

**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 DOS  
COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ – PUNO”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. BRYAN ANTHONY MAMANI VASQUEZ**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2018**

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

TESIS

SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB) EN  
VACUNOS DE LA RAZA BROWN SWISS, EN DOS COMUNIDADES DEL  
DISTRITO DE PUCARÁ – PUNO.

PRESENTADA POR:

Bach. BRYAN ANTHONY MAMANI VASQUEZ

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

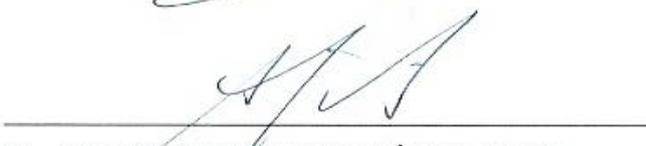
PRESIDENTE:

  
M. Sc. ROLANDO DANIEL ROJAS ESPINOZA

PRIMER MIEMBRO:

  
Dr. CIRO MARINO TRAVERSO ARGUEDAS

SEGUNDO MIEMBRO:

  
Mg. OSCAR HENRY ESPEZÚA FLORES

DIRECTOR:

  
D.Sc. NATALIO LUQUE MAMANI

ASESOR:

  
Mg. ELOY AMADOR CONDORI CHUCHI

Área : Salud animal

Tema : Prevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos Brown Swiss

Fecha de Sustentación: 21/12/2018

**DEDICATORIA**

*A mis padres Antonio y Carmen, que me han dado la existencia; y en ella la capacidad por superarme y desear lo mejor en cada paso por este camino difícil y arduo de la vida. Gracias por ser como son, porque su presencia y persona han ayudado a construir y forjar la persona que ahora soy.*

*A mis hermanos Almendra, Junior y Josué, amigos y familiares por su constante apoyo.*

*A mi director de tesis, a mi asesor y a mis jurados. Por el apoyo brindado y las sugerencias respectivas durante mi formación y asesoramiento del presente trabajo de investigación.*

## AGRADECIMIENTO

*A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, alma mater de la ciencia y tecnología.*

*A la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, alma mater de mi formación profesional, a los docentes quienes imparten sus sabias experiencias y conocimientos.*

*Mi más profundo agradecimiento a:*

*Dr. Natalio Luque Mamani. Por su dirección y participación en el presente trabajo de investigación.*

*Dr. Eloy Amador Condori Chuchi. Por su asesoramiento en el presente trabajo de investigación.*

*Dr. Rolando Daniel Rojas Espinoza, Dr. Ciro Marino Traverso Arguedas y al Dr. Oscar Henry Espezúa Flores, por su valiosa orientación y apoyo incondicional para el desarrollo de la presente investigación.*

*Mi más profunda gratitud a mis padres, hermanos, familiares, compañeros y amigos (as), quienes de alguna u otra forma hicieron posible la realización y culminación de este trabajo de investigación.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>10</b>
1.1. Objetivos de la Investigación.....	11
1.1.1. Objetivos General.....	11
1.1.2. Objetivos Específicos.....	11
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>12</b>
2.1. MARCO TEÓRICO .....	12
2.1.1. Leucosis Viral Bovina.....	12
2.1.2. Etiología.....	12
2.1.3. Transmisión.....	13
2.1.4. Patogenia.....	16
2.1.5. Sintomatología.....	18
2.1.6. Lesiones.....	21
2.1.7. Diagnóstico.....	22
2.1.8. Antecedentes.....	24
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
3.1. ÁMBITO DE TRABAJO.....	36
3.2. UNIDAD DE ESTUDIO.....	36
3.3. METODOLOGIA.....	38
3.3.1. Toma de Muestra de Suero Sanguíneo.....	38
3.3.2. Prueba de ELISA.....	38
3.3.3. Resultados de la Prueba de ELISA.....	41
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>44</b>
4.1. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ PROVINCIA DE LAMPA.....	44
4.2. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ, SEGÚN SEXO ANIMAL.....	47
4.3. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ, SEGÚN EDAD.....	48
4.4. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ, SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVO.....	50
<b>V. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>52</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>53</b>
<b>VII. REFERENCIAS .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>60</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

FIGURA 1. Materiales para la toma de muestras sanguíneas – tubos vacutainer de 10 ml. ....	72
FIGURA 2. Materiales para la toma de muestras sanguíneas – Agujas vacutainer 20G. X 1 pulgadas.....	72
FIGURA 3. Materiales para la toma de muestras sanguíneas – algodón, pipetas manuales, guantes de exploración, barbijo y alcohol yodado. ....	73
FIGURA 4. Toma de muestras sanguíneas de la vena yugular.....	73
FIGURA 5. Toma de muestras sanguíneas de la vena yugular.....	74
FIGURA 6. Toma de muestras sanguíneas de la vena yugular.....	74
FIGURA 7. Rotulo respectivo de cada tubo con muestras sanguíneas. ....	75
FIGURA 8. Colocación de tubos en el maletín de muestras sanguíneas a temperatura ambiente por 20 minutos. ....	75
FIGURA 9. Colocación de tubos en el maletín de muestras sanguíneas a temperatura ambiente por 20 minutos. ....	76
FIGURA 10. Llevado de muestras para su análisis correspondiente.....	76
FIGURA 11. Preparación de la mesa de trabajo para realizar el procesamiento respectivo de cada muestra.....	77
FIGURA 12. Clasificación respectiva de cada muestra sanguínea.....	77

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

- FMVZ** = Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- LVB** = Leucosis Viral Bovina.
- LEB** = Leucosis Enzoótica Bovina.
- VLVB** = Virus de la Leucosis Viral Bovina.
- VLB** = Virus de la Leucosis Bovina.
- ADN** = Ácido Desoxirribonucleico.
- ARN** = Ácido Ribonucleico.
- ARNm** = Ácido Ribonucleico mensajero.
- ELISA** = Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay.
- IG** = Inmunoglobulinas.
- TBC** = tuberculosis.
- Gp** = glicoproteína.
- CP** = control positivo.
- CN** = control negativo.
- OD** = densidad óptica.
- PCR** = Reacción en Cadena de la Polimerasa.
- IDGA** = Inmunodifusión en Gel Agar.
- SN** = Seroneutralización.
- RIA** = Radio Inmuno Ensayo.
- ID** = Inmunodifusión.
- WB** = Western Blot.
- PPD** = Derivados Proteicos Purificados.
- TMB** = Sustrato ELISA Ultra TMB de 1 paso de Thermo Scientific Pierce.

## RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss según sexo, edad, estado reproductivo y productivo, en las comunidades de Chijnaya y Colquejahuá, del distrito de Pucará, provincia de Lampa, región Puno; Para lo cual se utilizaron 90 vacunos de la raza Brown Swiss pertenecientes a los criadores de las comunidades de Chijnaya y Colquejahuá. Donde se obtuvieron 7 ml de muestras de sangre de la vena yugular para luego ser analizados en el Laboratorio de Salud Animal del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla de la FMVZ – UNAP. Mediante la prueba de ELISA, donde se empleó un Kit comercial (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test). Siendo los resultados para la prevalencia de leucosis viral bovina, según sexo no se registra positivos a la leucosis viral bovina en machos (0/13) ni en hembras (0/77), según edad no registra positivos a la leucosis viral bovina en animales menores a 2 años (0/30) ni en animales mayores a 2 años (0/60). Asimismo, según estado reproductivo y productivo fue de 0.0% (0/60) de prevalencia a la leucosis viral bovina. Por lo tanto los vacunos de la raza Brown Swiss de las comunidades de Chijnaya y Colquejahuá se encuentran libres de esta enfermedad viral.

