

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
ASOCIACIONES DEL DISTRITO DE PAUCARCOLLA”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. JHON DEYVIS APAZA MAMANI

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

“SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB) EN
VACUNOS DE LA RAZA BROWN SWISS EN TRES ASOCIACIONES DEL
DISTRITO DE PAUCARCOLLA”.

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. JHON DEYVIS APAZA MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE:

M. Sc. MARIO RUBEN ZA VALETA GIBAJA

PRIMER MIEMBRO:

M. Sc. ROLANDO DANIEL ROJAS ESPINOZA

SEGUNDO MIEMBRO:

M. Sc. MERY LUZ ALIAGA TAPIA

DIRECTOR:

Dr. NATALIO LUQUE MAMANI

Área : Salud animal

Tema : Seroprevalencia de la leucosis viral bovina en Vacunos de la raza Brown Swiss

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 06 de junio de 2019.

DEDICATORIA

A **Dios** por ser el creador de mi vida, haberme dado la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para terminar este trabajo. A mis queridos padres **Rufino** e **Yrma**, por ser el pilar de formación; gracias a su cariño, comprensión y sacrificio han hecho posible la culminación de esta etapa de mi vida. Hoy retribuyo parte de su esfuerzo con este logro que no es el mío sino de ustedes, por lo cual estaré eternamente agradecido. A mis hermanos; **Miriam**, **Edalín**, **Goretty**, **Alden**, **Evolvy**. Quienes me motivaron a ser mejor profesionalmente, A mi amada novia **Margiori Sheily**, quien es la razón de mi vida. A mi Abuelo **Saturnino Octaviano** (†), que desde el cielo ilumina cada paso en mi camino. A mis amigo(a)s. Por el tiempo que nunca podré devolverles, pero si agradecerles.

Jhon Deyvis Apaza M.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la por haberme brindado la oportunidad en mi formación académica como Médico Veterinario y Zootecnista.

A los Docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por inculcarme sus conocimientos en mi formación profesional. Al **Dr. Sc Natalio Luque Mamani**, director del presente trabajo, que gracias a su experiencia y conocimiento condujo en forma acertada la realización del presente trabajo de investigación.

A mis jurados **M. Sc. Rubén Zavaleta Gibaja**, **M. Sc. Rolando Daniel Rojas Espinoza** y la **M. Sc. Mery luz Aliaga Tapia** por orientarme por el camino acertado y haber contribuido a la corrección para así poder concluir 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 que contribuyeron en el presente trabajo.

A los productores ganaderos de las tres asociaciones de criadores agropecuarios de la cuenca lechera del distrito de Paucarcolla por haberme facilitado en la obtención de muestras para realizar el presente trabajo de investigación.

Mis más sinceros agradecimientos a mis amigos y familiares que me apoyaron y contribuyeron a la culminación del presente.

“Las mentes positivas
aguardan destinos brillantes”

Jhon Deyvis Apaza M.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	8
RESUMEN	9
ABSTRACT.....	10
I. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Objetivos de la Investigación.....	13
1.1.1. Objetivo General.....	13
1.1.2. Objetivos Especificos.....	13
II. REVISION DE LITERATURA	14
2.1. MARCO TEORICO.....	14
2.1.1. Leucosis Viral Bovina.....	14
2.1.2. Distribución.....	14
2.1.3. Etiologia.....	15
2.1.4. Vías de transmisión.....	16
2.1.5. Patogénesis.....	19
2.1.5.1. Patogenia de la linfocitosis.....	21
2.1.5.2. Patogenia de los tumores.....	21
2.1.6. Sintomatología.....	21
2.1.6.1. Linfocitosis persistente (LP).....	23
2.1.6.2. Leucemia.....	23
2.1.7. Lesiones.....	24
2.1.8. Diagnostico.....	25
2.1.9. Tratamiento.....	26
2.1.10. Control y Erradicación.....	27
2.1.11. Antecedentes.....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1. Lugar de estudio.....	36
3.2. Material Biológico De Estudio.....	36
3.3. Metodología.....	38
3.3.1. Procedimiento de la toma de muestras sanguíneas.....	38
3.3.2. Fundamento.....	39
3.3.3. Principio del Kit ELISA.....	39
3.3.4. Modo de prueba.....	40
3.3.5. Principios de operación.....	40
3.3.6. Modos de pruebas.....	41
3.3.7. Modo absorbancia.....	41

3.3.8. Modo de porcentaje para absorbancia.....	41
3.3.9. Modo de regresión polinomial.....	42
3.4. Prueba Kit ELISA.....	42
3.4.1. Medidas de seguridad.....	42
3.4.2. Preparación de Solución de Lavado.....	43
3.4.3. Procedimientos de la Prueba de ELISA.....	43
3.5. ANÁLISIS DE DATOS.....	45
3.5.1. Resultados del examen de Elisa.....	45
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	47
4.1. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina.....	47
4.2. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina, según sexo.....	50
4.3. Seroprevalencia De La Leucosis Viral Bovina, Según Factor Edad.....	51
4.4. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina, Según Estado Reproductivo.....	52
V. CONCLUSIONES.....	54
VI. RECOMENDACIONES.....	55
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXOS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de animales según: sexo, edad, y estado reproductivo	38
Tabla 2. Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en tres asociaciones de Criadores Agropecuarios pertenecientes al centro poblado de Santa Bárbara de Moro del distrito Paucarcolla – puno.	47

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ELISA	=	Inmuno absorción ligada a enzima.
IG	=	Inmunoglobulinas.
TMB	=	Tetrametilbencidina
TBC	=	Tuberculosis.
Gp	=	Glicoproteína.
FMVZ	=	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
LVB	=	Leucosis Viral Bovina.
LEB	=	Leucosis Enzoótica Bovina.
ADN	=	Ácido Desoxirribonucleico.
ARN	=	Ácido Ribonucleico.
IDGA	=	Inmunodifusión en gel de agar.
n	=	Tamaño de muestra.
Z²	=	Valor de Z al 95% de confiabilidad.
CP	=	Control positivo.
CN	=	Control negativo.
q	=	Complemento (1-p).
VLB	=	Virus de leucosis bovina
UNA	=	Universidad Nacional del Altiplano.
p	=	Proporción de la población objeto de estudio, prevalencia.
APA	=	Asociación de Productores Agropecuarios.

RESUMEN

La investigación se realizó en tres Asociaciones de Criadores Agropecuarios (Asociación la Luz Illpa de Moro, Asociación Arolac los Andes, APA Leche de Moro.) pertenecientes al centro poblado de Santa Bárbara de Moro del distrito de Paucarcolla provincia y Región Puno, en vacunos de la raza Brown Swiss, tuvo como objetivo determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina (LVB), según: Sexo, (machos y hembras), edad (menores de 2 años y mayores de 2 años), y estado reproductivo - (toros, toretes, vaquillas, vacas preñadas en lactación/seca y vacas vacías en lactación /seca) que se encontraron bajo un sistema de crianza semi-intensivo. Para este fin se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia de 84 vacunos; a los cuales se le obtuvieron 07 mL de sangre obtenidos de la vena yugular, posteriormente se realizó el centrifugado a 3500 rpm/ 5 minutos, logrando aislar el suero sanguíneo. El cual fue conservado en viales a una temperatura de -20°C. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, FMVZ- UNA- Puno, mediante la Prueba de inmunoabsorción ligada a enzima (ELISA), utilizando el kit IDEXX leucosis serum X2, para la detección de anticuerpos específicos al virus de la leucosis bovina. Los resultados obtenidos muestran que no hubo vacunos reactivos positivos frente al virus 0.0% (0/84) según sexo: machos (0/20) y hembras (0/64) según Edad: menores de 2 años (0/20) y mayores de 2 años (0/64), según estado reproductivo: torete (0/10), toro (0/10), vaquillas (0/10), vacías en lactación (0/10), vacías en seca (0/11) y preñadas en lactación (0/17) y preñadas en seca (0/16). Los vacunos Brown Swiss en las tres asociaciones de criadores agropecuarios pertenecientes al centro poblado de Santa Barbara de Moro del distrito de Paucarcolla no son portadores de la enfermedad de la leucosis viral bovina.

Palabras Clave: Leucosis Viral Bovina, Seroprevalencia, Prueba de ELISA

ABSTRACT

The investigation was carried out in three Associations of Agricultural Breeders (Asociación La Luz Illpa de Moro, Asociación Aprolac los Andes, APA Leche de Moro.) Belonging to the town of Santa Barbara de Moro in the district of Paucarcolla province and Puno Region, in cattle The Brown Swiss breed, aimed to determine the Seroprevalence of Bovine Viral Leukosis (LVB), according to: Sex, (males and females), age (under 2 years and over 2 years), and reproductive status - (bulls, heifers, pregnant cows in lactation / dry and empty cows in lactation / dry) that were found under a semi-intensive breeding system. For this purpose, a non-probabilistic sampling was carried out for the convenience of 84 cattle; to which 07 mL of blood obtained from the jugular vein was obtained, the centrifugation was subsequently performed at 3500 rpm / 5 minutes, managing to isolate the blood serum. Which was preserved in vials at a temperature of -20 ° C. The samples were processed in the Animal Health laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics based at the Chuquibambilla Research and Production Center, FMVZ-UNA-Puno, using the enzyme-linked immunosorbent test (ELISA), using the kit IDEXX serum leukosis X2, for the detection of antibodies specific to the bovine leukosis virus. The results obtained show that there were no positive reactors vaccines against the 0.0% virus (0/84) according to sex: males (0/20) and females (0/64) according to age: under 2 years (0/20) and older 2 years (0/64), according to reproductive status: bull (0/10), heifer (0/10), empty in lactation (0/10), empty in dry (0/11)) and pregnant in lactation (0/17) and pregnant in dry (0/16). Brown Swiss cattle in the three associations of agricultural breeders belonging to the populated center of Santa Barbara de Moro in the Paucarcolla district are not carriers of bovine viral leukosis disease.

Keywords: Bovine Viral Leukosis, Seroprevalence, ELISA Test

I. INTRODUCCIÓN

La crianza del ganado bovino es uno de los pilares muy importantes de nuestra estructura económica y social, ya que la industria pecuaria específicamente la crianza del bovino genera una gran cantidad de subproductos, de alto valor dando origen a largas cadenas de transformación. El ganado bovino produce alimentos ricos en proteína animal de alto valor nutritivo para satisfacer las necesidades del consumo donde la oferta y la demanda de estos alimentos se distancian cada vez más **(Rojas, 2007)**.

El departamento de Puno cuenta con una población de ganado vacuno total de 617 mil 163 vacunos; en cuanto a razas, la principal es la Brown Swiss, ganado de doble propósito productivo (carne y leche) con 210 mil 244 animales (93,6%), seguida por la Holstein (leche) de 4 mil 301 animales (1,9%) y luego el Cebú con 1 mil 7 animales (0.4%). El distrito de Paucarcolla cuenta con 10 mil 423 de las cuales solo 3 mil 342 son de la raza Brown Swiss; los cuales son utilizados para la crianza familiar y constituyen el sustento económico de las familias del área rural. **(INEI, 2015)**.

La Leucosis Viral Bovina tiene impacto significativo en la producción, desde el punto de vista sanitario y económico, debido a la mortalidad causada directamente por la patología tumoral, por la alteración directa del sistema inmune del ganado infectado (que produce el aumento concomitante de otras enfermedades infecciosas) y por las restricciones que son impuestas a la exportación de ganado en pie, semen y/o embriones infectados generando importantes pérdidas en las exportaciones y en la comercialización de ganado y material genético **(Peizer, 1997)**.

