytosis Cattle. *Virology* 315(1):135- 47.
- Hung, A. (1987).** Bovine Leukemia infección in Perú-E.I. R. L. Martergraf. IVITA.

- IDEXX. Laboratorios (2010).** Elisa de detección de los anticuerpos del virus de la leucosis viral bovina. Westbrook Maine 04092 USA 2010.
- Johnson, R y Kaneene, J. (1991).** Bovine Leukemia Virus. Part I. Descriptive Epidemiology, Clinical Manifestations, and Diagnostic Tests. Comp Cont Educ Proc Vet; 13: 315-328.
- Kahr, R. (2007).** Enfermedades víricas del ganado vacuno. Zaragoza-España: Acribia, 1994. ISBN 84-200-0560-6.
- Lassauzet, M; Thurmond, M; Johnson, W; Stevens, F y Picanso, J. (1991).** Effect of Brucellosis Vaccination and Dehorning on Transmission of Bovine Leukemia Virus in Heifers on a California Dairy. Can J Vet Res; 54: 184-189.
- Mamani, S. (2008);** Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en el Valle de Sama-Tacna, 2008, 78 pp
- Manchego, A., Sandoval, N., Gonzá/es, A., Rivera, H., Y Rosadio, R., (1996).** Comparación de ELISA e Inmunodifusión para el Diagnóstico de Leucosis Bovina. Resúmenes del XIII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. Lima, Perú.
- Martin, D., Arjona, A., Viana, N., Soto, I., Barquero, N., y Gómez, L. (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.
- Miller, J., y Olson, C. (1972).** Precipitating Antibody to an Internal Antigen of the C-type Virus Associated With Bovine Leukemia Virus. J Natl Cancer Inst, 43: 1459-1462.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA. (2012).** Direccion Regional Agraria Puno Direccion de Informacion Agraria, Archivos de Produccion Pecuaria.

- Modena, E. (2005).** Tesis de Pregrado Universidad Nacional Agraria de la Selva;  
Repositorio Institucional UNAS; Reponame: UNAS-Institucional;  
Instname:Universidad Nacional Agraria de la Selva; Instacron: UNAS.
- Mohanty, S., y Dutta, D. (1993).** Virologia Veterinaria. D.F., Mexico:Interamericana.
- Monti, G., Frankena, K., Engel, B., Buist, W., Tarabla, H., y Jong, M. (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.
- Obando, G. (2008)** Prevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacas Holstein Friesian  
(Bos Taurus) en Irrigación de la Joya Antigua 2008. Tesis para optar el Título de  
Médico Veterinario y Zootecnista. Fac. Ciencias e Ingenierías Biológicas UCSM-  
Arequipa. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- Ochoa., Cruz, A., Uribe, A., y Gutiérrez, M. (2006).** Universitas Scientiarum.  
Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.  
11(2): 31-40.
- OIE., (2008).** Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals,  
Enzootic Bovine Leukosis.(6ta, Ed.)
- Ollis, G. (1996).** Enzootic bovine leucosis.Food and Development. Home page Adapted  
from Agri-fax 663-7.
- Olson, H. (1961).** Studieniiber das Auftretenund die Verbreitung. Puno.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2012).** Terrestrial Manual.  
Chapter 2,4,11. - Enzootic bovine leukosis.
- Orloff; S.; Wallingford; J.; McDougal; J. (1993).** Inactivation of human  
immunodeficiencu virus tipe I in human milk: effects of intrinsic factors in human  
milk and of pasterurization. J. Hum. Lact.9:13-17.