**Palabras Clave:** Leucosis Viral Bovina, Seroprevalencia, Vacunos

## ABSTRACT

The objective of the research work was to determine the Seroprevalence of Bovine Viral Leukosis in Brown Swiss cattle by sex, age, reproductive and productive status; In the communities of Chijnaya and Colquejahuá, of the district of Pucará, province of Lampa, Puno region; For which 90 bovine of the Brown Swiss breed belonging to the breeders of the Chijnaya and Colquejahuá communities have been used. Where 7 ml of blood samples from the jugular vein were obtained and then analyzed in the Animal Health Laboratory of the Chuquibambilla Research and Production Center of the FMVZ - UNAP. Using the ELISA test, where a commercial kit was used (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test). The results for the prevalence of bovine viral leukosis, according to sex, are not positive to bovine viral leukosis in males (0/13) or in females (0/77), according to age, it does not register positive to bovine viral leukosis in animals less than 2 years (0/30) or animals older than 2 years (0/60). Likewise, according to reproductive and productive status, it was 0.0% (0/60) of prevalence of bovine viral leukosis. Therefore, the cattle of the Brown Swiss breed of the communities of Chijnaya and Colquejahuá are free of this viral disease.

**Keywords:** Bovine Viral Leukosis, Seroprevalence, Cattle.

## I. INTRODUCCIÓN

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%). La provincia de Lampa posee 54 mil 141 vacunos de las cuales solo 22 mil 147 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, 2013).**

Siendo la Leucosis Viral Bovina una enfermedad crónica, viral y contagiosa del ganado bovino adulto, con mayor prevalencia en la producción lechera. Se caracteriza por presentaciones asintomáticas, linfocitosis persistente y linfosarcomatosis. Su importancia radica en las limitaciones que ocasiona para la exportación de ganado, semen y embriones, las pérdidas económicas directas e indirectas y en que, recientemente, se ha comenzado a considerar que la enfermedad es potencialmente zoonótica. **(Baruta, 2011).**

También es importante en salud pública, ya que la infección se ha transmitido a humanos al consumir leche de vacas infectadas. Existe un reporte sobre 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 **(Betancur y Rodas, 2008).**

El desarrollo y la expansión de la industria lechera en el distrito de Pucará – Lampa en los últimos años, es causada por la alta demanda de leche y subproductos, como resultado del aumento de la población humana, han

estimulado la intensificación de los hatos lecheros y por consiguiente, un contacto más cercano con los animales, específicamente en hatos grandes es ahí donde radica la importancia de la Leucosis Viral Bovina, en vista que el boletín estadístico SARVE (Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica), en el año 2011 notificó 05 enfermedades sospechosas de Leucosis Viral Bovina a nivel nacional: 01 caso en Puno, 01 en Arequipa y 03 en Cajamarca, por lo que fue menester realizar el trabajo de investigación a fin de conocer la dinámica y/o comportamiento de la enfermedad, ya que es de importancia epidemiología para la salud pública, y los resultados obtenidos servirán para tomar medidas de prevención y de control por parte de las autoridades competentes del gobierno local y/o regional y además para aportar datos al análisis de riesgos, son estas las consideraciones que han inducido a realizar el presente estudio, teniendo como objetivos.

## **1.1. Objetivos de la Investigación.**

### **1.1.1. Objetivos General.**

- Determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en dos comunidades del distrito de Pucará – Puno.

### **1.1.2. Objetivos Específicos.**

- Determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en dos comunidades del distrito de Pucará, según sexo animal.
- Determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en dos comunidades del distrito de Pucará, según edad.
- Determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss en dos comunidades del distrito de Pucará, según estado reproductivo y productivo.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. Leucosis Viral Bovina.

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

La LVB tiene un periodo de incubación prolongado y curso crónico e inaparente, del 30 a 70 % de los animales infectados son portadores asintomáticos, con un proceso de linfocitosis persistente; solamente el 0.5 al 5% cursan con manifestaciones clínicas de linfosarcoma. Afecta a bovinos adultos aunque la infección puede aparecer en animales jóvenes; las hembras sometidas a factores estresantes están expuestas a perder formas más severas de la enfermedad **(Resoagli *et al.*, 1998; Rosciani *et al.*, 1997).**

#### 2.1.2. Etiología.

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

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 **(Evermann et al., 1992; Portetelle et al., 2003)**. Bajo la forma integrada del agente patógeno (retrovirus) está al abrigo de las defensas inmunitarias de su hospedador.

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 VLB, expresan citoquinas de ARNm 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 **(DeGiuseppe et al., 2004; Jimenez et al., 1995)**.

### 2.1.3. Transmisión.

#### 2.1.3.1. Transmisión vertical

Los principales mecanismos involucrados en la transmisión vertical son: Transmisión intrauterina; vía calostro, leche y por productos reproductivos (semen, ovulo, embriones) **(Esteban, 2005)**.

### **Transmisión intrauterina**

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 **(Castelli y Manzini 2001)**.

### **Transmisión vía calostro y leche**

La LVB está presente en el calostro y leche de vacas infectadas. Tanto la fracción celular como las fracciones libres de células, aunque estas últimas con menor frecuencia, pueden ser infecciosas, tanto de leche como de calostro **(Castelli y Manzini 2001)**.

### **Transmisión viral por productos reproductivos**

Si bien puede haber presencia de virus en el semen debido a la salida, por traumatismo, de linfocitos infectados al tracto urogenital de los machos, se cree que esta vía de transmisión es poco probable en bovinos. La transmisión del virus de la LVB mediante el trasplante embrionario puede ocurrir muy raramente **(Castelli y Manzini 2001)**.

#### **2.3.1.2. Transmisión Horizontal**

La transmisión horizontal es la responsable de la mayoría de las infecciones por LVB en el ganado: Transmisión mediante contacto animal – animal y secreciones y excreciones, cualquier secreción o excreción contaminada con sangre (más específicamente linfocitos),

pueden servir como una fuente de transmisión del virus de la LVB (Esteban, 2005).

### Trasmisión por sangre

- Vía intradérmica: la inoculación de 2.500 linfocitos provenientes de animales infectados puede desarrollar infección, equivalentes a 0,5 microlitros de sangre entera.
- Vía subcutánea: volúmenes de sangre de 0,1 y 0,5 microlitros de sangre producen infección en terneros. La inoculación subcutánea, intramuscular e intravenosa de 1 a 10 microlitros de sangre de un animal infectado sin linfocitosis es infectante (Díaz, 2007).

### Transmisión por insectos

Es posible la transmisión del virus de la LVB mediante insectos hematófagos (especialmente tábanos); los tábanos; son grupo de insectos que pertenecen a la familia de los dípteros (grupo compartido por ejemplo con las moscas y mosquitos), el cual engloba diferentes géneros y cuentan con más de 3500 especies a nivel mundial (Tabanus spp., Hematopota spp., Chrysops spp., etc). Su distribución natural de estos insectos es Europa, Norte de Asia Y Noroeste de África, pero actualmente están presentes en casi todo el mundo. Los machos se alimentan de néctar y polen de las flores; en cambio las hembras de la mayoría de las especies, son hematófagas (se alimentan de sangre que extraen de vertebrados tales como mamíferos y aves). Su habitad

generalmente está relacionado con 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 (**Villacide y Masciocchi, 2012**).