Existen reportes importantes en salud pública, ya que la infección se ha transmitido a humanos al consumir leche de vacas infectadas; porque encontraron la presencia del antígeno gp 51 (glicoproteína de superficie) del virus de la LVB en el 7% de los casos de

cáncer de seno, lo que sugiere que este virus es capaz de infectar células humanas. Uno de los efectos más difíciles de medir, pero también uno de los más importantes, es la deficiente respuesta de los animales infectados a otras infecciones bacterianas y virales y por lo tanto los gastos en tratamientos o las fallas post-vacúnales y las pérdidas indirectas por efectos sobre la capacidad reproductiva (**Betancur y Rodas, 2008**).

El daño económico directo se ha atribuido a los decomisos en el rastro de los cadáveres con tumores linfoides, estimado entre 2 y 17 por 10 000 en ganado de engorda y ganado de leche respectivamente. La mayor tasa de decomisos por linfosarcoma en ganado de leche se ha atribuido a la mayor prevalencia de la infección por LVB en hatos lecheros. Se han observado tasas de decomisos por linfosarcoma en ganado de leche entre 39 y 113 por 10 000 sacrificios (**Chamizo, 2005**).

Las tres asociaciones de criadores agropecuarios localizados en el centro poblado de Santa Bárbara de Moro perteneciente al distrito de Paucarcolla provincia y región Puno, muestra un crecimiento en la población de habitantes y consecuentemente demanda de alimentos de origen animal como es la leche y sus derivados. Así mismo presentan condiciones para seguir desarrollando la mejora de la ganadería lechera para garantizar la seguridad alimentaria de una población humana. Además, las tres asociaciones de criadores agropecuarios (Asociación la luz Illpa de Moro, Asociación Arolac los Andes, APA Leche de Moro.) están focalizados por el proyecto regional Programa de Apoyo al Desarrollo Rural Andino valorando sus índices productivos y reproductivos, por otra parte, la Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica (SARVE), en el año 2011 notificó como 05 casos sospechosos de Leucosis Viral Bovina a nivel nacional: 01 caso en Arequipa, 03 en Cajamarca y 01 en Puno. Por tal motivo fue necesario realizar el trabajo de investigación a fin de obtener resultados para accionar medidas de prevención y control por parte de las instancias competentes y además aportar

datos para el análisis de riesgos, consideraciones que motivaron a realizar este trabajo de investigación.

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 asociaciones de criadores agropecuarios del centro poblado de Santa Bárbara de Moro del Distrito de Paucarcolla.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss según sexo (machos y hembras) en tres asociaciones de criadores agropecuarios.
- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss según edad mayores de 2 años y menores de 2 años en tres asociaciones de criadores agropecuarios.
- Determinar la seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss según estado reproductivo (toretos, toros, vaquillas, vacas preñadas en producción y seca, vacas vacías en producción y seca).

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. MARCO TEORICO

2.1.1. Leucosis Viral Bovina

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 principalmente en el ganado lechero, los demás países de América probablemente la adquirieron a través de importaciones para mejorar los rebaños de los mismos (**Johnson y Kaneene, 1991**).

2.1.2. Distribución.

La leucosis viral bovina está presente en la mayoría de los países del mundo, con altas prevalencias en el norte de Europa, estados unidos. Algunos países de Europa han erradicado la enfermedad, ampliamente distribuida en América latina y en la argentina las mayores prevalencias corresponden a establos lecheros (**Giraud y col., 2010**).

La Leucosis Enzoótica Bovina es una enfermedad viral de distribución mundial, la enfermedad afecta principalmente a la especie Bos Taurus y es producida por el virus de leucosis Enzoótica bovina (LEB) (**Johnson y Kaneene, 1991**).

2.1.3. Etiología.

El VLB es envuelto, de simetría icosaédrica y mide entre 60 a 125 nm de diámetro. Está compuesto por proteínas estructurales que envuelven y se relacionan con el ARN viral. El virus es inactivado por solventes orgánico y detergentes como el hipoclorito de sodio. Dentro del linfocito el virus es distribuido fácilmente por la pasteurización, sin embargo, su compleja estructura lo hacen más resistente a la luz UV y radiaciones en comparación a otros retrovirus (Gillet et al., 2007).

El virus de la Leucosis Bovina es un retrovirus del género deltaretrovirus, perteneciente a la subfamilia Oncovirinae (tipo C) que se encuentra integrado principalmente en el genoma de los linfocitos B. Los deltaretrovirus también incluyen a los virus Linfotrópicos de Células T Humanas tipo I y II (HTLV I y II), los recientemente descubiertos HTLV III y IV y el Virus de la Leucemia de Células T de los Simios (STLV). Comparaciones filogenéticas entre el VLB y los virus linfotrópicos-T de los primates tienen una diferencia del 42%. El genoma es "diploide", está formado por dos cadenas idénticas de ARN de sentido positivo, no complementarias, asociadas a la proteína estructural interna no glicosilada de la nucleocápside (p12) y a varias copias de la polimerasa transcriptasa reversa (Cañibano, 2011)

El Virus de la Leucosis viral Bovina es una partícula de 70 a 130 nm de diámetro con genoma ARN protegido por una cubierta proteica y una envoltura externa. El virus es inactivado por solventes orgánico y detergente como el hipoclorito de sodio. Dentro del linfocito el virus es destruido fácilmente por la pasteurización, sin embargo, su compleja estructura lo hacen más resistente a la luz UV y radiaciones en comparación a otros retrovirus (Ferrer, 1998).

El virus de la leucemia bovina (VLB) 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**).

Los retrovirus se presentan en los organismos infectados bajo la forma proviral mucho más que bajo la forma de viriones completos, circulantes en los líquidos del organismo. Las células “B” infectadas con LVB, expresan citoquinas mRNA específicas “in vivo”, Las proteínas estructurales de LVB comprenden las proteínas internas y las glucoproteínas de envolturas (gp30 y la glucoproteína mayor gp51) Diferentes epitopos de la gp51 se han identificado, con la aplicación práctica de desarrollar las pruebas de competición ELISA, que permiten revelar la presencia de anticuerpos “anti-gp51” en los bovinos infectados (**Johnson y Kaneene, 1991**).

2.1.4. Vías de transmisión.

El contagio o transmisión puede ser horizontal (de animal a animal) o vertical (de madre a hijo). Los animales portadores asintomáticos son las grandes fuentes de contagio en los rodeos, siendo ellos, la forma horizontal, el contagio más importante y la que produce mayor número de nuevos infectados. Se elimina por las secreciones y fluidos biológicos como: leche, sangre, calostro, secreción nasal, saliva, semen y orina se pueden llegar a encontrar linfocitos infectados transformando a estos fluidos en una fuente de contagio, no obstante la mayor proporción de linfocitos infectados se encuentran obviamente en la sangre, por lo tanto cualquier medida de manejo o práctica veterinaria como extracción de

sangre, vacunación, castración, descorné, aplicación de inyectables, cirugías, palpación rectal, tatuaje, etc. Que se practican sin tomar las medidas higiénicas correspondientes son una importante forma de diseminación de la enfermedad (iatrogénica). Los artrópodos hematófagos como tábanos, moscas podrían ser otra vía de transmisión. En los rodeos con gran número de animales infectados y alta carga de animales por superficie se ve muy favorecida la transmisión horizontal por que se acentúa el contacto físico entre animales y la transmisión del virus. Por otro lado, la transmisión vertical es de notoria menor importancia ya que menos del 10% de los animales nacidos de madres portadoras están infectados por el virus **(Giraud y col., 2010)**.

La transmisión de la enfermedad puede ser horizontal de bovino a bovino o vertical de madre a hijo. Una vez que el virus ingresa al organismo se aloja en el interior de los linfocitos y se transmite principalmente a partir del contacto de un animal sano con la sangre de otro infectado; esto es lo que se conoce como transmisión horizontal. El hombre juega un papel importante en este proceso, entre ellos pueden mencionarse a las agujas hipodérmicas, jeringas, instrumental de cirugía, guantes para tacto rectal, descornadores, elementos para realizar el tatuado, etc., hay que tener presente que para que se produzca el contagio sólo basta el contacto con la milésima parte del volumen de una gota de sangre proveniente de un bovino infectado. También están los vectores como los insectos que se alimentan de sangre, como mosquitos, tábanos o garrapatas, pueden participar como vectores en la transmisión de la enfermedad **(Gómez, 2008)**.

El principal modo de transmisión del virus de LVB es horizontal denominándose infección postnatal. La infección prenatal es menos frecuente presentándose hasta en el 20% de las madres infectadas **(Ferrer, 1998)**.

Las infecciones intrauterinas ocurren entre el 2 y el 10 % según el rodeo (dependiendo de la susceptibilidad, la línea genética, etc.). No dependen del número de parición, ni del momento de infección de la madre, y ocurre en etapas de la gestación en que el ternero es inmunocompetente (a partir del tercer mes de gestación). Estas infecciones pueden ser detectadas por métodos serológicos o virológicos al momento del nacimiento. El LVB está presente en el calostro y leche de vacas infectadas. Tanto la fracción celular como las fracciones libres de células, aunque éstas últimas con menor frecuencia, pueden ser infecciosas, tanto de leche como de calostro (**Castelli, 2001**).

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

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

La Leucosis Viral Bovina tiene un impacto significativo en la producción, desde el punto de vista sanitario y económico, debido a la mortalidad causada directamente por la patología tumoral, por la alteración directa del sistema inmune del ganado infectado (que produce el aumento concomitante de otras enfermedades infecciosas) y por las restricciones que son impuestas a la

exportación de ganado en pie, semen y/o embriones infectados generando importantes pérdidas en las exportaciones y en la comercialización de ganado y material genético **(Peizer, 1997)**.

2.1.5. Patogénesis.

Los primeros pasos en el establecimiento de la infección por el VLB, no están del todo claros. La llegada del virus a un individuo susceptible se realiza mediante células de un individuo infectado, las cuales contienen el genoma viral. Estas células alogénicas contenidas en sangre, semen o leche cruda infectan las células del nuevo huésped. Una vez ingresado al organismo el objetivo del virus son los linfocitos B que expresan la IgM, la infección viral es seguida por una expansión policlonal de una gran y diversa población de linfocitos portadores de uno a cinco provirus integrados **(Gillet *et al.*, 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, la primera indicación de la infección es la aparición de la respuesta inmune humoral dentro de las 8 semanas post inoculación. Los anticuerpos reconocen epítopes de gp51 y p24 y son líticos para las células productoras del virus. Casi al mismo tiempo de la seroconversión temprana aparecen linfocitos T citotóxicos para los epítopes tax y env en sangre periférica **(Fulton *et al.* 2006)**

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 y col.,2005)**

Las infecciones por retrovirus son persistentes, se prolongan durante toda la vida del organismo hospedador y corresponden a la presencia de “información” de origen viral integrada en las células del mismo, bajo la forma integrada del agente patógeno (retrovirus) está al abrigo de las defensas inmunitarias de su hospedador **(Evermann, 1992)**.

El aumento de la carga viral en el animal infectado ocurre por el ciclo replicativo normal del virus, y también por la mitosis de las células huésped infectadas, en un proceso conocido como expansión clonal. Patogenia de la linfocitosis: en los bovinos la linfocitosis no se debe a un aumento de la producción de los linfocitos B, sino a una disminución en la tasa de recambio de los mismos, debido a la reducción de la apoptosis, la cual es inhibida de alguna manera por la acción del virus. Patogenia de los tumores: en el comienzo del período de cronicidad de la enfermedad el genoma de la célula huésped evidencia modificaciones genéticas: hiperdiploidía, pequeños cromosomas adicionales, trisomías, translocaciones y reacomodamientos isocromáticos **(Kettmann et al., 1982)**

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 et al., 2007)**.