- Ott, S. L., R. Johnson, S. J. Well. (2003).** Association between bovine leucosis virus seroprevalence and herd level productive on US dairy farms. *USDA. Prev. Vet. Med.* 61: 249–262.
- Pelzer, K. D., y Spencher, D. J. (1993).** controlling BLV infection on dairy operations *Vterinary Medicine.*
- Pelzer, K.D., (1997).** Economics of bovine leukemia virus infection. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 13: 129–141.
- Pestana, E. (1995).** *Patología Especial y Diagnóstico de las Enfermedades de los Animales Domesticos.*
- Pulgar Vidal, Javier. (1967).** *Geografía del Perú: Las ocho regiones naturales.* Editorial Ausonia. Lima.
- Quequesana, H. S. (2016).** Seroprevalencia de la Leucosis Enzoótica Bovina en la Cuenca Lechera del Distrito de Moquegua, Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Puno.
- Quinn, P.; Markey, B.; Carter, M.; Donnelly, W.; y Leonard, F. (2005).** *Microbiología y Enfermedades Infecciosas Veterinarias.* Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Radostits, O., y Otros. (2002).** *Leucosis Bovina Enzoótica, Medicina Veterinaria Tratado de las Enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino.* España: Acribia.
- Rama, G. (2009).** Aspectos sobre el Diagnóstico de la Leucosis Enzoótica Bovina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. 40p
- Resoagli, J.P.; Jacobo, R.A.; StoranI, C.A.; CipolinI, M.F. y Anderson, L.O. (1998).** Preliminares sobre Prevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina en Rodeos de Cria en la Provincia de Corrientes, Argentina.

- Rhodes, J. K., D. Pelzer, J. Johnson. (2003).** Economics of bovine leukemia virus infection. Avrum Gudelsky Veterinary Center, University of Maryland, US.
- Rodríguez, S. (2011).** Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV. *Viruses* 3: 1210-1248. .
- Romero, S. (2008).** Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina (LVB) en el Valle de Sama- Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Tacna.
- Rosciani, A. S, WA. Merlo, MA., Montenegro, MR., Perez, JT., Borda, J. Lertora, O.A. Maccio, AND M. Sanchez. (1997).** Determinación de Animales Seropositivos a Leucosis Enzootica Bovina en Establecimientos del NEA. Anales de la Reunion de Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas de la SGCYT, UNNE, Corrientes, Argentina, p. 123-126.
- Sandoval, R., Delgado, A.,Ruiz. L., y Ramos., O. (2015).** Determinación de la Seroprevalencia del Virus de la Leucemia Bovina en un Establo Lechero de Lima, Perú.
- Sargeant, J., D. Kelton, S. Martin, E. Mann. (1997).** Associations between farm management practices, productivity, and bovine leukemia virus infection in Ontario dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 31: 211-221.
- SARVE, (2011).** Boletin Estadistico. Direccion 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).** Servico Nacional de Hidrologia y Meteorologia de la ciudad de Puno.

- SENASA. (1994).** Sistema de Certificación de Rodeos Libres de Leucosis Enzoótica bovina. Resolución N° 337/94.
- SENASA.(2001).**Memoriabianual.[https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/Mem\\_Institu/Memoria.pdf](https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/Mem_Institu/Memoria.pdf).
- Thurmond, M; Carter, R; Puhr, D; Burr ridge, M; Miller, J; Schmerr, M. Y Van Der Maaten, M. (1983).** An Epidemiological Study of Natural in Utero Infection with Bovine Leukemia Virus. *Can J Comp Med*; 47: 316-319.
- Toma, B., Eloit, M., y Savey, M. (1990).** Las Enfermedades Animales por Retrovirus: Leucosis Enzoótica Bovina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*
- Trainin, Z. y J. Brenner. (2005).** the direct and indirect economic impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle. *Israel J Vet Med* 60: 94 – 105.
- Valencia, A., (2009).** 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., Miller, J. M., y Schmerr, M. J. (1981).** Effect of colostral antibody on bovine leukemia virus infection of neonatal calves. *Vet. Res.*
- Vásconez, H., A., Sandoval V., P., Puga T., B., y De La Cueva J., F. (2017).** Seroprevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina en Animales entre 6 a 24 meses en las Provincias de Manabí, Pichincha y Chimborazo - Ecuador. Artículo Científico / Scientificpaper Ciencias Agropecuarias.
- Villacide, J. y Masciocchi, M. (2012).** Serie de divulgación sobre insectos de importancia ecológica, económica y sanitaria. Cuadernillo N°6.