#### 2.1.4. Patogenia.

Los primeros pasos en el establecimiento de la infección por el virus de la Leucosis Viral Bovina, como así también de otros virus asociados 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 tercer semana y luego decrecen rápidamente, lo que sugiere que el virus está entrando a nuevas células huésped en otros tejidos. Lo que ocurre inmediatamente después no está del todo claro. La primera indicación de la infección es la aparición de la respuesta inmune humoral dentro de las 8 semanas post inoculación. Los anticuerpos reconocen epitopes 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 epitopes tax y env en sangre periférica (**Fulton et al., 2006**).

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 (**Kettmann et al., 1982; Dequidiet et al., 1997**).

**2.1.4.1. 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; Dequidiet et al., 1997**).

**2.1.4.2. Patogenia de los tumores:** Es 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; Dequiedt et al., 1997**).

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. 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**).

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**).

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. 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 deprimido, linfadenopatía interna, parálisis de miembros posteriores, fiebre, respiración anormal, protusión de ojos, diarrea o constipación y lesiones cardíacas **(Johnson y Kaneene, 1991)**.

En los que presentan el tumor maligno, 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, letargia, 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)**.

#### **2.1.5.1. Linfocitosis persistente (LP):**

Es una respuesta linfoproliferativa, benigna, sin células neoplásicas ni nódulos neoplásicos aparentes, no hay aumento de linfonodos.

No se presentan signos clínicos aparentes, Portador Sano

Asintomático con respuesta inmune a la presencia del virus, detectable por medio de pruebas de laboratorio como ELISA, RIA, IDGA, etc. **(Quinn et al., 2005)**.

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

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 **(Ferrer et al., 1978)**.

#### **2.1.5.2. 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 et al., 1978)**.

### 2.1.6. Lesiones.

La principal afección se encuentra localizada en los ganglios linfáticos describiéndose como generalizada (76 a 100%), diseminada (26 a 75%) y localizada (1 a 25%). Los ganglios linfáticos más afectados son los iliacos, seguidos por los intratorácicos y mesentéricos y con menor frecuencia los superficiales (pre escapular, pre crurales, y de la región cervical. Los mismos aparecen aumentados de tamaño; externamente su aspecto es liso o nodular, sin adherencias con los tejidos circundantes, consistencia blanda o edematosa o bien firme, turgente y friable. Al corte se pierden los detalles de la estructura anatómica por infiltración de tejido lardáceo. En algunos casos se pueden observar hemorragias o pequeños focos de necrosis de color amarillento. El bazo puede presentar un ligero aumento de tamaño o una esplenomegalia tumoral; la superficie de corte seca y con nódulos blanquecinos diseminados por todo el parénquima. En el corazón pueden aparecer nódulos o áreas infiltrativas, difusas de color blanquecino. El espesor de las paredes uterinas puede estar engrosado por la aparición de tejido lardáceo de color blanco grisáceo. El abomaso aparece infiltrado por tejido tumoral, incrementando el grosor de su pared y en algunas ocasiones presencia de úlceras. En el intestino se encuentran lesiones similares con mayor predisposición de úlceras en la mucosa. En riñones aparecen lesiones infiltrativas que producen hemorragias en la superficie del órgano, o bien nódulos que resultan en atrofia del parénquima renal. También puede verse afectado el tejido retro-ocular

y provocar con su crecimiento protrusión del globo ocular o exoftalmos. Se ha observado infiltración tumoral de la córnea y la aparición del tumor en la cámara anterior del ojo **(Chamizo, 1995)**.

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

#### **2.1.7. Diagnóstico.**

En los estudios de infección con LVB se han empleado numerosos métodos de diagnóstico tales como: Seroneutralización (SN), Radioinmunoensayo (RIA), Inmunodifusión (ID), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Western Blot (WB) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) **(González et al., 2001)**.

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. Esta prueba tiene una alta sensibilidad sin embargo el costo del equipo y el riesgo de trabajar con radioisótopos son una limitante para su aplicación; La prueba de ELISA se usa para la detección de anticuerpos Ig G1 e Ig M en suero y/o leche. **(Johnson, 1991)**.

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. **(Kohara *et al.*, 2006; Quinn *et al.*, 2005).**

A la palpación se demuestran linfonodos aumentados de tamaño, resulta de suma importancia en el diagnóstico de la enfermedad. Pueden estar aumentados de tamaño los linfonodos superficiales a lo largo del tronco. También pueden palparse por las paredes rectales vaginales, la uretra, la vejiga, el riñón y el útero **(Barrientos *et al.*, 2008).**

#### **2.1.7.1. Diagnóstico Diferencial.**

Éste depende de los órganos afectados por los Linfosarcomas, por ejemplo, el Linfosarcoma abomasal puede confundirse con una úlcera o enfermedad de John, si afecta las raíces nerviosas de la médula espinal debe diferenciarse con rabia, espondilosis y otras enfermedades con signos nerviosos. **(Barrientos *et al.*, 2008).**

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) (**Giraud et al., 2010**).

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

#### **2.1.8. Antecedentes.**

La Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica - SARVE, conduce el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de la sanidad animal a través de una vigilancia activa y pasiva, realiza la supervisión de centros de beneficio (mataderos) a nivel Nacional y conduce los estudios de análisis de riesgo de enfermedades y mercancías pecuarias que ingresan al país. Donde en el año 2011 registraron 05 enfermedades sospechosas de leucosis viral bovina, según departamento siendo: 01 caso en Arequipa, 03 casos en Cajamarca y 01 caso en Puno. (**SARVE/SENASA, 2013**).

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 (L VB) 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 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 a hembra y 22 a machos, mantenidos bajo crianza semi intensiva. La técnica diagnóstica utilizada, fue la prueba de ELISA indirecta, para la detección de anticuerpos contra el 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. Para determinar la asociación entre seropositividad de las variables sector (edad-sexo, estado reproductivo y método de servicio, se utilizó la prueba de  $X^2$  de independencia ( $p < 0.05$ ). 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 los distritos de Rupa Rupa, Hermilio Valdizan, Daniel Alomías Robles, Mariano Damazo Beraún, Padre Felipe Luyando y José Crespo y Castillo, de la provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, Perú. Se determinó la seroprevalencia del virus de leucosis bovina en el ganado vacuno en la Provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta. En el estudio 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 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, ( $p \geq 0.05$ ). Llegando a la conclusión, que 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. **(Módena, 2005).**

La investigación se realizó 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 que dio los siguientes resultados. La seroprevalencia de Leucosis Enzootica Bovina fue de 65.96% (62/94). Los datos fueron procesados mediante la prueba estadística de Chi-cuadrado, tomando en cuenta los factores edad, sexo y estado reproductivo se demostró que, la prevalencia en los bovinos menores de 2 años 37.03% fue (10/27) y mayores a 2 años 77.61% (52/67) que mostraron diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). En hembras 66.27% (57/86) y machos 62.50% (5/8), no existe diferencia estadística ( $p \geq 0.05$ ). En vacas gestantes 78.78% (26/33) y no gestantes o vacías 75% (24/32) tampoco existe diferencia estadística significativa ( $p \geq 0.05$ ). Concluyendo 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).**

Muestras de sangre de 680 vacas lecheras de varios hatos 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 %. Una encuesta serológica para

determinar la prevalencia de la leucemia 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 **(Hung, 1987)**.

Niveles de prevalencia fueron reportados en Arequipa 27,0 %, Huánuco 84,0 % y San Martín 33,0 %; en tanto, 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 reporto prevalencias promedio de 32,0 % y 30,0 % con rangos de 0 a 42 % y 16-90 % respectivamente. **(FAO/IAE, 1993)**.