2.1.5.1. Patogenia de la linfocitosis: en los bovinos la linfocitosis no se debe a un aumento de la producción de los linfocitos B, sino a una disminución en la tasa de recambio de los mismos, debido a la reducción de la apoptosis, la cual es inhibida de alguna manera por la acción del virus (**Kettmann *et al.*, 1982**)

2.1.5.2. Patogenia de los tumores: en el comienzo del periodo de cronicidad de la enfermedad el genoma de la célula huésped, evidencia modificaciones genéticas: hiperdiploidia, pequeños cromosomas adicionales, trisomías, translocaciones y reacomodamientos isocromáticos (**Kettmann *et al.*, 1982**)

2.1.6. Sintomatología

Los síntomas se aprecian mayoritariamente después de los 2 años de edad y el periodo de mayor frecuencia es entre los 5 y 8 años. La mayor proporción de los síntomas son inespecíficos y variables, puesto que van a responder a la ubicación de las formaciones neoplásicas y según el grado de afectación de los órganos. Se ha descrito anemia, emaciación e infertilidad. También se han reportado momificaciones por tumoraciones en las paredes del útero y cuernos uterinos. El signo más frecuente que lleva a pensar en la enfermedad es el agrandamiento bilateral y más o menos simétrico de los ganglios explorables. Se ha informado de ganglios pre escapulares que llegan a pesar 1.8 kilos (**Chamizo, 2005**).

Aunque las células tumorales se originan de los tejidos linfoides, estos pueden localizarse virtualmente en todos los órganos. La manifestación de los signos clínicos depende del órgano comprometido, de la tasa de crecimiento tumoral, y del grado de difusión del proceso neoplásico. En los vacunos adultos las lesiones se observan con mayor frecuencia que el abomaso, corazón, útero

y nódulos linfáticos viscerales y periféricos, y en los animales jóvenes a nivel de nódulos linfáticos viscerales, bazo e hígado (**Johnson y Kaneene, 1991**).

Cerca del 5 % de vacunos afectados padecen una forma sobreaguda de la LVB y mueren sin presentar signos clínicos previos. Esta 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, et al., 1992**).

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, protrusión de ojos, diarrea o constipación y lesiones cardíacas (**Johnson y Kaneene, 1991**).

En los tumores malignos, la enfermedad tiene un curso crónico, y puede llevar a la muerte desde el inicio de la misma. Cursa con disminución del apetito, emaciación, infertilidad, lasitud, enflaquecimiento, desnutrición, fatiga, disminución de la producción láctea, anemia, aumento del tamaño de los ganglios linfáticos externos, visibles en las regiones del flanco e intercostales principalmente (**Díaz, 2007**).

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**).

2.1.6.1. Linfocitosis persistente (LP)

Una proporción variable de animales infectados estimada en el 30% desarrolla linfocitosis persistente, se ha observado que de un cuarto a un tercio de linfocitos B en estos casos se encuentra afectado por el virus. Los bovinos con linfocitos persistentes, presentan títulos más elevados de anticuerpos específicos que aquellos infectados sin linfocitosis persistente (**Hamilton et al., 2003**).

2.1.6.2. 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 medula 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, 1998**).

La presencia de anomalías en el cariotipo, aneuploidía con aparición de cromosomas adicionales, es prueba del carácter neoplásico de estas células. Estas anomalías celulares varían de un animal a otro,

pero no en el mismo animal, por lo que demuestra que el tumor es monoclonal (**Hamilton et al., 2003**).

2.1.7. Lesiones.

Existen reportes de la ocurrencia de masas tumorales en tejido subcutáneo de la región abdominal como así también adherencias en pleura. El útero se afecta también con relativa y alta frecuencia, con infiltración y engrosamiento de sus paredes, pero las estructuras fetales rara vez se ven afectadas, el abomaso puede presentar infiltración de sus paredes con un engrosamiento de las mismas y hasta se pueden ver úlceras, En los riñones se ven lesiones infiltrativas con hemorragias visibles, nódulos y atrofia del parénquima renal (**Gatti, 2007**), en el intestino pueden observarse lesiones semejantes a las del abomaso, el musculo esquelético puede estar afectado de igual forma (**Pestana, 1995**).

Mientras que en la pre Leucosis no se advierten particularidades morfológicas, la fase tumoral provoca lesiones características de determinados órganos o de todo el aparato linfático. Los infiltrados leucocitos difusos o nodulares provocan una destrucción más o menos marcada de la estructura orgánica y en muchos casos el aumento de volumen de los órganos linfáticos, resulta constante la localización de los tumores en los ganglios linfáticos, describiéndose la extensión de afección de estos órganos en: General afecta de 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 (**Pestana, 1995**).

2.1.8. Diagnóstico

El principio de la 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. La densidad óptica del color es medida en el espectrofotómetro y está en relación directa a la cantidad del complejo antígeno-anticuerpo durante el ensayo (**Tizard, 1995**).

Los anticuerpos contra el virus, y de utilidad diagnóstica son dirigidos contra la p24 y gp51 del virus y pueden ser detectados por la prueba de Radioinmunoensayo (RIA). Esta prueba usa las proteínas p24 y gp51 como antígeno y emplea como marcador del anticuerpo o antígeno un radioisótopo radioactivo, tiene una alta sensibilidad sin embargo el costo del equipo y el riesgo de trabajar con radioisótopos son una limitante para su aplicación (**Jonson y Kaneene, 1991**).

El diagnóstico de la infección con el VLB en las vacas se realiza utilizando técnicas serológicas como una prueba de Inmunodifusión o precipitación en gel de agar (IDGA), es una prueba de Inmunodifusión doble conocida como prueba de OUCHTERLONY interviene en la identificación de Anticuerpos e identificación de Antígeno, Inmunotransferencia, Elisa, o el radioinmunoensayo (RIA) (**Pestana, 1995**).

La detección de anticuerpos en la leche por medio de ELISA puede ser de utilidad clínica en la vigilancia de hatos previamente certificados como negativos. Anteriormente se hacía el diagnóstico de acuerdo al número de linfocitos encontrados en análisis sanguíneos (prueba de Bendixen o de Göetze), sin embargo, la linfocitosis persistente solo se observa en el 30% de

los animales infectados, por lo que ahora no se considera de utilidad. De cualquier manera, si se hace el análisis sanguíneo en tres ocasiones con diferencia de un mes y las tres veces se detecta una elevación del conteo linfocitario mayor a tres veces la desviación estándar por encima de la media, se considera que el bovino es positivo a LVB, la prueba de ELISA se usa para la detección de anticuerpos Ig G1 e Ig M en suero y/o leche (**Jonson y Kaneene, 1991**).

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), 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 se puede realizar por medio de la reacción de hipersensibilidad tardía, aplicando derivados proteicos purificados (PPD) o dermoreaccion bovino (**Giraud y col., 2010**).

2.1.9. Tratamiento.

El ganado afectado puede vivir durante corto tiempo con cuidados en la lactancia o mediante tratamiento quirúrgico con el fin de eliminar la presión producida por el espacio que ocupa las lesiones. En las vacas preñadas cuyos fetos son viables, estos pueden ser extraídos mediante operación cesárea (**Kahrs, 1994**). No existe ningún tratamiento para esta enfermedad (**Blowey et al, 2004**).

2.1.10. Control y Erradicación.

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 (**Radostis, 2002**).

Se han aplicado con éxito estrategias de análisis y eliminación tanto en los programas de erradicación nacionales como en los desarrollados al nivel de las crianzas individuales. Se recomienda realizar el análisis serológico a intervalos de seis meses. En países en los que la prevalencia de la infección por el VLB es demasiado elevada para poder eliminar todos los animales seropositivos de las granjas, se deberían adoptar prácticas de manejo dirigidas a reducir la diseminación de la infección (**Quinn, y col., 2005**).

Hay que muestrear a todo el ganado de reciente adquisición realizar cuarentena hasta tener el resultado. Se recomienda deshacerse de todos los seropositivos, pero de no ser posible, se deben mantener separados de los negativos, evitando cualquier contacto entre ellos (**Chamizo, 2005**)

2.1.11. Antecedentes

Por medio de pruebas serológicas se ha demostrado una amplia diseminación de la infección por LVB en América del Norte. En 1980 en Canadá se observó 9,3% del ganado de leche y 40-45% de los rebaños de leche infectados, mientras que 0,5 % del ganado de carne y .11-14% de los rebaños de engorde estaban infectados con LVB. El porcentaje de rebaños infectados en cada provincia canadiense varió de 0-60% y alrededor del 90% de los

rebaños infectados están en el centro de Canadá, Posiblemente el examen de una población mayor de animales, así como la alta sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA permitieron encontrar más animales reactivos al LVB. Asimismo, la leucosis bovina se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo; sin embargo, dependiendo del modo de transmisión del virus, el grado de infección es diferente dentro de un país o rebaños de una misma región **(Schawartz *et al.*, 1994).**

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% **(Vasconez *y col.*, 2017)**

La seroprevalencia del 21% para LVB. No se encontraron diferencias significativas de prevalencia asociadas a las variables raza, edad o estado reproductivo de los animales ($p \geq 0.05$), pero si entre la presencia de anticuerpos contra LVB y las variables zona, tipo de explotación y sexo. Se demuestra la circulación del virus de la LVB en Montería, (Colombia). Se confirma la importancia de implementar un programa de control y prevención de la diseminación de la infección, con el fin de evitar las pérdidas económicas asociadas, y dentro de lo posible, la eliminación de los especímenes

seropositivos para lograr la erradicación de la infección en esta zona del país **(Betancur y Rodas, 2008)**.

La investigación se llevó a cabo con el objetivo de realizar una determinación serológica de leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas. Se recolectaron 100 muestras de sangre de hembras escogidas al azar, pertenecientes a tres fincas del sector La Guafilla, de la vereda Morichal, en Yopal, Casanare, las cuales fueron analizadas para anticuerpos contra el LVB (virus de la *Leucosis Viral Bovina*); adicionalmente, se obtuvieron 100 muestras de los mismos animales para realización de hemograma, con el fin de observar cambios a nivel sanguíneo de aquellos que resultaran positivos. La técnica serológica empleada fue la prueba de ELISA indirecta. Se realizó un análisis descriptivo tabulando la información con datos de seropositividad y seronegatividad obtenidos de cada animal; los resultados se interpretaron de acuerdo con las variables raza, edad y variaciones del cuadro **(Bautista y col, 2013)**.

Muestras de sangre de 680 vacas lecheras de varios hatos a nivel nacional (Perú) fueron examinadas para detectar linfocitosis persistente y su relación con leucemia bovina para determinar la incidencia de esta enfermedad en nuestro país de acuerdo a este método, la incidencia de leucemia bovina en nuestro país fue de 3,1 %. En vacunos de Pucallpa (Ucayali); el 31 % revelan que en zonas con clima tropical los niveles de infección son mayores, y uno de los factores determinantes es 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 e higiene de equipos y materiales **(Hung, 1987)**.

La leucosis viral bovina causa grandes pérdidas económicas en la ganadería, esto debido a la disminución en la ganancia de peso, pérdida de producción de leche, decomiso de carcasas y vísceras en el camal. La prevalencia de la enfermedad en el ganado lechero varía de hato en hato de país en país. En algunos hatos esto puede llegar de 90 hasta 100 %. Cuando la prevalencia es alta es de preocupación en la salud pública (**Peizer, 1997**).