**ANEXOS**

**ANEXO 1: PRESENCIA DE LVB DE ACUERDO A LA ALTITUD.**

Altitud	Numero/%	Positivos	Negativos	Presencia %	Total
0 a 500	Numero %	23 0,95	2391 99,05	0,95	2414
501 a 1000	Numero %	1 1,54	64 98,46	154	65
1001 a 1500	Numero %	3 2,65	110 97,35	2,65	113
1501 a 2000	Numero %	3 15,79	16 84,21	15,79	19
2001 a 2500	Numero %	1 1,25	79 98,75	1,25	80
2501 a 3000	Numero %	38 10,19	335 89,81	10,19	373
3001 a 3500	Numero %	6 2,65	220 97,35	2,65	226
3501 a 4000	Numero %	0 0	17 100	0	17

*Fuente; Vásconez y col., (2017)*

**ANEXO 2: PORCENTAJE DE PRESENCIA DE LVB DE ACUERDO A CLIMA EN CHIMBORAZO, PICHINCHA Y MANABÍ.**

Clima	Numero/%	Positivos	Negativos	Presencia %	Total
Paramo	Numero %	8 3,16	245 96,84	3,16	253
Templado	Numero %	42 8,4	458 91,6	8,4	500
Subtropical	Numero %	9 1,24	715 98,75	1,24	724
Tropical	Numero %	16 0,87	1814 99,13	0,87	1830

*Fuente; Vásconez y col., (2017)*

**ANEXO 3: TOTAL DE NOTIFICACIONES REGISTRADAS POR SOSPECHA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS POR DEPARTAMENTO Y PROVINCIA DE PUNO.**

Departamento	Provincia	Total de notificaciones
Puno	Melgar	50
	Puno	45
	Azángaro	38
	El Collao	15
	Huancané	7
	Chucuito	6
	San Roman	5
	Lampa	3
	Moho	2
	San Antonio de Putina	2
	Yunguyo	2
<b>Total</b>		<b>175</b>

*Fuente: (SARVE) 2011.*

**ANEXO 4: MATERIALES Y EQUIPOS**

**1. MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

- Agujas Hipodérmicas 21G. X 2 pulgadas.
- Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL
- Tubos vacutainer de 10 mL
- Algodón.
- Alcohol yodado al 3%
- Lapiceros de tinta indeleble.
- Pipetas automáticas o manuales.
- Guantes de exploración.

<b>2. MATERIALES PARA EL TRASLADO DE MUESTRAS.</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Cajas térmicas (tecnopor).</li><li>• Geles.</li><li>• Plástico y papel.</li></ul>
<b>3. OTROS MATERIALES.</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Jabón carbólico.</li><li>• Cámara fotográfica.</li><li>• Medios audiovisuales.</li><li>• Sogas.</li><li>• Mocheta.</li><li>• Formatos.</li></ul>
<b>4. MATERIALES PARA LA PRUEBA DE ELISA.</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Micropipetas de precisión y micropipetas de multi dispensadores.</li><li>• Puntas de pipetas desechables.</li><li>• Probetas graduadas para la solución de lavado.</li><li>• Lector de placas de 90 pocillos (equipo con filtro de 450 nm).</li><li>• Vortex o equivalente.</li><li>• Bandejas para depósito de reactivos.</li><li>• Papel toalla.</li><li>• cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo).</li><li>• Cámara húmeda.</li><li>• Incubadora.</li><li>• Algodón.</li><li>• Agua destilada</li></ul>

<b>5. REACTIVOS</b>	
1 Placa tapizado con antígeno BVL.	10
2 Control negativo.	1 x 1,5 mL
3 Control positivo.	1 x 1,5 mL
4 Conjugado.	1 x 110 mL
5 Diluyente de la muestra.	1 x 110 mL
A Substrato TMB n.º12.	1 x 100 mL
B Solución de frenado n.º3.	1 x 100 mL
C Solución de lavado concentrada (10X).	1 x 480 mL
<b>Otros componentes:</b>	
• Bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable	1
<b>6. EQUIPOS</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Congeladora a -20°C.</li> <li>• Balanza analítica.</li> <li>• Refrigeradora convencional.</li> <li>• Estufa incubadora a 37°C.</li> <li>• Potenciómetro.</li> <li>• Cronómetro de tiempo.</li> <li>• Lector de ELISA.</li> <li>• Vortex.</li> <li>• Micro pipeta canal simple 20 a 200 µl.</li> <li>• Micropipeta canal simple 100 a 1000 µl.</li> <li>• Micro pipetas multicanal 50-300UI.</li> </ul>	

ANEXO 5: RELACIÓN DE PRODUCTORES Y NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS

N°	NOMBRE DEL PRODUCTOR	FUNDO	ZONA	PARCIALIDAD	N° DE ANIMALES	ANIMALES MUESTREADOS
1	PEDRO ADIBEL CARI MOGROVEJO	CASA GRANDE		JASANA CAPALLINO	60	22
2	YNES APAZA QUISPE	SANTA YNES	BARRIO CRUCERO	JASANA POCSELLIN	8	4
3	MARINO PACOMPIA CARI		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	10	7
4	ROSA CHAMBI RAMOS		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	5	3
5	ROLANDO HUANCOLLO HUANCA		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	7	3
6	FRANCISCA HUANCA INCAHUANACO		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	8	5
7	NICOLASA INCAHUANACO QUISPE		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	10	3
8	FLORA MACHACA CHAMBI		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	9	4
9	MAURA CHAMBI INCAHUANACO		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	7	2
10	DAVID CHAMBI INCAHUANACO		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	12	4
11	EUSEBIO CARI QUISPE		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	9	3
12	PEDRO CARI CARI		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	8	10
13	EFRAIN QUECASA		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	30	4
14	AGUSTINA CARI MAMANI		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	8	3
15	LUZMARINA CARI RAMOS		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	15	4
16	CEFERINA CARI RAMOS		CAPUJATA	JASANA POCSELLIN	7	3
17	NESTOR QUICARA GUTIERREZ	SANTO DOMINGO		JASANA POCSELLIN	18	2
18	JOSE HUMPIRE QUISPE	SANTO DOMINGO		REQUENA	15	2
19	LORENZO PANDIA SUCAPUCA	SANTA CLARA		REQUENA	11	2
<b>TOTAL</b>						<b>90</b>

Fuente: *Elaboración propia*

**ANEXO 6: FICHA DE MUESTREO SEGÚN ESTADO DE EDAD, SEXO Y ESTADO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVO**

FICHA DE MUESTREO SEGÚN ESTADO DE SEXO, EDAD Y ESTADO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVO						
N° MUESTRA	NUMERO Y NOMBRE DEL PRODUCTOR	NOMBRE DEL ANIMAL	EDAD	SEXO	ESTADO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVO	
1	1 PEDRO ADIBEL CARI MOGROVEJO	ARMANDO	<2 AÑOS	MACHO		
2		CAMILA 1	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
3		CAMILA 2	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
4		BARBY	<2 AÑOS	HEMBRA		
5		ITALA	<2 AÑOS	HEMBRA		
6		GLORIA	<2 AÑOS	HEMBRA		
7		YENI	<2 AÑOS	HEMBRA		
8		ELSA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
9		ROSITA	<2 AÑOS	HEMBRA		
10		CARLA	<2 AÑOS	HEMBRA		
11		PAUL	<2 AÑOS	MACHO		
12		EVA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
13		PATY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
14		ANA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION

15		CLARITA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
16		SULY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
17		NATY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
18		PRINCE	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
19		BLANQUITA	<2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	LACTACION
20		AMARILLA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
21		MAYRA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
22		ROCKY	<2 AÑOS	MACHO		
23		DEISY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
24		BLANCA M	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
25		LUCY M	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	PREÑADA
26	2 YNES APAZA QUIISPE	YULIANA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
27		MARIATA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
28		CAMILA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
29		RUBE	<2 AÑOS	MACHO		
30		RUBEN	<2 AÑOS	MACHO		
31	3 MARINO PACOMPIA CARI	PAMELA	<2 AÑOS	HEMBRA		

32		PAOLO	<2 AÑOS	MACHO		
33		DANIELA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
34		NEGRA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
35		LESLY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
36		PEPE	<2 AÑOS	MACHO		
37	4 ROSA CHAMBI RAMOS	BERTA	<2 AÑOS	HEMBRA		
38		CARLITOS	<2 AÑOS	MACHO		
39	5 ROLANDO HUANCOLLO HUANCA	SANDY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
40		CHOLA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
41		MAMALA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
42		BLANCA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
43		MISTI	<2 AÑOS	MACHO		
44	6 FRANCISCA HUANCA INCAHUANACO	PACHONA	<2 AÑOS	HEMBRA		
45		ROSA	<2 AÑOS	HEMBRA		
46		ESMERALA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
47	7 NICOLASA INCAHUANACO QUISPE	CANDY	<2 AÑOS	HEMBRA		
48	8 FLORA MACHACA	MOCHITA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA

49	CHAMBI	CAMILA	<2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	ENLACTACION
50		DEGA	>2 AÑOS	HEMBRA		
51		LUIS	<2 AÑOS	MACHO		
52		PEPITO	<2 AÑOS	MACHO		
53	9 MAURA CHAMBI INCAHUANACO	YULY	<2 AÑOS	HEMBRA		
54		MILA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
55		PASIÑA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
56		BETY	<2 AÑOS	HEMBRA		
57	10 DAVID CHAMBI INCAHUANACO	MALTONA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
58		RATONA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
59		ESTRELLA	<2 AÑOS	HEMBRA		
60	11 EUSEBIO CARI QUISPE	PASEÑA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
61		ROSA 1	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
62		MARIBEL 2	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
63		YULI	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
64		MARIBEL 1	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
65	12 PEDRO CARI CARI	ROSA 2	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA

66		YELI	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
67		YANELA	<2 AÑOS	HEMBRA		
68		PERLA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
69		CIELO	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
70		CINTIA	<2 AÑOS	HEMBRA		
71		YOLISA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
72		CINTIA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
73		MARGOT	<2 AÑOS	HEMBRA		
74	13 EFRAIN QUECASA	BLANCA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION
75		ROSSEL	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
76		CAMPEONA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
77	14 AGUSTINA CARI MAMANI	ROSEL	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
78		CANELA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
79		CAMILA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
80		NATALY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
81	15 LUZMARINA CARI RAMOS	LULY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
82	16 CEFERINA CARI RAMOS	CACHOROTO CRIA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN LACTACION

83		MOCHA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
84		CACHORRO MADRE	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN LACTACION
85		ROSALIA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
86	17 NESTOR QUICARA GUTIERREZ	BLANCA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA	EN SECA
87		BEATRIZ	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
88		MELINA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
89	18 JOSE HUMPIRE QUIJSPE	MAREZA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA
90	19 LORENZO PANDIA SUCAPUCA	YOLA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA	EN SECA

*Fuente: Elaboración propia.*

ANEXO 7: DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS.

DISTRITO: TARACO		PROVINCIA: HUANCANE								DEPARTAMENTO: PUNO			
LUGAR: PARCIALIDAD; JASANA POCELLIN, JASANA CAPALLINO Y REQUENA													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	C+	ITALA H	PATY VS	MAYRA PL	RUBE M	BERTA H	ROSA H	YULY H	ROSA 1 PS	CIELO PL	ROSEL VS	ROSALIA PS	
B	C+	GLORIA H	ANA VL	ROCKY M	RUBEN M	CARLITOS M	ESMERALA VL	MILA PS	MARIBEL 2 VS	CINTIA H	CANELA PS	BLANCA PS	
C	C-	YENI H	CLARITA PL	DEISY VL	PAMELA H	SANDY PL	CANDY H	PASIÑA VL	YULI VL	YOLISA PL	CAMILA VS	BEATRIZ VS	
D	C-	ELSA VL	SULY PL	BLANCA M PS	PAOLO M	CHOLA PS	MOCHITA VS	BETY H	MARIBEL 1 VS	CINTIA VS	NATALY PL	MELINA VS	
E	ARMANDO M	ROSITA H	NATY VS	LUCY M VL	DANIELA VL	MAMALA PS	CAMILA H	MALTONA VL	ROSA 2 PS	MARGOT H	LULY PL	MAREZA VS	
F	CAMILA PL	CARLA H	PRINCE PL	YULIANA PL	NEGRA PS	BLANCA PL	DEGA PL	RATONA PS	YELI VL	BLANCA VL	CACHORRO CRIA VL	YOLA VS	
G	CAMILA PS	PAUL M	BLANQUITA PL	MARIATA VL	LESLY VL	MISTI M	LUIS M	ESTRELLA H	YANELA H	ROSSEL PS	MOCHA PS		
H	BARBY H	EVA VS	AMARILLA VL	CAMILA PS	PEPE M	PACHONA H	PEPITO M	PASEÑA PS	PERLA VL	CAMPEONA VS	CACHORRO MADRE PL		