La prevalencia de la leucosis viral bovina en la cuenca lechera de Arequipa fue de 12,8 %; de los 261 hatos estudiados aparentemente 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 año 2013 se determinó la Seroprevalencia del virus de la leucemia bovina en un establo lechero de una universidad pública de Lima, Perú, a través de la determinación de anticuerpos circulantes contra el virus. El establo se encontraba infectado, tal y como muchos otros establos lecheros de la zona. Se encontró una prevalencia de 92.7% (51/55), donde el 100, 97 y 60% de los animales mayores de 5

años, de 2 a 5 años y menores de 2 años fueron seropositivos, respectivamente. **(Sandoval et al, 2015).**

Se realizó el estudio Seroepidemiológico de la Leucosis Enzootica Bovina en rebaños de crías en la provincia de lampa – argentina; que a la prueba de IDGA, se identificó que de 3 de los 30 rebaños analizados un animal es seropositivo a LEB en cada uno de ellos. Donde dichos rebaños, clasificados como positivos, corresponden a la categoría de rebaños pequeños, formados generalmente por acopio de vacas, donde conviven varias razas y específicamente los animales positivos, uno es de la raza Holando Argentina de 6to parto, otro es de cruce Holando de 5to parto y el tercero es de raza Cebú de 3er parto, pertenecientes al único rebaño, de los analizados, donde la mayoría de las vacas que conforman el mismo son de razas o cruces índicas. **(Álvarez, 2004).**

Se realizó el primer estudio comparativo de IDGA, ELISA y PCR como herramientas diagnosticas de LEB en Montevideo - Uruguay. El método diagnóstico más sensible fue la PCR, siendo IDGA la que detectó menor número de animales positivos. Si bien la sensibilidad de IDGA y ELISA fue menor que la de PCR, la especificidad de ambos métodos fue mayor. El hecho de que la PCR tradicional detecte animales que presentan ADN proviral y que sean serológicamente negativos, pueden deberse a la presencia de animales inmunotolerantes al virus de la LVB. Paralelamente, la PCR permitiría detectar animales infectados antes de que estos desarrollen una respuesta inmunológica, animales cursando un periodo prolongado de

latencia o animales con una baja carga de exposición del virus, así como la detección del virus en terneros infectados que recibieron calostro de madres seropositivas. **(Rama, 2009).**

La investigación tuvo como objetivo determinar serológicamente la leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas. Donde 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 contra anticuerpos del virus de la Leucosis Viral Bovina; adicionalmente, se obtuvieron 100 muestras de los mismos animales para la 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 hemático. Para determinar la relación entre seropositividad y cada una de las variables se utilizó la prueba de Probabilidad de Fisher. Las pruebas arrojaron una seroprevalencia del 15% para LVB. No se encontraron diferencias significativas de prevalencia asociadas a las variables raza, edad o resultados del hemograma ( $p \geq 0.05$ ). Lo mismo sucedió con las variables edad y raza, ya que para este estudio no son factores determinantes para la presentación de LBE, pues se puede presentar en cualquier edad o raza; de la misma manera, en cuanto al cuadro hemático, los valores

tanto normales como menores y mayores a los normales de eritrocitos, leucocitos, neutrófilos segmentados, neutrófilos bandas y linfocitos no están relacionados directamente con la seropositividad o seronegatividad dada por la prueba de ELISA. Tanto animales positivos como negativos se encontraban en el mismo entorno y con las mismas condiciones de mantenimiento, por lo que se puede decir que los factores de riesgo que predisponen a la presencia de la enfermedad pueden estar dados principalmente por el manejo y las prácticas que se llevan a cabo en cada una de las fincas, siendo éste un aspecto que hay que tener en cuenta para prevenir la presentación de la enfermedad y controlar su propagación, implementado buenas prácticas ganaderas no solo en el lugar de estudio, sino en toda la región (**Bautista et al, 2013**).

Se consideró los diferentes grados de correlación en la seroprevalencia del virus de la leucosis viral bovina en animales con trastornos reproductivos en Montería – Colombia. Donde la seropositividad a LVB y las variables analizadas, se encontraron una relación significativa de la infección con la variable zona, posiblemente debido al mayor flujo de animales en la zona. Este donde se encuentran dos subastas ganaderas que movilizan mucho ganado, dándose una mayor probabilidad de propagarse la enfermedad. En cuanto al tipo de explotación el análisis de correlación reveló diferencias altamente significativas para el ganado doble propósito, el cual presentó un mayor grado de seropositividad. Esto se podría explicar por un mayor grado de contacto entre los animales y mayor

manipulación de los mismos en este tipo de explotación. En cuanto a la variable edad se encontró una ligera significancia, resultado que concuerda con estudios que reportan una prevalencia mayor de LVB en animales adultos, y que también podría ser explicado por una exposición acumulada a través de los años al contacto con animales infectados. En este estudio se determinó que no hubo diferencias altamente significativas para las variables raza; ni correlación entre la presencia de la infección por la LVB y otros trastornos reproductivos tales como el aborto, repetición de servicios o reabsorción embrionaria. El hecho de haber encontrado una mayor frecuencia de LVB en vacas repetidoras (54.1%), puede ser el resultado de la inclusión de mayor número de hembras repetidoras en el estudio. **(Betancur y Rodas, 2008).**

Al 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 virus de la leucosis viral bovina. 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. **(Schwartz *et al*, 1994).**

La seroprevalencia aparente total encontrada en las 3 307 muestras de bovinos, entre 6 a 24 meses de edad de las tres provincias de estudio, fue de 2.27%; en cambio la seroprevalencia real, tomando en cuenta los datos de sensibilidad y especificidad del kit (98 - 100%) es

de 2.07%. Se encontró seroprevalencias de 0.89% en Manabí, 3.13% en Chimborazo y 8.13% en Pichincha.

**Tabla 1.** Seroprevalencia aparente de LEB en animales jóvenes de las provincias de mayor producción lechera del Ecuador.

Provincia	Total	Positivos		Negativos		Prevalencia Aparente %	Prevalencia Real %
		Número	%	Número	%		
Chimborazo	479	15	3.13	464	96.87	3.13	2.16
Pichincha	480	39	8.13	441	91.86	8.13	7.20
Manabí	2348	21	0.89	2327	99.11	0.89	0.024
<b>Total</b>	<b>3307</b>	<b>75</b>	<b>2.26</b>	<b>3232</b>	<b>97.73</b>	<b>2.27</b>	<b>2.07</b>

Fuente: (Vásconez *et al*, 2017).

La presencia de LEB de acuerdo a clima con fines didácticos se categorizó de la siguiente manera: Páramo de 2 a 10°C, templado de 11 a 18°C, subtropical de 19 a 23°C y tropical de 24 a 30°C.

**Tabla 2.** Porcentaje de presencia de LEB de acuerdo a clima en Chimborazo, Pichincha y Manabí.

Clima	Número / %	Positivos	Negativos	Presencia %	Total
Páramo	Número	8	245	3.16	253
	%	3.16	96.84		
Templado	Número	42	458	8.4	500
	%	8.4	91.6		
Subtropical	Número	9	715	1.24	724
	%	1.24	98.75		
Tropical	Número	16	1814	0.87	1830
	%	0.87	99.13		

Fuente: (Vásconez *et al*, 2017).

La presencia de LEB de acuerdo a edad para cuantificar el porcentaje de presencia de LEB en animales jóvenes de las provincias de mayor producción lechera se categorizó a los bovinos de 6 a 12 meses, de 13 a 18 y de 19 a 24 meses.

**Tabla 3.** Presencia de LEB en animales jóvenes de las provincias de mayor producción lechera del Ecuador, de acuerdo a edad.