Una encuesta serológica para determinar la prevalencia de la leucemia viral bovina en el Perú fue realizada usando la inmunodifusión en agar gel. La prevalencia para Lima 28,3 %, para Ica 6,7 %, en Junín de 11,1 %, Cajamarca 39,1 %, Ayacucho y Arequipa 0 %, la mayoría del ganado afectado tenía entre 3 y 7 años de edad. De los 16 machos examinados 2 fueron reactores positivos y pertenecían a hatos de la selva, niveles de prevalencia que han encontrado fueron reportados en Arequipa (27 %), Huánuco (84 %) y San Martín (33 %), en tanto que, en Cajamarca y Lima los niveles de infección, tuvo una amplia variación a nivel de los establos o hatos lecheros. De esta forma en Cajamarca y Lima prevalencias promedio de 32 % y 30 % con rangos de 0 a 42 % y 16-90 % respectivamente; sin embargo, en Cajamarca se encontró una mayor prevalencia 51 % (**Hung, 1987**).

La prevalencia de la Leucosis Viral Bovina en la cuenca lechera de Arequipa fue de 9,51%; de los 261 hatos estudiados el 14,6% estaban infectados, y la prevalencia por sectores fue la siguiente: 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%) (**Flores, 2000**).

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 $92,7$ y el 60% de los animales mayores de 5 años, de 2 a 5 años y menores de 2 años fueron seropositivos, respectivamente **(Sandoval y col, 2015)**.

En el valle de Sama, perteneciente a la provincia y departamento de Tacna, durante el periodo septiembre -noviembre 2008, teniendo como objetivos, determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la leucosis viral bovina (LVB) y determinar la seroprevalencia de leucosis viral bovina según sexo y edad de bovinos. Con un tamaño de muestra de 149 bovinos mayores de 2 años, los que fueron tomados al azar; las muestras fueron procesadas en el laboratorio SENASA-Lima, mediante la técnica de ELISA, utilizando el Kit Corporation Synbiotics, para la detección de anticuerpos específicos a leucosis viral bovina. 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 estudio que tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia del Virus de la Leucosis Bovina (VLB) en el Valle Viejo (Santa Rosa, Omo, Rinconada, Chársagua) del distrito de Moquegua, 2010. Se recolectaron al azar 110 muestras de sangre de vacunos con aptitud lechera, correspondiendo 88 hembras y 22 machos, mantenidos bajo crianza semi intensiva. La técnica diagnóstica utilizada, fue la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra el VLB, con un porcentaje de sensibilidad del 96%. Se realizó un análisis descriptivo tabulando la información con datos de seropositividad y seronegatividad obtenidos de cada animal; los resultados se interpretaron de acuerdo a las variables: sector, edad-sexo, estado reproductivo y método de servicio. Los resultados evidenciaron una prevalencia de LVB del $20 \pm 0,05$ % para el Valle Viejo del distrito de Moquegua. Para la variable sector se obtuvieron prevalencias de $32 \pm 0,04$ % en Omo, $31,82 \pm 0,04$ % Rinconada, $21,21 \pm 0,02$ % Santa (**Barrera, 2010**).

En estudios realizados en distritos de Rupa, Hermilio Valdizan, Daniel Alomías Robles, Mariano Damazo Beraún, Padre Felipe Luyando y José Crespo y Castillo, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco - Perú. Cuyo objetivo de la investigación fue determinar la seroprevalencia del virus de leucosis bovina en el ganado vacuno en la provincia de Leoncio Prado,

mediante la prueba de ELISA Indirecta. Donde se utilizaron 207 muestras de suero sanguíneo provenientes de animales de las razas Holstein, Brown Swiss y cruces (Holstein x Brown Swiss, Holstein x Cebú y Brown Swiss x Cebú), de 1 a 10 años de edad. Los resultados obtenidos de la seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado fue $12 \pm 4.4\%$. Presentando los distritos de Rupa y Daniel Alomías Robles prevalencias alta ($33 \pm 31\%$ y $29 \pm 33\%$ respectivamente). Asimismo, los cruces de Holstein x Brown Swiss, resultaron con mayor porcentaje de prevalencia $29 \pm 24\%$ y el factor de riesgo para la presencia del virus aumenta a partir de los 5 años de edad de los bovinos en el hato, ($p \geq 0.05$). La seroprevalencia de leucosis bovina en la Provincia de Leoncio Prado es menor a 50%. Por lo tanto, se recomienda realizar un control estricto en el movimiento de ganado vacuno de un lugar a otro para no incrementar la leucosis bovina y por otro lado los ganaderos deben introducir a la zona animales negativos a la prueba serológica de esta enfermedad **(Modena, 2005)**.

En un estudio realizado en el distrito de Moquegua con el objetivo de evaluar la seroprevalencia de la Leucosis Enzootica 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. 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 ($p \geq 0.05$). Concluyo que en la cuenca lechera del distrito de Moquegua existe la presencia de actividad viral y por lo tanto también de la leucosis enzootica bovina (**Quequesana, 2016**).

Con el objetivo de determinar la seroprevalencia del virus de la leucemia bovina en el establo lechero de la universidad pública de Lima, Perú, através de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra el LVB, empleando un kit comercial (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test), para la determinación de anticuerpos circulantes contra el virus. Se encontró una prevalencia de 92,7% (51/55), donde los animales mayores de 5 años, de 2 a 5 años y menores de 2 años fueron seropositivos, respectivamente. Se reconoce la importancia de iniciar un plan de control y erradicación que sirva como modelo para los establos comerciales del departamento de Lima, con el objetivo de determinar la seroprevalencia del virus de la leucemia bovina en el establo lechero de la universidad pública de Lima - Perú, mediante la prueba de ELISA, empleando un kit comercial (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test), Se encontró una prevalencia de 92,7% (51/55), donde los animales mayores de 5 años, de 2 a 5 años y menores de 2 años fueron seropositivos, respectivamente. Se reconoce la importancia de iniciar un plan de control y erradicación que sirva como modelo para los establos comerciales del departamento de Lima (**Sandoval y col, 2015**).

En la investigación realizada en la cuenca lechera del distrito de Pomata, en vacunos de la raza Brown Swiss, que tuvo como objetivo determinar la

seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Viral Bovina (LVB), según Sexo, Edad y Estado reproductivo mediante la técnica de ELISA indirecto, utilizando el kit IDEXX Leukosis serum X2, para la detección de anticuerpos específicos. Los resultados obtenidos indican que no hay vacunos reactivos positivos frente al virus 0,0% según Sexo, Edad y Estado reproductivo (**Quispe, 2018**)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El trabajo de investigación se realizó en tres Asociaciones de Criadores Agropecuarios (Asociación la Luz Illpa de Moro, Asociación Arolac los Andes, APA Leche de Moro.) pertenecientes al centro poblado de Santa Barbara de Moro del distrito de Paucarcolla, provincia de Puno, región Puno; ubicado a 12.5 Km de la ciudad de Puno, con coordenadas geográficas situadas entre 15°44'46'' latitud sur y 70°03'20'' latitud oeste, Paucarcolla tiene una población de 5.203 habitantes y su superficie total de 170,4 km² (INEI, 2017). Este distrito se encuentra situado en la zona norte de la capital del departamento de Puno y en la parte sur del territorio peruano. Su capital Paucarcolla se halla a una altitud de 3847 msnm. (SENAMHI 2015).

Las muestras de suero sanguíneo fueron 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 a 3970 msnm., en el distrito de Umachiri provincia de Melgar del departamento de Puno.

3.2. Material Biológico De Estudio

A) De los animales.

Los animales que fueron considerados para la realización de este trabajo de investigación corresponden a tres Asociaciones de Criadores Agropecuarios (Asociación la luz Illpa de Moro, Asociación Arolac los Andes, APA leche de Moro.) pertenecientes al centro poblado de Santa Barbara de Moro del distrito de Paucarcolla; los criterios de inclusión fueron:

- Vacunos de la raza Brown Swiss.
- Sexo (machos y hembras).

- Edad (menores a 2 años y mayores a 2 años).
- Preñadas en lactación y seca.
- Vacías en lactación y seca.
- Niveles de producción mayor a 13 kg de leche/día/vaca.

Así mismo se consideraron criterios de exclusión como:

- Vacuno de otras razas.
- Asociaciones menos representativas en cuanto a la crianza de ganado vacuno Brown Swiss.
- Vacunos con niveles de producción menores a 13 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 la realización de esta investigación pertenecieron a las tres asociaciones de criadores agropecuarios del centro poblado de Santa Bárbara de Moro debido a que las muestras más representativas en crianza de ganado vacuno de la raza Brown Swiss del distrito de Paucarcolla se encuentra en dicho centro poblado; así mismo esta localidad posee la mayor población de ganado vacuno propio de esta raza y con un nivel de producción de leche mayor a 13 kg de leche/día/vaca. (Según reporte de la oficina de Desarrollo Agropecuario de la Municipalidad distrital de Paucarcolla, 2016). Asimismo, se trabajó con 18 socios de las tres asociaciones, donde se seleccionaron un total de 84 vacunos.

Tabla 1. Distribución de animales según: sexo, edad, y estado reproductivo

Sexo	Machos		Hembras				
Edad	Menor (<) de 2 años	Mayor (>) de 2 años	Menor (<) de 2 Años	Mayor (> de 2 Años			
Estado reproductivo			Vacías en lactación	Vacías en seca	Preñadas en lactación	Preñadas en seca	
Número de animales	10	10	10	10	11	17	16
SUB TOTAL	20		64				
TOTAL	84						

3.3. Metodología

3.3.1. Procedimiento de la toma de muestras sanguíneas

- Las muestras se recolectaron con previa coordinación con los criadores de las asociaciones comprendidas en este trabajo.
- Se realizó la inmovilización del animal y posterior hemostasia.
- Mediante la palpación se procedió a ubicar el canal de la vena yugular.
- Ya ubicando la vena se realizó el procedimiento de la asepsia usando alcohol yodado al 7 %.
- Posteriormente se introdujo la aguja en un ángulo de 45° con orientación craneal hasta alcanzar la luz de la vena yugular.
- Se obtuvo 7.0 mL de sangre en tubos al vacío sin anticoagulante (vacutainer con una capacidad de 10 mL).
- En seguida los tubos fueron rotulados y colocados en posición inclinada a temperatura ambiental durante 15 minutos con la finalidad de favorecer la formación del coágulo. posteriormente se realizó el centrifugado a 3500 rpm por 5 min.

- Finalmente se aislaron 02 mL de suero sanguíneo en viales debidamente rotulados según a la identificación de cada animal muestreado y se mantuvieron en congelación a -20°C , hasta el momento del trabajo en el laboratorio de Salud Animal de la FMVZ con sede en el CIP Chuquibambilla.

ELISA.

3.3.2. Fundamento.

El Kit de ELISA IDEXX Leukosis Serum X2, proporciona un método rápido, simple, sensible y específico para detectar anticuerpos frente al virus de la Leucosis Viral Bovina (LVB) en muestras individuales de suero.

3.3.3. Principio del Kit ELISA.

Las placas de micro titulación se suministraron tapizadas con antígeno inactivado. Las diluciones de las muestras fueron procesadas e incubadas en los pocillos. Cualquier anticuerpo específico frente a LVB 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 eliminó de los pocillos mediante lavado. A continuación, se añadió un conjugado formado por una IgG anti-rumiante marcada con la enzima peroxidasa, susceptible de 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 añadió un substrato Tetrametil - Bencidina 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 obtuvo comparando la densidad óptica de las muestras con la densidad óptica del control promedio positivo y negativo.