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 8: RESULTADOS TOMADOS DEL LECTOR ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,592 (+)	5 0,205	13 0,226	21 0,201	29 0,212	37 0,238	45 0,224	53 0,226	61 0,225	69 0,186	77 0,219	85 0,204
B	1,606 (+)	6 0,173	14 0,291	22 0,177	30 0,178	38 0,228	46 0,174	54 0,237	62 0,200	70 0,183	78 0,158	86 0,315
C	0,181 (-)	7 0,178	15 0,161	23 0,163	31 0,181	39 0,187	47 0,202	55 0,188	63 0,210	71 0,238	79 0,188	87 0,209
D	0,164 (-)	8 0,210	16 0,174	24 0,226	32 0,186	40 0,186	48 0,178	56 0,379	64 0,226	72 0,186	80 0,185	88 0,194
E	1 0,204	9 0,200	17 0,200	25 0,190	33 0,193	41 0,210	49 0,186	57 0,221	65 0,213	73 0,228	81 0,205	89 0,217
F	2 0,172	10 0,187	18 0,179	26 0,199	34 0,187	42 0,187	50 0,228	58 0,193	66 0,212	74 0,185	82 0,212	90 0,201
G	3 0,176	11 0,197	19 0,175	27 0,305	35 0,198	43 0,208	51 0,167	59 0,192	67 0,215	75 0,181	83 0,210	91 0,144
H	4 0,252	12 0,240	20 0,199	28 0,204	36 0,199	44 0,202	52 0,180	60 0,216	68 0,203	76 0,267	84 0,200	92 0,305

Fuente: Resultados de la densidad óptica en la presente investigación

PROMEDIO DE CONTROL POSITIVO: 719.55

PROMEDIO DE CONTROL NEGATIVO: 77.6

ANEXO 9: RESULTADOS DE LA SEROPREVALENCIA DE LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB).

CUADRO DE RESULTADOS DE LA SEROPREVALENCIA DE LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB)										
N° DE MUESTRA	NUMERO Y NOMBRE DEL PRODUCTOR	NOMBRE DEL ANIMAL	EDAD	SEXO	ESTADO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVO	Do	M/P %	RESULTADO		
1	1 PEDRO ADIBEL CARI MOGROVEJO	ARMANDO	<2 AÑOS	MACHO		0,204	2.208	NEGATIVO		
2		CAMILA 1	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,172	-0.034	NEGATIVO		
3		CAMILA 2	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,176	0.246	NEGATIVO		
4		BARBY	<2 AÑOS	HEMBRA		0,252	5.573	NEGATIVO		
5		ITALA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,205	2.279	NEGATIVO		
6		GLORIA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,173	0.035	NEGATIVO		
7		YENI	<2 AÑOS	HEMBRA		0,178	0.386	NEGATIVO		
8		ELSA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,210	2.629	NEGATIVO		
9		ROSITA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,200	1.928	NEGATIVO		
10		CARLA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,187	1.017	NEGATIVO		
11		PAUL	<2 AÑOS	MACHO		0,197	1.718	NEGATIVO		

12		EVA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,240	4.732	NEGATIVO
13		PATY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,226	3.751	NEGATIVO
14		ANA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,291	8.307	NEGATIVO
15		CLARITA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,161	-0.805	NEGATIVO
16		SULY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,174	0.105	NEGATIVO
17		NATY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,200	1.928	NEGATIVO
18		PRINCE	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,179	0.456	NEGATIVO
19		BLANQUITA	<2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,175	0.176	NEGATIVO
20		AMARILLA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,199	1.858	NEGATIVO
21		MAYRA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,201	1.998	NEGATIVO
22		ROCKY	<2 AÑOS	MACHO		0,177	0.316	NEGATIVO
23		DEISY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,163	-0.665	NEGATIVO
24	2 YNES APAZA QUISPE	BLANCA M	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,226	3.751	NEGATIVO
25		LUCY M	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,190	1.227	NEGATIVO