Edad (Meses)	Número / %	Positivos	Negativos	Presencia %	Total
--------------	------------	-----------	-----------	-------------	-------

<b>6 a 12</b>	Número	30	1735		
	%	1.7	98.3	1.7	1765
<b>13 a 18</b>	Número	35	1035		
	%	3.27	96.73	3.27	1070
<b>19 a 24</b>	Número	10	462		
	%	2.12	97.88	2.12	472

Fuente: (Vásconez *et al*, 2017).

La presencia de LEB de acuerdo a altitud con fines didácticos se categorizó esta variable desde 0 (cero) metros sobre el nivel del mar (msnm) a 500, de 501 a 1000 msnm y de manera sucesiva ascendiendo en grupos de 500 msnm.

**Tabla 4.** Presencia de LEB en animales jóvenes de las provincias de mayor producción lechera del Ecuador, de acuerdo a altitud.

Altitud	Número / %	Positivos	Negativos	Presencia %	Total
<b>0 a 500</b>	Número	23	2391		
	%	0.95	99.05	0.95	2414
<b>501 a 1000</b>	Número	1	64		
	%	1.54	98.46	1.54	65
<b>1001 a 1500</b>	Número	3	110		
	%	2.65	97.35	2.65	113
<b>1501 a 2000</b>	Número	3	16		
	%	15.79	84.21	15.75	19
<b>2001 a 2500</b>	Número	1	79		
	%	1.25	98.75	1.25	80
<b>2501 a 3000</b>	Número	38	335		
	%	10.19	89.81	10.19	373
<b>3001 a 3500</b>	Número	6	220		
	%	2.65	97.35	2.65	226
<b>3501 a 4000</b>	Número	0	17		
	%	0	100	0	17

Fuente: (Vásconez *et al*, 2017).

La determinación de la presencia de LEB de acuerdo a propósito del ganado, de acuerdo a la clasificación leche, carne y doble propósito, se encontró que en las provincias estudiadas, el mayor porcentaje de animales positivos a LEB se presenta en animales de leche (4,47%), seguido de un 3,52% en el ganado destinado a carne y 1,02% en bovinos doble propósito.

**Tabla 5.** Presencia de LEB en animales jóvenes de las provincias de mayor producción lechera del Ecuador, de acuerdo a propósito.

Propósito	Número / %	Positivos	Negativos	Presencia %	Total
<b>Leche</b>	Número	47	1004		
	%	4.47	95.53	4.47	1051
<b>Mixto</b>	Número	21	2036		
	%	1.02	98.98	1.02	2057
<b>Carne</b>	Número	7	192		
	%	3.52	96.48	3.52	199

Fuente: (Vásquez *et al*, 2017).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ÁMBITO DE TRABAJO.

El presente trabajo se desarrolló en dos Comunidades del Distrito de Pucará; Chijnaya y Colquejahuá que están ubicadas en las coordenadas geográficas situadas entre 15° 1'36.91" Latitud Sur, 70°23'52.09" Longitud Oeste y 14°59'15.27" Latitud Sur, 70°25'13.01" Longitud Oeste, respectivamente. Pucará tiene una superficie total de 537,6 km<sup>2</sup> y se encuentra situado al norte de la Provincia de Lampa, en la zona norte del Departamento de Puno y en la parte sur del territorio peruano, a una altura de 3.887. **(SENAMHI, 2015).**

El análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Salud Animal de la FMVZ con sede en el CIP Chuquibambilla.

#### 3.2. UNIDAD DE ESTUDIO.

##### a) De los animales

Los animales para el presente estudio fueron considerados de las comunidades de Chijnaya y Colquejahuá del distrito de Pucará; de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión:

- Ganado lechero.
- Vacunos de la raza Brown Swiss.
- Sexo (hembras y machos).
- Edad (menores a 2 años y mayores a 2 años).
- Preñadas y vacías.

- En lactación y en seca.
- Nivel productivo mayor a 10 kg de leche/día/vaca.

Además se consideró como criterio de exclusión:

- Las comunidades menos representativas en la crianza de ganado vacuno Brown Swiss.
- Vacunos de otras razas.
- Vacunos machos mayores a 2 años de edad.
- Ganado de carne.

#### **b) Del tamaño de muestra.**

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

Los animales para el presente estudio fueron de las comunidades de Chijnaya y Colquejahuá siendo estas dos comunidades las más representativas en crianza de ganado vacuno de la raza *Brown Swiss* del distrito de Pucará; Tiene la mayor población de ganado vacuno de esta raza y con un nivel de producción de leche mayor a 10 kg de leche/día/vaca. (Según reporte de la oficina de Desarrollo Agropecuario de la Municipalidad distrital de Pucará, 2017). Además solo se trabajó con 13 criadores de las dos comunidades, donde se seleccionaron 90 vacunos, debido a que no todos los criadores brindaron las facilidades para realizar el trabajo así mismo no todos los criadores tuvieron las diferentes categorías de estos animales; es por estos motivos que solo se muestrearon a 90 animales de 13 criadores de ambas comunidades.

**Tabla 1.** Distribución de animales de ambas comunidades.

Sexo	Hembras				Machos
Edad	< a 2 años	> a 2 años		< a 2 años	
Estado reproductivo y productivo		Preñada en Lactación	Preñada en Secas	Vacía en Lactación	Vacía en Seca
N° de Animales	17	15	15	15	13
Sub Total			77		13
Total			90		

### 3.3. METODOLOGIA.

#### 3.3.1. Toma de Muestra de Suero Sanguíneo.

- Se obtuvo aproximadamente 7.0 mL de sangre de la vena yugular, previa antisepsia; en tubos al vacío sin anticoagulante (tubos vacutainer 10 mL) con el fin de favorecer la formación de coagulo y suero sanguíneo.
- Luego los tubos fueron colocados en posición inclinada a temperatura ambiental durante 20 minutos.
- Posteriormente los sueros sanguíneos se aislaron en viales de 2 ml para mantenerlos a una temperatura de congelación de -20°C, en el Laboratorio de Salud Animal de la FMVZ con sede en el CIP Chuquibambilla, para su posterior análisis.

#### 3.3.2. Prueba de ELISA.

Se realizó la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus de la leucosis viral bovina, donde se empleó el Kit comercial (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test), que proporciona un método rápido, simple, sensible y específico para la detección de anticuerpos

contra el antígeno de superficie gp 51 del virus de la Leucosis Viral Bovina (LVB) en muestras individuales de suero o plasma. Se siguieron los procedimientos sugeridos por el laboratorio fabricante del kit. Las lecturas espectrofotométricas fueron realizadas en un lector de ELISA (El ChroMate 4300 que es un instrumento de laboratorio que está previsto para ser usado para el diagnóstico clínico in-vitro) a 450 nm (**IDEXX, 2010**).

### **3.3.2.1. Fundamento de la prueba de ELISA.**

Se utilizó la placa de micro titulación que vino suministrada y tapizada con antígeno inactivado. Las diluciones de las muestras que fueron procesados se incubaron en los pocillos. Cualquier anticuerpo específico frente a Leucosis Viral Bovina, se une al antígeno que tapiza los pocillos y forma un complejo antígeno-anticuerpo en la superficie del pocillo. Donde el material que no ha quedado unido se elimina de los pocillos mediante lavado. Luego, se añade un conjugado formado por una IgG anti-rumiante marcada con la Enzima Peroxidasa, que es susceptible de unirse a los anticuerpos del vacuno que formaron el complejo con el antígeno de Leucosis Viral Bovina. El conjugado no unido se elimina mediante lavado, y se añade un substrato TMB a los pocillos. El grado de color desarrollado a una (densidad óptica medida a 450nm) es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo específico frente a Leucosis Viral Bovina, presente en la muestra. El resultado se obtiene comparando la densidad óptica de las muestras con la densidad óptica del control positivo (**IDEXX, 2010**).