REACTIVOS

- Placa tapizada con antígeno BLV	10
- Control Positivo	1 * 1,5mL.
- Control negativo	1 * 1,5mL.
- Conjugado	1 * 110 mL.
- Diluyente de la muestra	1 * 110 mL.
- Substrato TMB n° 12	1 * 110 mL.
- Solución de frenado n° 3	1 * 100 mL.
- Solución de lavado concentrada (10X)	1 * 480 mL.

3.3.4. Modo de prueba

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.

3.3.5. 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.

3.3.6. Modos de pruebas.

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

3.3.7. Modo absorbancia.

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

3.3.8. 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.

3.3.9. 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%.

3.4. Prueba Kit ELISA

3.4.1. Medidas de seguridad.

- Se usó guantes de protección / prendas de protección / gafas o protección de la cara al manipular muestras y reactivos.
- Se Consideró todo material biológico como potencialmente infeccioso cuando se manipulo.
- También se priorizo seguir la ficha de datos de seguridad la utilización de materiales.
- Se tomó en cuenta medidas de prevención al usar los reactivos.
- Los resultados óptimos se obtuvieron siguiendo estrictamente el protocolo. El pipeteo cuidadoso, la coordinación y el lavado durante todo este procedimiento fueron necesarios para mantener la precisión y exactitud. Se utilizó una punta (tips) de pipeta diferente para cada muestra y control.

- No se expuso las soluciones TMB a la luz fuerte o a cualquier agente oxidante.
Se manejó el substrato TMB con material de cristal limpio y material plástico.
- Todos los desechos fueron descontaminados adecuadamente antes de ser eliminados. Posteriormente fueron desechados el contenido de conformidad con las normas locales, regionales y nacionales.
- Se tomaron en cuenta al extremo la precaución para evitar la contaminación de los componentes del kit.

3.4.2. Preparación de Solución de Lavado.

La solución de lavado concentrada (10X) se dejó a que adquiriera 18 – 26 °C y posteriormente fue agitado para asegurar la disolución de las posibles sales precipitadas. La solución de lavado concentrada (10X) fue diluido 1:10 con agua destilada / desionizada antes de emplearla. Fueron preparadas en condiciones estériles.

3.4.3. Procedimientos de la Prueba de ELISA.

1. Se obtuvo la placa tapizada con antígeno y se anotó la posición de la muestra que en este caso fueron 84 muestras.
2. En seguida se dispersó 90 µl de diluyente de muestra en cada pocillo.
3. Luego se adiciono 10 µl de control positivo (CP) NO DILUIDO en pocillos duplicados.
4. Así mismo se adiciono 10 µl de control negativo (CN) NO DILUIDO en pocillos duplicados.
5. Luego se dispenseo 10 µl de muestra NO DILUIDA en los pocillos asignados para las 84 muestras.

6. También se mezcló el contenido de los pocillos golpeados levemente la placa o usando un agitador de placas.
7. Se cubrió la placa y fue incubado por 60 ± 5 min a $+37^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}$ las placas estuvieron selladas herméticamente y donde se incubo en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar la evaporación.
8. Se eliminó el contenido liquido de cada pocillo y se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 μl de solución de lavado por 3 veces. Se evitó que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después de lavado final, se eliminó el fluido de lavado residual de la placa golpeándola sobre papel absorbente.
9. Se dispersó 100 μl conjugado en cada pocillo.
10. Se cubrió la placa y fue incubado durante 60 min ± 5 min a $+37^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Las placas fueron selladas herméticamente y se incubo en una cámara húmeda usando las cubiertas de placa para evitar evaporación.
11. Se Repitió el procedimiento 8.
12. En seguida se dispersó 100 μl de sustrato TMB n.º12 en cada pocillo.
13. Se Incubo 18-26 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos ± 1 min.
14. tuvo que dispersar 100 μl de solución de frenado en cada pocillo.
15. Finalmente se realizó la lectura de los resultados en el lector de ELISA a una longitud de onda de 450 nm. **(IDEXX, 2010)**.

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

3.5.1. Resultados del examen de Elisa.

Criterios de Validación

Los valores de control deben clasificarse dentro de los siguientes límites

$$CNx \leq 0,500 \quad CPx \leq 2,000 \quad CPx - CNx \geq 0,300$$

Controles

$$CNx = \frac{CN1A(450) + CN2A(450)}{2} \quad CPx = \frac{CP1A(450) + CP2A(450)}{2}$$

Dónde:

CN = Control Negativo.

CP = Control Positivo.

450nm = longitud de onda.

Dónde:

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

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

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

0.204 = Resultado del segundo control negativo a la prueba de ELISA

Interpretación de los resultados.

Muestras

$$M/P\% = 100 \times \frac{Muestra A(450) - CNx}{CPx - CNx}$$

negativo : $M/P\% < 30$ **dudoso** : $30 \leq M/P\% < 40$ **positivo** : $M/P\% \geq 40$

Fuente: Kit para la detección de anticuerpos frente al Virus de la Leucosis

Bovina (LVB).

Cálculo de prevalencia.

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

$$Prevalencia (\%) = \frac{\text{Número de animales positivos a la LVB en un periodo de tiempo determinado}}{\text{Número total de animales en riesgo}} \times 100$$

Los datos cuantitativos discretas de la variable estudiada se presenta en tablas y se interpretó mediante porcentaje (anexos).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina.

Tabla 2. Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en tres Asociaciones de Criadores Agropecuarios pertenecientes al centro poblado de Santa Bárbara de Moro del distrito Paucarcolla – Puno.

Variable	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Toretas (< 2 años)	10	0	0.0
Toros (> 2 años)	10	0	0.0
Vaquillonas (<2 años)	10	0	0.0
Vacas (P/P y > 2 años)	17	0	0.0
Vacas (P/S y > 2 años)	16	0	0.0
Vacas (V/P y > 2 años)	10	0	0.0
Vacas (V/S y > 2 años)	11	0	0.0
TOTAL	84	00	0.0

En la tabla 2. Se observa la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina de las 84 muestras en las tres asociaciones de Criadores agropecuarios del localizados en el centro poblado de Santa Barbara de Moro del Distrito de Paucarcolla no se encontró anticuerpos frente al agente patógeno 0.0% (0/84). Los 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 (ausencia de vectores), área geográfica y principalmente la altitud ya que esta se encuentra a 3847 msnm. Donde (**Pulgar, J.1967**), indica que el lugar de estudio por pertenecer a la región Suni de clima frio-seco con variaciones estacionales que varía desde los 3,820m. hasta los 6,000m. La temperatura generalmente varia de -5 a 18°C, con una humedad relativa de 24% y presión atmosférica de 1030hPa (**SENAMHI. 2015**). al respecto **Johnson y Kaneene (1991)**, refiere que la

LVB es una enfermedad viral de distribución mundial que afecta principalmente a la especie bos Taurus, además los animales infectados con LVB permanecen clínicamente normales; a su vez **Giraud y col., (2010)**, indica que los países de América probablemente la han adquirido a través de importaciones para mejorar los rebaños de los mismos. Ampliamente distribuida en América latina y en la argentina las mayores prevalencias corresponden a establos lecheros

Es por tal motivo que se hace necesario realizar el descarte contra LVB ya que el lugar de estudio es una de las zonas ganaderas con buen porcentaje de producción de leche, carne y subproductos provenientes de la especie donde a su vez las condiciones de manejo en cuanto las instalaciones, alimentación, reproducción, sanidad, genética y medio ambiente se consideran como puntos críticos en la presencia de esta enfermedad donde a su vez genera gastos considerables durante en proceso productivo. Consecuentemente la presencia de la enfermedad Leucosis Viral Bovina en la zona generaría pérdidas económicas considerables en Criador Agropecuario y un impacto en la Salud Publica.

Los resultados de la presente investigación son semejantes al estudio realizado por **Quispe (2018)** quien reporto que ningún animal presentaba esta enfermedad en el distrito de Pomata Región Puno; sin embargo difiere con el estudio de **Barrera, (2010)** quien reporta de 110 sueros sanguíneos de vacunos analizados, 22 dieron positivos, lo que representa una prevalencia de $20 \pm 0,05 \%$, esto en el Valle Viejo del distrito de Moquegua, esta diferencia probablemente se deba al factor de la altitud ya que en el distrito de Paucarcolla y Pomata de la región Puno no existen vectores que puedan transmitir la enfermedad esto debido a la altitud en la que se encuentran ambas localidades donde debido a las condiciones medio ambientales no existe la presencia de los vectores para que ocurra una transmisión horizontal .

También existen otros trabajos que se difieren con los resultados del presente estudio tales como **Romero, (2008)** obtiene resultados de un total de 149 bovinos muestreados, 34 resultaron seropositivos con una Seroprevalencia de 22,81 %; **Modena, (2005)** quien 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 $12.06 \pm 4.4\%$; **Quequesana, (2016)** De un total de 94 muestras provenientes de animales con apariencia clínica normal, 62 vacunos resultaron seropositivos a anticuerpos contra el VLB (Virus de la Leucosis Bovina) mediante la prueba de ELISA indirecta, lo que representa el 65.96% (62/94) de seroprevalencia de anticuerpos contra este virus en vacunos de la raza *Holstein* en la cuenca lechera del distrito de Moquegua asimismo **Betancur y Rodas. (2008)** encontró que, de las 163 muestras examinadas, se detectaron 35 animales positivos a la LVB (21%). Los resultados de seroprevalencia encontrados por los citados autores son debido a que trabajaron con animales en regiones diferentes a las condiciones del altiplano donde se llevó a cabo el presente estudio, en donde existe climas favorables para la difusión del virus, sin embargo, en el distrito de Paucarcolla, región Puno, no ofrece temperatura y humedad favorables para su transmisión a través de vectores, como indica **Peizer. (1997)** 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, en consecuencia, el virus de Leucosis Viral Bovina es posiblemente transmitido por vectores como son los tábanos o moscas del caballo (*Tabanus fuscicostatus*), mosquitos (*Anopheles sp*), moscas de establos (*Stomoxis calcitrans*), moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*) y garrapatas comunes (*Boophilus microphilus e Ixodes sp*). A su vez **Johnson y Kaneene, (1991)** menciona para que exista una efectiva transmisión es necesaria una alta densidad de los

vacunos, cantidad necesaria de sangre retenida en las partes bucales luego de alimentarse, los hábitos de alimentación del vector, de la infectividad del vacuno donador y la susceptibilidad de los receptores.

4.2. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina, según sexo.

En la tabla 3, se evidencia que, los resultados de Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina fue de 0.0% en vacunos machos (0/20) y hembras (0/64). Resultados similares obtuvo **Quispe, (2018)** donde de 11 machos y 76 hembras muestreadas evidenciaron 0.0 % de seroprevalencia sin embargo **Romero, (2008)** en el estudio que realizo sobre **Seroprevalencia** de Leucosis Viral Bovina según Sexo en el Valle de Sama De un total de 149 bovinos. En machos se encontraron resultados similares de un total de 4, no presentaron anticuerpos contra la leucosis viral bovina, lo que constituye un 0,00 % y en hembras se difiere porque de un total de 145 bovinos, 34 fueron positivos con un 22,81 % de seroprevalencia; La seroprevalencia de leucosis viral bovina según sexo. En el distrito de Inclán; de un total de 80 bovinos muestreados, en machos existe similitud de un total de 3 animales muestreados, no presentaron anticuerpos contra la leucosis viral bovina, lo que constituye un 0,00 % y en hembras el resultado es opuesto presentando de un total de 77 bovinos, 21 fueron positivos con un 14,09 % de seroprevalencia. Por lo tanto, el sexo no podría considerarse como un factor de riesgo, a la mayor o menor presentación de la Leucosis Bovina; sin embargo, según **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. Porque las condiciones de manejo y el tiempo que permanecen y viven los animales en los diferentes sistemas de producción, permiten observar mayor incidencia de ejemplares hembras con la infección.