26		YULIANA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,199	1.858	NEGATIVO
27		MARIATA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,305	9.289	NEGATIVO
28		CAMILA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,204	2.208	NEGATIVO
29		RUBE	<2 AÑOS	MACHO		0,212	2.769	NEGATIVO
30		RUBEN	<2 AÑOS	MACHO		0,178	0.386	NEGATIVO
31		PAMELA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,181	0.596	NEGATIVO
32	3	PAOLO	<2 AÑOS	MACHO		0,186	1.648	NEGATIVO
33	MARINO PACOMPIA CARI	DANIELA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,193	1.437	NEGATIVO
34		NEGRA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,187	1.017	NEGATIVO
35		LESLY	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,198	1.788	NEGATIVO
36	4	PEPE	<2 AÑOS	MACHO		0,199	1.858	NEGATIVO
	ROSA CHAMBI RAMOS	BERTA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,238	4.592	NEGATIVO
37		CARLITOS	<2 AÑOS	MACHO		0,228	3.891	NEGATIVO
38	5	SANDY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,187	1.017	NEGATIVO
39	ROLANDO HUANCOLLO HUANCA							

40			CHOLA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,186	1.648	NEGATIVO
41			MAMALA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,210	2.629	NEGATIVO
42			BLANCA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,187	1.017	NEGATIVO
43	6	FRANCISCA	MISTI	<2 AÑOS	MACHO		0,208	2.489	NEGATIVO
44		HUANCA INCAHUANACO	PACHONA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,202	2.068	NEGATIVO
45			ROSA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,224	3.610	NEGATIVO
46	7	NICOLASA	ESMERALA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,174	0.105	NEGATIVO
47		INCAHUANACO QUISPE	CANDY	<2 AÑOS	HEMBRA		0,202	2.068	NEGATIVO
48			MOCHITA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,178	0.386	NEGATIVO
49			CAMILA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,186	1.648	NEGATIVO
50	8	FLORA	DEGA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,228	3.891	NEGATIVO
51		MACHACA CHAMBI	LUIS	<2 AÑOS	MACHO		0,167	-0.384	NEGATIVO
52	9	MAURA	PEPITO	<2 AÑOS	MACHO		0,180	0.526	NEGATIVO
53		CHAMBI INCAHUANACO	YULY	<2 AÑOS	HEMBRA		0,226	3.751	NEGATIVO

54			MILA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,237	4.522	NEGATIVO
55			PASIÑA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,188	1.087	NEGATIVO
56	10		BETY	<2 AÑOS	HEMBRA		0,379	14.476	NEGATIVO
57	10	DAVID CHAMBI INCAHUANACO	MALTONA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,221	3.400	NEGATIVO
58			RATONA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,193	1.437	NEGATIVO
59			ESTRELLA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,192	1.367	NEGATIVO
60	11	EUSEBIO CARI QUISPE	PASEÑA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,216	3.050	NEGATIVO
61			ROSA 1	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,225	3.681	NEGATIVO
62			MARIBEL 2	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,200	1.928	NEGATIVO
63			YULI	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,210	2.629	NEGATIVO
64			MARIBEL 1	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,226	3.751	NEGATIVO
65			ROSA 2	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,213	2.839	NEGATIVO
66	12	PEDRO CARI CARI	YELI	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,212	2.769	NEGATIVO
67			YANELA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,215	2.980	NEGATIVO

68	PERLA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,203	2.138	NEGATIVO
69	CIELO	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,186	1.648	NEGATIVO
70	CINTIA	<2 AÑOS	HEMBRA		0,183	0.736	NEGATIVO
71	YOLISA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,238	4.592	NEGATIVO
72	CINTIA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,186	1.648	NEGATIVO
73	MARGOT	<2 AÑOS	HEMBRA		0,228	3.891	NEGATIVO
74	BLANCA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,185	0.877	NEGATIVO
75	ROSSEL	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,181	0.596	NEGATIVO
76	CAMPEONA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,267	6.625	NEGATIVO
77	ROSEL	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,219	3.260	NEGATIVO
78	CANELA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,158	-1.015	NEGATIVO
79	CAMILA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	79	1.087	NEGATIVO
80	NATALY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,185	0.877	NEGATIVO
81	LULY	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,205	2.279	NEGATIVO