### 3.3.2.2. Procedimientos de la Prueba o Test ELISA:

- Se obtuvo la placa a temperatura ambiente, tapizada con antígeno y se anotó la posición de las muestra. No se utilizó toda la placa, se separó únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Se guardó el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y se volvió a almacenar a una temperatura de 2-8°C.
- Se depositó 90  $\mu$ L del Diluyente de muestra en cada pocillo.
- Una vez depositado el diluyente se añadió 10  $\mu$ L de control positivo (CP) no diluido en pocillos duplicados.
- Y posteriormente se añadió 10  $\mu$ L de control negativo (CN) no diluido en pocillos duplicados.
- Luego se añadió 10  $\mu$ L de muestra no diluida en los pocillos apropiados.
- Luego se mezcló el contenido de los pocillos agitando levemente la placa. Para luego proceder a cubrir la placa para incubar durante 60 minutos (+/-5min) a una temperatura de 37°C (+/-3°C). Debiendo estar las placas bien selladas herméticamente o cubrirse para incubarse en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar evaporación.
- Una vez incubado por 60 minutos Se eliminó el contenido líquido de cada pocillo y luego se lavó cada pocillo con aproximadamente 300  $\mu$ L de solución de lavado por 3 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de

añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, se eliminó el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

- Se añadió 100  $\mu$ L conjugado en cada pocillo.
- Se cubrió la placa para incubar durante 60 min (+/-5min.) a 37°C (+/-3°C). Las placas deben de estar selladas herméticamente o incubarse en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar evaporación.
- Luego se añadió 100  $\mu$ L de sustrato TMB N°12 en cada pocillo.
- Para luego incubar a 18-26°C durante 15 minutos (+/-1min).
- Se dispersó 100  $\mu$ L de solución frenado N°3 en cada pocillo.
- luego se realizó la lectura de los resultados en el lector de ELISA, a una longitud de onda de 450nm (**IDEXX, 2010**).

### 3.3.3. Resultados de la Prueba de ELISA.

#### Resultados del examen.

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

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

Los promedio de OD de los 2 controles positivos fue de 460.8 nm.

Y de los 2 controles negativos fue de 83.7 nm.

$$CNx = \frac{CN1A(450nm) + CN2A(450nm)}{2}$$

$$CPx = \frac{CP1A(450nm) + CP2A(450nm)}{2}$$

**Donde:**

CN = Control Negativo.

CP = Control Positivo.

450nm = longitud de onda.

$$CPx = \frac{1.015(450) + 1.033(450)}{2} = 460.8 \text{ nm}$$

**Promedio OD controles positivos = 460.8 nm.**

**Donde:**

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

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

$$CNx = \frac{0.182(450) + 0.190(450)}{2} = 83.7 \text{ nm}$$

**Promedio OD controles negativos = 83.7 nm.**

**Donde:**

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

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

**Interpretación de los resultados.**

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

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

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

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

**Cálculo de prevalencia.**

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

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

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

##### 4.1. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ PROVINCIA DE LAMPA.

De las 90 muestras examinadas, no se detectaron animales positivos al virus de la Leucosis Viral Bovina en las dos comunidades (Chijnaya y Colquejahua), del Distrito de Pucará. Estos resultados negativos pueden deberse a que en el ámbito de trabajo no existe la presencia del vector, el Tábano que son insectos hematófagos que pertenecen a la familia de los dípteros. Su habitad generalmente está relacionado con 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 (**Villacide y Masciocchi, 2012**).

**Murakami et al., (2011)**, concluyó que los vectores (mosquitos y garrapatas) son una importante vía de contagio, pero en el distrito de Pucará esta teoría no se sustenta ya que el clima es frío, Semiseco y moderadamente lluvioso.

También se puede decir que en los resultados negativos obtenidos pueden deberse a que existe una dependencia de la enfermedad con el clima y altitud **Vásconez et al., (2017)**, ya que el distrito de Pucará se encuentra ubicado a una altura de 3.887, con una humedad relativa: 12% y presión atmosférica: 1030 hPa, cuya temperatura promedio anual que oscila entre 14.4 y 2.7°C **SENAMHI, (2015)**. Frente a los últimos reportes realizados por diferentes autores como por ejemplo **Barrera, (2010)**;

**Romero, (2008); Módena, (2005) y Quequesana, (2016)**, que reportan prevalencias en ganado vacuno, siendo sus lugares de estudio tropicales con climas soleados, a menor altura, con mayor humedad relativa y menor presión atmosférica, con una temperatura promedio de 28 y 35 °C. Y estas diferencias de altura, humedad, presión atmosférica y la temperatura; pueden influir significativamente, al brote de la enfermedad causada por el virus de la leucosis viral bovina. Muchos autores reportan seropositividad de esta enfermedad como **Betancur y Rodas. (2008)**, que de 163 muestras examinadas, se detectaron 35 animales positivos a la LVB (21%). Este resultado (21.5%) es similar al obtenido por otros investigadores en la región Andina (24.9%); pero superiores a los encontrados en la costa Caribe (1.5%) y (15.3%). La LVB tiene una amplia distribución mundial se considera que en América la enfermedad se encuentra en forma Enzootica con Seroprevalencias de 35.9 % en Chile, 18,4 % en Costa Rica, 77 % en Uruguay y 70 % en Brasil, algunos países de la Unión europea son libres a la LVB y otros se encuentran en proceso de erradicación (**Gillet et al, 2007**).

Estudios similares realizado por **Barrera, (2010)**, que 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. **Romero, (2008)**, obtuvo resultados, de un total de 149 bovinos muestreados, 34 resultaron seropositivos con una Seroprevalencia de 22,81 %.

**Módena, (2005)**, señaló que 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.

Las alta prevalencias de esta enfermedad son favorecidas por 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. Por tanto, 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 **(Johnson y Kaneene, 1991)**.

En consecuencia, el virus de leucosis bovina es posiblemente transmitido por vectores como son los tábanos o moscas del caballo (*Tabanus fuscicostatus*), mosquitos (*Anopheles sp*), moscas de establos (*Stomoxys calcitrans*), moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*) y garrapatas comunes (*Boophilus microphilus e Ixodes sp*), 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 (**Villacide y Masciocchi, 2012**).

#### 4.2. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ, SEGÚN SEXO ANIMAL.

De las 90 muestras examinadas, según Sexo (Machos y Hembras), donde 13 machos analizados reportaron 0.0% de prevalencia al virus de la Leucosis Viral Bovina en las dos comunidades (Chijnaya y Colquejahuá), del Distrito de Pucará. Al igual que las 77 hembras analizadas que arrojaron 0.0% de casos positivos.

**Barrera, (2010)**, reportó que en el valle de Sama – Tacna, de 110 sueros sanguíneos 88 corresponden a hembras de los cuales 20 resultaron seropositivos lo que representa el  $18,18 \pm 0,01\%$  de prevalencia de LVB y 22 machos resultaron seropositivos 2 sueros sanguíneos representando al  $1,82 \pm 0,03\%$  de prevalencia de LVB. Igualmente **Romero, (2008)**, reporta casos de Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina según Sexo en el Valle de Sama De un total de 149 bovinos, según sexo. En machos de un total de 4, no presentaron anticuerpos contra la leucosis viral bovina, lo que constituye un 0,00 % y en hembras 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, según sexo. En machos de un total de 3, no presentaron anticuerpos contra la leucosis viral bovina, lo que constituye un 0,00 % y en hembras de un total de 77 bovinos, 21 fueron positivos con un 14,09 % de seroprevalencia. Y en el distrito de Sama, se observa un total de 69 bovinos, según sexo. En machos de un total de 1, no presentaron

anticuerpos contra la leucosis viral bovina, lo que constituye un 0,00% y en hembras de un total de 68 bovinos, 13 fueron positivos con un 8,72% de seroprevalencia.