4.3. Seroprevalencia De La Leucosis Viral Bovina, Según Factor Edad

Los resultados de Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina que fue de 0.0% en animales menores de 2 años (0/20) y mayores de 2 años (0/64). Dichos resultados del trabajo guardan similitud con la investigación realizada por **Quispe, (2018)** donde se determinó la seroprevalencia de la leucosis viral bovina en el distrito de Pomata según edad menores de 2 años (0/29) y mayores de 2 años (0/58) fueron negativos en un 0.0% de seroprevalencia; sin embargo difiere con los trabajos realizados por **Barreda, (2010)** quien 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; para los animales de 1 a 2 años se analizaron 19 sueros sanguíneos, 4 indicaron seropositividad a LVB, equivalente a $3,64 \pm 0,04 \%$ de prevalencia, y para animales mayores de 2 años se analizaron 66 sueros sanguíneos, resultaron 17 de ellos seropositivos representando una prevalencia de $15,45 \pm 0,01 \%$ de LVB, así mismo **Quequesana, (2016)** quien reporta para vacunos del valle de Moquegua, donde los animales menores de 2 años tuvieron 37.03 % y mayores de 2 años 77.61 % y **Modena, (2005)** registra la Seroprevalencia de Leucosis Bovina en función a la edad de los animales, en la provincia de Leoncio Prado, donde, la Seroprevalencia de Leucosis fue en alto porcentaje 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 reactivos a la prueba, animales de 1 a 4 años de edad.

El presente estudio evidencia que la edad no determina la influencia de la edad frente a la presencia del virus de la leucosis bovina; sin embargo, los antecedentes del presente estudio demuestran que los animales mayores de 2 años tienen mayor seroprevalencia, posiblemente por el tiempo de incubación del virus, desde el momento que ellos han adquirido la enfermedad, dicho acontecimiento es corroborado por **Mariño, (2003)** quien

indica que la LVB es una enfermedad que es difícil de identificar clínicamente debido a que su período de incubación es prolongado, los signos se aprecian mayoritariamente después de los 2 años de edad y el periodo de mayor frecuencia es en general entre los 3 a 8 años, además solo una baja proporción de animales desarrollan tumores (0,1 – 5 %)

4.4. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina, Según Estado Reproductivo

Los resultados de Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina según: estado reproductivo en toretes (0/10), toros (0/10), vaquillas (0/10), hembras vacías en lactación (0/10), vacías en seca (0/11) y preñadas en lactación (0/17) , preñadas en seca (0/16) fue de 0.0% se asemejan al estudio realizado por Quispe (2018) donde sus resultados muestran según estado reproductivo, para preñadas (0/31) y vacías (0/27) demostrando 0.0% de seroprevalencia; sin embargo difieren con las investigaciones realizadas por **Barrera, (2010)** quien reporta de 67 muestras analizadas a hembras mayores de 2 años y las prevalencias encontradas en hembras vacías y preñadas son $8,96 \pm 0,03\%$ y $16,42 \pm 0,02\%$ respectivamente. También observo que hay mayor prevalencia de LVB en hembras preñadas con un $16,42 \pm 0,02\%$ y en vacías $8,96 \pm 0,03\%$. 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 $17,95 \pm 0,03\%$ y 11 fueron por monta natural (MN), siendo 4 positivas, lo que representa una prevalencia del $10,26 \pm 0,02\%$, **Quequesana (2016)** en el Valle de Moquegua registra la seropositividad en vacas gestantes de 78.78% y en vacas no gestantes 75.00%.

Al no determinar animales positivos en el presente trabajo, se evidencia que los vacunos del distrito de Paucarcolla no son portadores del virus de la leucosis viral bovina, sin embargo, existe un factor de riesgo debido que durante en manejo reproductivo que se emplea técnicas reproductivas como la inseminación artificial la cual se realiza con deficiencias en cuanto a sus procedimientos y el empleo de pajillas de dudosa procedencia

por parte de los técnicos. Por qué según. **Gómez, (2008)** solo basta el contacto con la milésima parte del volumen de una gota de sangre proveniente de un bovino infectado para continuar con la transmisión de la enfermedad. Además, **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

Asimismo , el virus de leucosis bovina a su vez es transmitido por vectores como son los tábanos o moscas del caballo (*Tabanus fuscicostatus*), mosquitos (*Anopheles sp*), moscas de establos (*Stomoxis calcitrans*), moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*) y garrapatas comunes (*Boophilus microphilus* e *Ixodes sp*), siendo su habitat generalmente en sitios soleados y húmedos, regular o estacionalmente inundados de agua dulce, dado que necesitan suelos empapados para el desarrollo de sus huevos, larvas y pupas. Son muy abundantes durante el verano, especialmente en días calurosos y soleados los cuales en nuestro ámbito de estudio no existen dichas condiciones medio ambientales cuyo factor impide la presencia de dichos vectores y por lo tanto la presencia o diseminación de la enfermedad (**Villacide y Masciocchi, 2012**).

V. CONCLUSIONES

El resultado a la prueba seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina de los 84 vacunos de la raza Brown Swiss machos y hembras, mayores y menores de dos años en sus diferentes estados reproductivos y productivos pertenecientes a las tres Asociaciones de Criadores Agropecuarios (Asociación la Luz de Illpa de Moro, Asociación Arolac los Andes, APA Leche de Moro.) del centro poblado de Santa Barbara de Moro del distrito de Paucarcolla, provincia de Puno se encuentran libres del agente viral de la Leucosis Viral Bovina por lo tanto a la prueba de ELISA el resultado fue de 0.0 %.

VI. RECOMENDACIONES

En las asociaciones de criadores agropecuarios del distrito de Paucarcolla deben realizar como acción indispensable la cuarentena e implementar programas de control y vigilancia epidemiológica.

Capacitar a los Criadores Agropecuarios sobre la enfermedad y puedan tomar acciones correctas para evitar la presentación de la enfermedad así mismo deben comprar o adquirir vacunos, pajillas y productos pecuarios de lugares que posean certificación por las instancias que correspondan.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrera Ancco, M. L. (2010).** Seroprevalencia de leucosis viral bovina (LVB) en el Valle viejo del Distrito de Moquegua. Tesis para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista en EAP MVZ. - Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann Tacna Facultad de Ciencias Agrícolas Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Bautista, R. N.; Nova, R. Y.; Pulido Medellín, M. O. y Andrade Becerra, R. J. (2013).** Determinación serológica de leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas de la vereda Morichal, Yopal, Casanare. Ciencia y Agricultura Vol. 10 N° 1. Enero – Junio. P. 31 – 37.
- Betancur, C. y Rodas, J. (2008).** Seroprevalencia del virus de la leucosis viral bovina en animales con trastornos reproductivos de montería. Rev. MVZ Córdoba. 13(1): 1197-1204.
- Blood, D.C.; Radostis, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.G.; Hinchcliff, K.W. (1992).** Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 7ma edición, editorial interamericana Me Graw-Hill, México, 1587 pp.
- Blowey, W. R., y Wearver, D. A. (2004).** Atlas a color de enfermedades y transmisión del Ganado vacuno. (2da ed.). España: Elsevier.
- 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.
- 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.; Manzini, V. (2001).** Leucosis enzootia bovina: evolución de la infección en hembras Holando Argentino. 24° Congreso Argentino de Producción Animal. Rafaela. 55
- Chamizo Pesta, E.G. (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 Pestana, E.G. (2005).** Leucosis Bovina Enzoótica – Revisión. Revista Electrónica Veterinaria. P. 1 – 25.
- Cultek (2006).** Fundamentos y Tipos de ELISAs. Protocolo y Técnicas. <http://www.cultek.com/link/link.asp?link=/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-Protocolos>
- Cuesta, M. (2009).** Introducción al muestreo. Universidad de Ovideo.
- Dequiedt, F.; Hanon, E.; Kerkhofs, P.; Pastoret, P.P.; Portetelle, D.; Burny, A.; Kettmann, R.; Willems, L. (1997).** Both wild-type and strongly attenuated bovine leukemia viruses protect peripheral blood mononuclear cells from apoptosis. J Virol. 71 p. 630-9.
- Diaz, T. (2007).** Leucosis Bovina Enzoótica (Linfosarcoma Bovino). Producir XXI, Bs. As., 15(184): 36-38.
- Dirksen G., D. H., Grunder, y M., Stober. (2005).** Medicina interna y cirugía del bovino. (4ta ed.). Argentina: Inter – Medica.
- Evermann, J. (1992).** Understanding BLV infection. How far we have come in a decade. Vet Med 87: 246.
- Erskine, R., P. Bartlett, T. Byrem, C. Render, C. Febvay, J. Houseman. (2011).** Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. J. Dairy. Sci. 95:727-734.
- Ferrer, J.F.; Marshak, R.R.; Abt, D.A.; Kenyon, S.J. (1998).** Persistent Lymphocytosis in Cattle: its cause, Nature and Relation to Lymphosarcoma. Ann RechVet. 9(4):851-7
- Flores Albino Alicia (2000).** Seroprevalencia del virus de la Leucosis Viral Bovina en la cuenca lechera de Arequipa.
- Flores, A. y Rivera, H. (2000).** Seroprevalencia del virus de la Leucosis Viral Bovina en la cuenca lechera de Arequipa. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú., vol. 11 núm. 2: p. 144-148.UNMSM.
- Fulton, Jr.; B. E.; Portella, and K. Radke. (2006).** Dissemination of Bovine Leukemia Virus-infected cells from a newly infected sheep lymph node. Journal of Virology 80 (16):7873–7884.
- Gatti, M. (2007).** Enfermedad de gran importancia y limitante para la exportación de ganado en pie: Leucosis Bovina. la lechuza roja Revista de Dinámica Económica y Control. vol. 31, número 6, 2061-2084.

- Gillet, N.; Florins, A.; Boxus, M; Burteau, C.; Nigro, A.; Vandermeers, F.; Balon, H.; Bouzar, A.B.; Defoiche, J.; Burny, A.; Reichert, M.; Kettmann, R.; Willems, L. (2007).** Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel antiretroviral therapies in human. *Retrovirology*. 16:4-18.
- Giraud, J.; Bérghamo, E.; Schneider, M.; Magnano, G.; Macías, A.; Sticotii, E. y Macío, M. (2010).** Leucosis Enzoótica Bovina. Departamento de Patología Animal de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Gómez, R. (2008).** Enciclopedia bovina (1ra ed.). Universidad autónoma de México, México D. F.: interamericana Me Graw - Hill.
- González, E.T.; Oliva, G.A.; Valera, A.; Bonzo, E.; Licursi, M.; Etcheverrigaray, M.E. (2001).** Leucosis enzoótica bovina: evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, ELISA-i, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente. *Analecta Veterinaria* 21(2): 12-20.
- Hamilton, V.T.; Stone, D.M.; 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).** Diagnóstico serológico de infección a virus de la leucemia bovina VLB. IVITA: 30 años de ciencia y tecnología pecuaria peruana, Martegraf E.I.R.L. Lima. 436 pp.
- IDEXX. (2010).** Elisa de detección de los anticuerpos del virus de la leucosis viral bovina. Westbrook Maine 04092 USA.
- INEI. (2017).** Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 525p.
- Johnson, R. and Kaneene, J.B. (1991).** Bovine leukemia virus. Part 1. descriptive epidemiology. Clinical manifestations and diagnostic test. *Continuing education* 12(13) 2:315-327.
- Kahrs R. (1994).** Enfermedades víricas del ganado vacuno. Zaragoza-España: Acribia, 1994. ISBN 84-200-0560-6.
- Kettmann, R.; Deschamps, J.; Cleuter, Y.; Couez, D.; Burny, A. y Marbaix, G. (1982).** Leukemogenesis by bovine leukemia virus: Proviral DNA integration and lack of RNA expression of viral long terminal repeat and 3'proximate cellular sequences. *Proc. NatL. Acad. Sci. USA* 79:2465-2469.