82	16 CEFERINA CARI RAMOS	CACHORROTO CRÍA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN LACTACION	0,212	2.769	NEGATIVO
83		MOCHA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,210	2.629	NEGATIVO
84	17 NESTOR QUICARA GUTIERREZ	CACHORROTO MADRE	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN LACTACION	0,200	1.928	NEGATIVO
85		ROSALIA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,204	2.208	NEGATIVO
86	18 JOSE HUMPIRE QUISPE	BLANCA	>2 AÑOS	HEMBRA	PREÑADA EN SECA	0,315	9.990	NEGATIVO
87		BEATRIZ	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,209	2.559	NEGATIVO
88	19 LORENZO PANDIA SUCAPUCA	MELINA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,194	1.507	NEGATIVO
89		MAREZA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,217	3.120	NEGATIVO
90		YOLA	>2 AÑOS	HEMBRA	VACIA EN SECA	0,201	1.998	NEGATIVO

*Fuente: Elaboración*

IDEXX Leukosis Serum X2

English version

**Bovine Leucosis Virus (BLV) Antibody Test Kit**

For veterinary use only.

**Name and Intended Use**

IDEXX Leukosis Serum X2 Test Kit provides a rapid, simple, sensitive and specific method for detecting antibodies against the bovine leucosis virus (BLV) in individual serum and plasma and pools of up to 10 individual sera or plasma samples from cattle.

**Descriptions and Principles**

Microtiter plates are supplied coated with inactivated antigen. Dilutions of the samples to be tested are incubated in the wells of these plates. Any antibody specific for BLV binds to the antigen in the wells and forms an antigen/antibody complex on the plate well surface. Unbound material is removed from the wells by washing. A peroxidase-labeled anti-ruminant IgG conjugate is added, which binds to the antibodies complexed with the BLV antigen. Unbound conjugate is removed by washing, and the substrate is added to the wells. The degree of colour that develops (optical density measured at 450 nm), is directly proportional to the amount of antibody specific for BLV present in the sample. The result is obtained by comparing the optical density (OD) of the samples with the OD of the Positive Control.

Reagents		Volume
1	BLV Antigen Coated Plate	10
2	Positive Control	1 x 1.5 mL
3	Negative Control	1 x 1.5 mL
4	Conjugate	1 x 110 mL
5	Sample Diluent	1 x 110 mL
A	TMB Substrate N.12	1 x 100 mL
B	Stop Solution N.3	1 x 100 mL
C	Wash Concentrate (10X)	1 x 480 mL
<b>Other Components:</b> Zip lock bag		1

**Note:** See table at the end of the insert for a description of symbols used on the insert and labels of this kit.

**Storage**

Store the reagents at 2–8°C. Reagents are stable until expiration date, provided they have been stored properly.

### Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use. Mix reagents by gentle inverting or swirling.

- 1 Obtain antigen-coated plate(s) from foil bag and record the sample position. If using partial plates, remove only those wells sufficient for samples to be tested. Place the remaining wells, along with desiccant, in the extra ziplock bag provided and return to 2–8°C.

---

- 2 Dispense 90  $\mu\text{L}$  of Sample Diluent into each well.

---

- 3 Dispense 10  $\mu\text{L}$  of the UNDILUTED Positive Control (PC) into duplicate wells.

---

- 4 Dispense 10  $\mu\text{L}$  of the UNDILUTED Negative Control (NC) into duplicate wells.

---

- 5 Dispense 10  $\mu\text{L}$  of each UNDILUTED sample (individual or pool) into the appropriate wells.

---

- 6 Mix the content of the microwells by gently tapping the plate or use a microplate shaker.

---

- 7 Cover the plate and incubate for 60 minutes ( $\pm 5$  min.) at +37°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ) or 14–18 hours at 18–26°C. With either option, plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.

---

- 8 Remove the solution and wash each well with approximately 300  $\mu\text{L}$  of Wash Solution 3 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.

---

- 9 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Conjugate into each well.

---

- 10 Cover the plate and incubate for 60 minutes ( $\pm 5$  min.) at +37°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ). The plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.

---

- 11 Repeat Step 8.

---

- 12 Dispense 100  $\mu\text{L}$  TMB Substrate N.12 into each well.

---

- 13 Incubate at 18–26°C for 15 minutes ( $\pm 1$  min.).

---

- 14 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Stop Solution N.3 into each well.

---

- 15 Read the results at a wavelength of 450 nm.

**Note:** Make sure to read the plates within two hours after the addition of the Stop Solution.