**Quequesana, (2016)**, encontró que en el valle de Moquegua la prevalencia de LEB en vacunos hembras 66.27% y machos de 62.5%; En cuanto a la variable edad se encontró una ligera significancia, resultando que concuerda con estudios que reportan una prevalencia mayor de LVB en animales adultos, y que también podría ser explicado por una exposición acumulada a través de los años al contacto con animales infectados.

#### **4.3. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ, SEGÚN EDAD.**

De un total de 90 muestras analizadas, según edad animal (< a 2 años, > a 2 años), apreciamos que, los resultados sometidos a la prueba de ELISA para determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina fue de 0.0% en animales menores a dos años y mayores de 2 años.

**Romero, (2008)**, evidenció una prevalencia de LEB para el valle de Sama, en 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. **Barrera, (2010)** Reportó de 110 sueros sanguíneos analizados, 25 corresponden a bovinos menores de 1 año, solo se encontró 1 muestra seropositiva a LVB lo que representa  $0,91 \pm 0,02$ % de prevalencia; 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.

Igualmente, **Quequesana, (2016)**, reportó que para vacunos del valle de Moquegua, donde los animales menores a 2 años tuvieron 37.03 % y mayores a 2 años 77.61 %. Y **Módena, (2005)**, registra la Seroprevalencia de Leucosis Bovina en función a la edad de los animales, en la provincia de Leoncio Prado. En 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.

En cuanto a la variable edad se encontró que diversos autores reportan una variación significativa, resultando que concuerda con estudios que reportan una prevalencia mayor de LVB en animales adultos, y que también podría ser explicado por una exposición acumulada a través de los años al contacto con animales infectados.

Según **Resoagli et al., (1991)**, la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en animales adultos, que en algunos casos la pueden adquirir desde jóvenes pero sólo se manifiesta en la edad adulta. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos en nuestro estudio, donde la prevalencia fue del 80% en vacas adultas (lactantes y secas) y del 20% en novillas de levante; esto coincidió en las tres fincas estudiadas, donde la mayor prevalencia fue en vacas adultas. Estos animales representan un riesgo para los sanos, ya que son diversas las formas de transmisión.

#### 4.4. SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN DOS COMUNIDADES DEL DISTRITO DE PUCARÁ, SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVO.

Los resultados sometidos a la prueba de ELISA para determinar la Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina en vacunos de la raza Brown Swiss, en dos Comunidades del Distrito de Pucará fue de 0.0% en Vacas Preñadas en Lactación y en Seca; y el 0.0% en Vacas Vacías en Lactación y en seca.

Mientras **Vásconez et al., (2017)**, reportó la presencia de LVB de acuerdo al propósito de producción del ganado, como es leche, carne y doble propósito; en donde encontró el mayor porcentaje de animales positivos a LVB los animales de leche (4,47%), seguido de un 3,52% los de ganado destinado a carne. Igualmente **Bautista et al., (2013)**, encuentra el 15% de prevalencia de LVB en la vereda Morichal, 60% corresponde al grupo de vacas adultas (lactantes); 20% al grupo de vacas horas (secas), y 20% al grupo de novillas de levante.

Asimismo, **Barrera, (2010)**, 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. Se observa 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  $10,26 \pm 0,02\%$ . No obstante que, **Quequesana, (2016)**, reportó que en el

Valle de Moquegua registra la seropositividad en vacas gestantes de 78.78% y en vacas no gestantes 75.00%. Los valores que reportan los mencionados autores estudiaron en la costa, donde el ambiente podría ser favorable comparado a la sierra que la altitud y otros factores limitarían la presencia del agente viral.

## V. CONCLUSIÓN

La Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina de 90 vacunos de la raza Brown Swiss, según sexo, edad y estado productivo y reproductivo, en las comunidades de Chijnaya y Colquejahuá del distrito de Pucará – Puno, fue de 0.0 %, a la prueba de ELISA.

## VI. RECOMENDACIONES

En las comunidades de Chijnaya y Colquejagua del distrito de Pucará, los vacunos se encuentran libres de esta enfermedad viral y se recomienda implementar con programas de vigilancia epidemiológica bajo la intervención de las autoridades competentes a fin de que no se presente en el futuro la enfermedad.

La toma de muestras para la obtención de sangre en vacunos, se debe de realizar en la vena coccígea ya que se requiere restricción mínima y es posible realizarla sin ayudante. Tiene un menor riesgo de accidentes e infecciones.

Realizar estudios posteriores utilizando otros métodos de diagnóstico más sensibles y específicos como el PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que analiza muestras de sangre, suspensiones de órganos y material tumoral pudiendo incluso detectar el ADN proviral.

## VII. REFERENCIAS

- Álvarez Rubianes, N. (2004). *Leucosis Enzoótica Bovina: estudio seroepidemiológico en rebaños de cria de la provincia de La Pampa – Argentina*. Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLPam.
- 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.
- Barrientos, P.; Hernandez, B. (2008). *Virus de la leucosis viral bovina*. UNAM.
- Baruta, D.A.; Ardoino, S.M.; Brandan, J.L.; Sosa, R.E.; Mariani, E.L.; Albretch, E.M. (2011). *Leucosis Bovina Enzoótica*. Catedra enfermedades infecciosas. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad nacional de la Pampa. Argentina. Volumen 13. Número 1.
- 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.
- 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.
- Castelli, M.; Manzini, V. (2001). *Leucosis enzootia bovina: evolución de la infección en hembras Holando Argentino*. 24° Congreso Argentino de Producción Animal. Rafaela.

- Chamizo Pestana, E.G. (1997). *Leucosis Bovina Enzoótica*. En: *Patología Especial y Diagnóstico de las Enfermedades de los Animales Domésticos*. 1995. 1º Ed. UABC, Mexicali. P. 78-81.
- Chamizo Pestana, E.G. (2005). *Leucosis Bovina Enzoótica – Revisión*. Revista Electronica Veterinaria. P. 1 – 25.
- 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 Pernea, T. (2007). *Leucosis Bovina Enzoótica (Linfosarcoma Bovino)*. Producir XXI, Bs. As., 15(184): 36-38.
- Erskine, R.J.; Bartlett, P.C.; Sabo, K.M.; y Sordillo, L.M. (2011). *Bovine Leukemia Virus infection in dairy cattle: Effect on Serological Response to Immunization against J5 Escherichia coli Bacterin*. Veterinary Medicine International vol.
- Esteban, E. (2005). *Leucosis Bovina Enzoótica*. Jornada de Sanidad Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UNRC.
- Evermann, J. (1992). *Understanding BLV infection. How far we have come in a decade*. Vet Med 87: 246.
- FAOIIAEA. (1993). *Leukosis ELISA kit. Indirect enzyme immuno assay for detection of bovine antibody to bovine leucosis virus. Version-BLV 1.01*. Programe. Animal production and health section of the Join FAOIIAEA. Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Viena, Austria.
- Ferrer, J.F.; Marshak, R.R.; Abt, D.A.; Kenyon, S.J. (1978). *Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to lymphosarcoma*. Ann Rech Vet. 9(4):851-7.
- Flores, A. y Rivera, H. (2000). *Seroprevalencia del virus de la Leucosis Viral Bovina en la cuenca lechera de Arequipa*. Rev. Inv. Vet. Perú; 11(2): p. 144-148.
- 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.