- Mamani S. (2008).** Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en el Valle de Sama-Tacna, 78 pp.
- Mariño B. (2003).** Prevalencia de tambos infectados con el virus de la leucosis bovina (LBV) mediante determinación de anticuerpos en leche por el ELISA. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: irmad@censa.edu.cu
- MINAGRI, (2017).** Producción Agrícola Ganadera I Trimestre, Ministerio de Agricultura.
- Modena López, E. (2005).** Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en la provincia de Leoncio Prado. Tingo Maria. Facultad de Zootecnia.
- Peizer K.D., (1997).** Economics of bovine leukemia virus infection. Veterinary clinics of North America: food animal practice 13 (1): 129-141
- Pestana E. (1995).** Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos. California: UABC, 1995.
- Pulgar Vidal, Javier. (1967).** Geografía del Perú: Las ocho regiones naturales. Editorial Asonia. Lima.
- Quequesana Manchego, 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.
- Quinn, P.; Markey, B.; Carter, M.; Donnelly, W.; y Leonard, F. (2005).** Microbiología y Enfermedades Infecciosas Veterinarias. Zaragoza, España: editorial Acribia S.A.
- Radostis, O. y Otros. (2002).** Leucosis bovina enzoótica, medicina veterinaria tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. España: Acribia.
- Resoagli, J. P., Jacobo, R. A., Storani, C. A., Cipolini, M. F., Stamatti, G. M., Deco, M., Alfonso, D. (2005).** Seroprevalencia de la leucosis enzoótica bovina en rodeos lecheros de la región noroeste de la Provincia de Corrientes, Argentina. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE.
- Rojas, R. (2007).** Bovinos Manejo y Crianza. Primera Edición. Editorial Universitaria. Puno Perú. 374p.
- 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.

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.

SARVE/SENASA. (2011). Boletín estadístico. Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica, del Servicio Nacional de Sanidad Agraria.

Schawartz, I.; Bensaid, A.; Polack, B.; Perrin, B.; Berthelemy M. and Levy, D. (1994). In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle. Journal of Virology. July 1994. p. 4589-4596.

SENAMHI. (2015). Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú.

Tizard O. (1995). Inmunología veterinaria. 5 ed. México, McGrawHillInteramericana. 242 p.242 p.

Thursfield, M. (1990). Epidemiologia Veterinaria. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza-España. P. 223-230.

Vascones, H. A; Sandoval, V. P.; Puga, T. B. y De La Cueva, J.F. (2017) Seroprevalencia de leucosis enzootica bovina en animales entre 0 a 24 meses en las provincias de Manabí, Pichincha y Chimborazo – Ecuador. Artículo científico/ Scientific paper. Ciencias Agropecuarias.

Villacide, J. y Masciocchi, M. (2012). Serie de divulgación sobre insector de importancia ecológica, económica y sanitaria. Cuadernillo N° 6.

ANEXOS

1

CUADRO N° 1 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

1. Materiales para la obtención de muestra
<ul style="list-style-type: none"> ○ Alcohol yodado al 3 % ○ Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL ○ Tubos vacutainer de 10 MI ○ Algodón ○ Agujas vacutainer N°20G x 1 pulgadas ○ Marcador indeleble ○ Guantes de exploración ○ Pipetas automáticas o manuales ○ Cajas térmicas (Tecnopor) ○ Plástico y papel ○ Gel ○ Gradillas
2. Materiales para la prueba de ELISA
<ul style="list-style-type: none"> ○ Punta de pipetas desechables ○ Desechables Micropipetas de precisión y micro pipetas de multidispensadores ○ Probetas graduadas para la solución de lavado. ○ Agua destilada ○ Lavador de placas, manual semiautomática o automática ○ Vortex o equivalente ○ Bandejas para depósito de reactivos ○ Algodón ○ Cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo) ○ Cámara húmeda ○ Incubadora ○ Papel toalla ○ Lector de placas de 96 pocillos (equipo con filtro de 450nm)
3. Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> ○ Reactivos volumen ○ Placa tapizada con antígeno BLV ○ Control positivo 1x1,5 mL ○ Control negativo 1x1,5 mL ○ Conjugado 1x110 mL ○ Diluyente de la muestra 1x110 mL ○ Substrato TMB n°12 1x100 mL ○ Solución de frenado n°3 1x100mL ○ Solución de lavado concentrada (10X) 1x480 mL
4. Otros Materiales
<ul style="list-style-type: none"> ○ Medios audiovisuales ○ Cámara fotográfica

- Jabón carbólico
- Formatos
- Mocheta
- Sogas

5. Equipos

- Estufa incubadora a 37 °C
- Balanza analítica
- Refrigeradora convencional
- Congeladora a -20°C
- Potenciómetro
- Cronometro de tiempo
- Lector de ELISA
- Vortex
- Micropipeta canal simple 20 a 200 µl
- Micropipeta canal simple 100 a 1000µl
- Micropipeta multicanal 50-300UI

CUADRO N° 2. FICHA DE MUESTREO SEGÚN SEXO, EDAD Y ESTADO REPRODUCTIVO.

N° DE PRODUCTOR	DATOS/ ASOCIACIÓN	N° MUESTRA	ESTADO	SEXO	NOMBRE
1	ANTONIA NAIRA VILCA/ASOCIACIÓN LA LUZ DE ILLPA DE MORO	1	MONTA DIRECTA	HEMBRA	LUCIA
		2	VACIA	HEMBRA	TALIA
		3	MONTA DIRECTA	HEMBRA	DAYANA
		4	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	ROSALINDA
		5	< 2 AÑOS	MACHO	GONZALO
		6	> 2 AÑOS	MACHO	ARON
		7	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	VIKY
		8	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LAURA
		9	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LUCY
2	ASONTINA ROQUE QUISPE/ ASOCIACIÓN LA LUZ DE ILLPA DE MORO	1	MONTA DIRECTA	HEMBRA	LASLY
		2	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MAMASA
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	NINA
		4	MONTA DIRECTA	HEMBRA	MARUJA
		5	MONTA DIRECTA	HEMBRA	NEGRA
3	LOLA FELICITAS LOPEZ ROQUE/ ASOCIACIÓN LA LUZ DE ILLPA DE MORO	1	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	ROSA
		2	MONTA DIRECTA	HEMBRA	MARIA
		3	< 2 AÑOS	MACHO	PEPE
4	DELIA LOPEZ ROQUE/ ASOCIACIÓN LA LUZ DE ILLPA DE MORO	1	VACIAS < 2 AÑOS	HEMBRA	JUANA
		2	VACIAS < 2 AÑOS	HEMBRA	BLANCA
5	GABRIEL CHOQUE NUÑES/ ASOCIACIÓN LA LUZ DE ILLPA DE MORO	1	< 2 AÑOS	MACHO	LALO
6	PEDRO PABLO CHOQUE VILCA/ ASOCIACIÓN LA LUZ DE ILLPA DE MORO	1	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	PATY
		2	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	MARIA
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	NANCY
		4	< 2 AÑOS	MACHO	ROKY
7	ANDRES LOPEZ QUISPE/ ASOCIACIÓN APROLAC LOS ANDES	1	> 2 AÑOS	MACHO	CHICO
		2	MONTA DIRECTA	HEMBRA	CALETANA
		3	> 2 AÑOS	MACHO	ZEUS
8	FELICITAS NAIRA VILCA/ ASOCIACIÓN APROLAC LOS ANDES	1	> 2 AÑOS	MACHO	SOLEM
		2	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	AMARILLA
		3	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	NORCA
		4	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	QUINTINA
9	JOSE NAIRA VILCA/ ASOCIACIÓN APROLAC LOS ANDES	1	< 2 AÑOS	MACHO	YUMPIO
		2	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	YANDI
		3	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	PALOMA
10	MARIA PAREDES NEIRA/ ASOCIACIÓN APROLAC LOS ANDES	1	<2 AÑOS	MACHO	ARNALDO
		2	> 2 AÑOS	MACHO	CHAVO
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	ASLY
		4	MONTA DIRECTA	HEMBRA	CANDY
		5	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MARIA
		6	> 2 AÑOS	MACHO	PATRIX
		7	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	CACHUCA
		8	> 2 AÑOS	MACHO	PEPE
		9	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	FABIANA
11	JOSEFINA GONZALES PAREDES/ ASOCIACIÓN APROLAC LOS ANDES	1	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	MARIA
		2	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	GUERRI
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	CHERRY
		4	MONTA DIRECTA	HEMBRA	BLANCA
		5	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	BETTY
12	VALERIA YUCRA COILA/ ASOCIACIÓN	1	< 2 AÑOS	MACHO	MANZO
		2	MONTA DIRECTA	HEMBRA	BARBARA

	APROLAC LOS ANDES	3	< 2 AÑOS	MACHO	KIOTO
		4	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	GISELA
		5	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	FLAQUITA
		6	< 2 AÑOS	MACHO	JULIO
		7	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	LUNA
		8	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	CARLITA
		9	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	FERNANDA
		10	< 2 AÑOS	MACHO	BRAYAN
13	FRESIA FELICITAS PARI FLORES/APA LECHE DE MORO	1	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MORONA
		2	MONTA DIRECTA	HEMBRA	ESTRELLA
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LESLY
		4	> 2 AÑOS	MACHO	DANTE
		5	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	YOVANA
14	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA/APA LECHE DE MORO	1	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	PATRICIA
		2	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MARIA
		3	MONTA DIRECTA	HEMBRA	YAREN
		4	> 2 AÑOS	MACHO	SHERIL
		5	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	YERSY
		6	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	MIRLA
		7	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	LUNA
15	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA/APA LECHE DE MORO	1	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	BISEL
		2	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	ROMINA
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LEGACY
16	MARIA YUCRA COILA/ APA LECHE DE MORO	1	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	RITA
		2	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	PRINCESA
		3	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MARIA
17	CLAUDIA ELISABETH VILCA SANDOVAL/APA LECHE DE MORO	1	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	RENATA
		2	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MATILDE
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LITA
		4	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	ROSA
18	LEONARDO TICONA CHAMBILLA/ APA LECHE DE MORO	1	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	VILMA
		2	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LICHI
		3	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	KATY
		4	> 2 AÑOS	MACHO	PAOLO

CUADRO N°3. RESULTADOS DE LA SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB) EN VACUNOS BROWN SWISS EN LAS ASOCIACIONES DE CRIADORES AGROPECUARIOS DEL DISTRITO DE PAUCARCOLLA.

N°	PRODUCTOR	MUESTRA	ESTADO	SEXO	NOMBRE	DO	VALOR M/P	RESULTADO
1	ANTONIA NAIRA VILCA	1	MONTA DIRECTA	HEMBRA	LUCIA	0.193	-2.28	NEGATIVO
2	ANTONIA NAIRA VILCA	2	VACIA	HEMBRA	TALIA	0.211	-0.18	NEGATIVO
3	ANTONIA NAIRA VILCA	3	MONTA DIRECTA	HEMBRA	DAYANA	0.206	-0.76	NEGATIVO
4	ANTONIA NAIRA VILCA	4	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	ROSALINDA	0.199	-1.58	NEGATIVO
5	ANTONIA NAIRA VILCA	5	< 2 AÑOS	MACHO	GONZALO	0.223	1.23	NEGATIVO
6	ANTONIA NAIRA VILCA	6	> 2 AÑOS	MACHO	ARON	0.225	1.46	NEGATIVO
7	ANTONIA NAIRA VILCA	7	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	VIKY	0.222	1.11	NEGATIVO
8	ANTONIA NAIRA VILCA	8	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LAURA	0.214	0.18	NEGATIVO
9	ANTONIA NAIRA VILCA	9	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LUCY	0.220	0.88	NEGATIVO
10	ASONTINA ROQUE QUISPE	10	MONTA DIRECTA	HEMBRA	LASLY	0.194	-2.17	NEGATIVO
11	ASONTINA ROQUE QUISPE	11	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MAMASA	0.206	-0.76	NEGATIVO
12	ASONTINA ROQUE QUISPE	12	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	NINA	0.207	-0.64	NEGATIVO
13	ASONTINA ROQUE QUISPE	13	MONTA DIRECTA	HEMBRA	MARUJA	0.265	6.15	NEGATIVO
14	ASONTINA ROQUE QUISPE	14	MONTA DIRECTA	HEMBRA	NEGRA	0.224	1.35	NEGATIVO
15	LOLA FELICITAS LOPEZ ROQUE	15	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	ROSA	0.240	3.22	NEGATIVO
16	LOLA FELICITAS LOPEZ ROQUE	16	MONTA DIRECTA	HEMBRA	MARIA	0.233	2.40	NEGATIVO
17	LOLA FELICITAS LOPEZ ROQUE	17	< 2 AÑOS	MACHO	PEPE	0.218	0.64	NEGATIVO
18	DELIA LOPEZ ROQUE	18	VACIAS < 2 AÑOS	HEMBRA	JUANA	0.208	-0.53	NEGATIVO
19	DELIA LOPEZ ROQUE	19	VACIAS < 2 AÑOS	HEMBRA	BLANCA	0.220	0.88	NEGATIVO
20	GABRIEL CHOQUE NUNES	20	< 2 AÑOS	MACHO	LALO	0.209	-0.41	NEGATIVO
21	PEDRO PABLO CHOQUE VILCA	21	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	PATY	0.243	3.57	NEGATIVO
22	PEDRO PABLO CHOQUE VILCA	22	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	MARIA	0.235	2.63	NEGATIVO
23	PEDRO PABLO CHOQUE VILCA	23	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	NANCY	0.228	1.81	NEGATIVO
24	PEDRO PABLO CHOQUE VILCA	24	< 2 AÑOS	MACHO	ROKY	0.261	5.68	NEGATIVO
25	ANDRES LOPEZ QUISPE	25	> 2 AÑOS	MACHO	CHICO	0.208	-0.53	NEGATIVO
26	ANDRES LOPEZ QUISPE	26	MONTA DIRECTA	HEMBRA	CALLETANA	0.247	4.04	NEGATIVO
27	ANDRES LOPEZ QUISPE	27	> 2 AÑOS	MACHO	ZEUS	0.271	6.85	NEGATIVO
28	FELICITAS NAIRA VILCA	28	> 2 AÑOS	MACHO	SOLEM	0.235	2.63	NEGATIVO
29	FELICITAS NAIRA VILCA	29	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	AMARILLA	0.229	1.93	NEGATIVO
30	FELICITAS NAIRA VILCA	30	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	NORCA	0.244	3.69	NEGATIVO

31	FELICITAS NAIRA VILCA	31	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	QUINTINA	0.222	1.11	NEGATIVO
32	JOSE NAIRA VILCA	32	< 2 AÑOS	MACHO	YUMPIO	0.239	3.10	NEGATIVO
33	JOSE NAIRA VILCA	33	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	YANDI	0.220	0.88	NEGATIVO
34	JOSE NAIRA VILCA	34	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	PALOMA	0.247	4.04	NEGATIVO
35	MARIA PAREDES NEIRA	35	<2 AÑOS	MACHO	ARNALDO	0.257	5.21	NEGATIVO
36	MARIA PAREDES NEIRA	36	> 2 AÑOS	MACHO	CHAVO	0.212	-0.06	NEGATIVO
37	MARIA PAREDES NEIRA	37	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	ASLY	0.231	2.17	NEGATIVO
38	MARIA PAREDES NEIRA	38	MONTA DIRECTA	HEMBRA	CANDY	0.225	1.46	NEGATIVO
39	MARIA PAREDES NEIRA	39	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MARIA	0.238	2.99	NEGATIVO
40	MARIA PAREDES NEIRA	40	> 2 AÑOS	MACHO	PATRIX	0.226	1.58	NEGATIVO
41	MARIA PAREDES NEIRA	41	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	CACHUCA	0.209	-0.41	NEGATIVO
42	MARIA PAREDES NEIRA	42	> 2 AÑOS	MACHO	PEPE	0.228	1.81	NEGATIVO
43	MARIA PAREDES NEIRA	43	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	FABIANA	0.219	0.76	NEGATIVO
44	JOSEFINA GONZALES PAREDES	44	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	MARIA	0.213	0.06	NEGATIVO
45	JOSEFINA GONZALES PAREDES	45	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	GUERRI	0.250	4.39	NEGATIVO
46	JOSEFINA GONZALES PAREDES	46	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	CHERRY	0.231	2.17	NEGATIVO
47	JOSEFINA GONZALES PAREDES	47	MONTA DIRECTA	HEMBRA	BLANCA	0.245	3.81	NEGATIVO
48	JOSEFINA GONZALES PAREDES	48	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	BETTY	0.225	1.46	NEGATIVO
49	VALERIA YUCRA COILA	49	< 2 AÑOS	MACHO	MANZO	0.231	2.17	NEGATIVO
50	VALERIA YUCRA COILA	50	MONTA DIRECTA	HEMBRA	BARBARA	0.228	1.81	NEGATIVO
51	VALERIA YUCRA COILA	51	< 2 AÑOS	MACHO	KIOTO	0.216	0.41	NEGATIVO
52	VALERIA YUCRA COILA	52	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	GISELA	0.227	1.70	NEGATIVO
53	VALERIA YUCRA COILA	53	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	FLAQUITA	0.231	2.17	NEGATIVO
54	VALERIA YUCRA COILA	54	< 2 AÑOS	MACHO	JULIO	0.231	2.17	NEGATIVO
55	VALERIA YUCRA COILA	55	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	LUNA	0.237	2.87	NEGATIVO
56	VALERIA YUCRA COILA	56	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	CARLITA	0.228	1.81	NEGATIVO
57	VALERIA YUCRA COILA	57	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	FERNANDA	0.212	-0.06	NEGATIVO
58	VALERIA YUCRA COILA	58	< 2 AÑOS	MACHO	BRAYAN	0.240	3.22	NEGATIVO
59	FRESIA FELICITAS PARI FLORES	59	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MORONA	0.209	-0.41	NEGATIVO
60	FRESIA FELICITAS PARI FLORES	60	MONTA DIRECTA	HEMBRA	ESTRELLA	0.287	8.72	NEGATIVO
61	FRESIA FELICITAS PARI FLORES	61	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LESLY	0.228	1.81	NEGATIVO
62	FRESIA FELICITAS PARI FLORES	62	> 2 AÑOS	MACHO	DANTE	0.226	1.58	NEGATIVO
63	FRESIA FELICITAS PARI FLORES	63	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	YOVANA	0.224	1.35	NEGATIVO
64	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	64	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	PATRICIA	0.218	0.64	NEGATIVO
65	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	65	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MARIA	0.215	0.29	NEGATIVO

66	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	66	MONTA DIRECTA	HEMBRA	YAREN	0.220	0.88	NEGATIVO
67	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	67	> 2 AÑOS	MACHO	SHERIL	0.233	2.40	NEGATIVO
68	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	68	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	YERSY	0.216	0.41	NEGATIVO
69	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	69	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	MIRLA	0.234	2.52	NEGATIVO
70	SUSANA TICONA CHOQUEHUANCA	70	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	LUNA	0.289	8.96	NEGATIVO
71	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	71	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	BISEL	0.225	1.46	NEGATIVO
72	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	72	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	ROMINA	0.224	1.35	NEGATIVO
73	SIXTO TICONA CHOQUEHUANCA	73	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LEGACY	0.207	-0.64	NEGATIVO
74	MARIA YUCRA COILA	74	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	RITA	0.239	3.10	NEGATIVO
75	MARIA YUCRA COILA	75	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	PRINCESA	0.219	0.76	NEGATIVO
76	MARIA YUCRA COILA	76	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MARIA	0.256	5.09	NEGATIVO
77	CLAUDIA ELISABETH VILCA SANDOVAL	77	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	RENATA	0.280	7.90	NEGATIVO
78	CLAUDIA ELISABETH VILCA SANDOVAL	78	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	MATILDE	0.247	4.04	NEGATIVO
79	CLAUDIA ELISABETH VILCA SANDOVAL	79	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LITA	0.262	5.80	NEGATIVO
80	CLAUDIA ELISABETH VILCA SANDOVAL	80	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	ROSA	0.237	2.87	NEGATIVO
81	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	81	INSEMINACION ARTIFICIAL	HEMBRA	VILMA	0.235	2.63	NEGATIVO
82	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	82	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	LICHI	0.245	3.81	NEGATIVO
83	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	83	VACIA < 2AÑOS	HEMBRA	KATY	0.241	3.34	NEGATIVO
84	LEONARDO TICONA CHAMBILLA	84	> 2 AÑOS	MACHO	PAOLO	0.265	6.15	NEGATIVO

CUADRO N°4. Resultados de Densidad Óptica del lector de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+ 0.986	5 = 0.223	13 = 0.265	21 = 0.243	29 = 0.229	37 = 0.231	45 = 0.250	53 = 0.231	61 = 0.228	69 = 0.234	77 = 0.280	85 = 0.350
B	C+ 1.147	6 = 0.225	14 = 0.224	22 = 0.235	30 = 0.244	38 = 0.225	46 = 0.231	54 = 0.231	62 = 0.226	70 = 0.289	78 = 0.247	86 = 0.273
C	C- 0.221	7 = 0.222	15 = 0.240	23 = 0.228	31 = 0.222	39 = 0.238	47 = 0.245	55 = 0.237	63 = 0.224	71 = 0.225	79 = 0.262	87 = 0.263
D	C- 0.204	8 = 0. 214	16 = 0.233	24 = 0.261	32 = 0.239	40 = 0.226	48 = 0.225	56 = 0.228	64 = 0.218	72 = 0.224	80 = 0.237	88 = 0.244
E	1 = 0.193	9 = 0.220	17 = 0.218	25 = 0.208	33 = 0.220	41 = 0.209	49 = 0.231	57 = 0.212	65 = 0.215	73 = 0.207	81 = 0.235	89 = 0.246
F	2 = 0.211	10 = 0.194	18 = 0.208	26 = 0.247	34 = 0.247	42 = 0.228	50 = 0.228	58 = 0.240	66 = 0.220	74 = 0.239	82 = 0.245	90 = 0. 270
G	3 = 0.206	11 = 0.206	19 = 0.220	27 = 0.271	35 = 0.257	43 = 0.219	51 = 0.216	59 = 0.209	67 = 0.233	75 = 0.219	83 = 0.241	91 = 0. 296
H	4 = 0.199	12 = 0.207	20 = 0.209	28 = 0.235	36 = 0.212	44 = 0.213	52 = 0.227	60 = 0.287	68 = 0.216	76 = 0.256	84 = 0.265	92 = 0. 263

Promedio de Control Positivo: 479.925

Promedio Control Negativo: 95.625

Fuente: Resultados de la Densidad Óptica en la presente investigación.