- Gillet, N.; Florins, A.; Boxus, M.; Burtreau, 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.; Bérngamo, E.; Schneider, M.; Magnano, G.; Macías, A.; Sticotii, E. y Macío, M. (2010). *Leucosis Enzootica Bovina*. Departamento de Patología Animal de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Giuseppe Delaware, A.; Feliziani, F.; Rutili, D. y Gian Mario Delaware. (2004). Expression of the Bovine Leukemia Virus Envelope Glycoprotein (gp51) by Recombinant Baculovirus and Its Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Pag. 147 – 151.
- 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.
- Huamán Samanez, W. (2018). *Enfermedades parasitarias e infecciosas (leucosis viral bovina)*. Universidad nacional de San Antonio Aban del Cusco. Recuperado de [http://www.fmvz.unsaac.mx/fmvz.unsaac.mx/fmvz/e\\_bovina/04LeucosisBovina.pdf](http://www.fmvz.unsaac.mx/fmvz.unsaac.mx/fmvz/e_bovina/04LeucosisBovina.pdf)
- 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. (2013). *Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI)*. 525p.
- Jiménez C., Bonilla J., Dolz G., Rodríguez L., Herrero L., Bolaños E., Cortez M., Moreno E. (1995). *Bovine Leukemia Virus Infection In Costa Rica*. *J. Vet. Med.* 42:385-390.

- Johnson, R. and Kaneene, J.B. (1991). *Bovine leukemia virus. Part I. Descriptive epidemiology*. Clinical manifestations and diagnostic test. Continuing education 12(13)2:315-327.
- 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.
- Kohara, J.; Konnai, S., Onuma, M. (2006). *Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation*. Jpn J Vet Res 2006; 54: 25-30.
- Modena Lopez, E. (2005). *Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en la provincia de Leoncio Prado. Tingo Maria*. Facultad de Zootecnia.
- Murakami, K., Kobayashi, S., Kpnishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T., y Tsutsui, T. (2011). *The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle*. Veterinary Microbiology, 148 (1), 84-88.
- Quequesana Manchego, H. S. (2016). *Seroprevalencia de la Leucosis Enzootica 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.
- Rama Gonzalo, B. (2009). *Aspectos Sobre el Diagnostico de Leucosis Enzootica Bovina*. Montevideo, Uruguay. Diciembre.
- Resoagli, J. P., Jacobo, R. A., Storani, C. A., Cipolini, M. F., Stamatti, G. M., Deco, M., Alfonzo, D. (1991). *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.
- Resoagli, J.P.; Jacobo, R.A.; Storani, C.A.; Cipolini, M.F. and Anderson, L.O. (1998). *Preliminares sobre prevalencia de leucosis enzoótica bovina en rodeos de cria en la provincia de Corrientes, Argentina*.

- Rocio Sandoval, M.; Alfredo Delgado, C.; Luis Ruiz, G. y Olger Ramos, C. (2015). *Determinación de la Seroprevalencia del virus de la leucemia bovina en un establo lechero de lima, Perú*. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Rev. Investig. Vet. Perú vol. 26 N°1.
- Romero Romero, S., (2008). *Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina (LVB) en el Valle de Sama- Tacna*. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Tacna.
- Rosciani As, Wa. Merlo, Ma. Montenegro, Mr. Perez, Jt. Borda, J. Lertora, O.A. Maccio, and M. Sanchez. (1997). *Determinación de animales seropositivos a leucosis enzootica bovina en establecimientos del NEA*. Anales de la Reunion de Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas de la SGCYT, UNNE, Corrientes, Argentina, p. 123-126.
- SARVE/SENASA. (2011). *Boletin estadistico. Subdireccion de Analisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiologica, 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*. J. Virol. Journal of Virology. July 1994. p. 4589-4596.
- SENAMHI. (2015). *Servico Nacional de Meteorologia e Hidrologia del Perú*.
- Servicio Nacional de Sanidad Animal – Argentina (SENASA). (1994). *Sistema de certificacion de rodeos libres de Leucosis enzootica bovina*. Resolucion N° 337/94.
- Thursfield, M. (1990). *Epidemiologia Veterinaria*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza- España. P. 223-230.
- Toma, B., Eloit, M., et Savey, M. (1990). *Las enfermedades de animales por retrovirus: Leucosis Enzootica Bovina, anemia infecciosa de los équidos, artritis/encefalitis caprina*. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 983-1119.
- Van Den Heuvel, M.; Portetelle, D.; Jefferson, B., Jacobs, R.M. (2003). *Adaptation of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to determine the concentration of bovine leukemia virus p24 and optimal conditions for p24 expression in short-term cultures of peripheral blood mononuclear cells*. J Virol Methods 111: 61-67.

- Vásconez, H. A.; Sandoval, V. P.; Puga, T. B. y De La Cueva, J.F. (2017). *Seroprevalencia de leucosis enzoótica bovina en animales entre 6 a 24 meses en las provincias de Manabí, Pichincha y Chimborazo - Ecuador*. Artículo científico / Scientific paper Ciencias Agropecuarias.
- Villacide, J. y Masciocchi, M. (2012). *Serie de divulgación sobre insectos de importancia ecológica, económica y sanitaria*. Cuadernillo N°6.

# ANEXOS

**Tabla 1.** Materiales y/o Equipos.

<b>MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agujas vacutainer 20G. X 1 pulgadas.</li> <li>• Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL</li> <li>• Tubos vacutainer de 10mL</li> <li>• Algodón.</li> <li>• Alcohol yodado al 3%</li> <li>• Lapiceros de tinta indeleble.</li> <li>• Pipetas automáticas o manuales.</li> <li>• Guantes de exploración.</li> </ul>
<b>MATERIALES PARA EL ENVIÓ DE MUESTRAS.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caja térmica (tecnopor).</li> <li>• Geles.</li> </ul>
<b>OTROS MATERIALES.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jabón carbólico.</li> <li>• Cámara fotográfica.</li> <li>• Sogas.</li> <li>• Mocheta.</li> <li>• Formatos.</li> </ul>
<b>MATERIALES PARA LA PRUEBA DE ELISA.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Micro pipetas de precisión y micro pipetas de multi dispensadores.</li> <li>• Puntas de pipetas desechables.</li> <li>• Probetas graduadas para la solución de lavado.</li> <li>• Lector de placas de 96 pocillos (equipado con filtro de 450 nm).</li> <li>• Lavador de placas, manual semiautomática o automática.</li> <li>• Vortex o equivalente.</li> <li>• Bandejas para depósito de reactivos.</li> <li>• Papel toalla.</li> <li>• cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo).</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cámara húmeda.</li> <li>• Incubadora.</li> <li>• Algodón.</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>																											
<b>REACTIVOS.</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="746 461 818 495"></th> <th data-bbox="826 461 1225 495">Reactivos</th> <th data-bbox="1233 461 1434 495">Volumen</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="746 506 818 573">1</td> <td data-bbox="826 506 1225 573">Placa tapizada con antígeno BLV</td> <td data-bbox="1233 506 1434 573">10</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 584 818 618">2</td> <td data-bbox="826 584 1225 618">Control positivo</td> <td data-bbox="1233 584 1434 618">1x1,5 ml</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 629 818 663">3</td> <td data-bbox="826 629 1225 663">Control negativo</td> <td data-bbox="1233 629 1434 663">1x1,5 ml</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 674 818 707">4</td> <td data-bbox="826 674 1225 707">Conjugado</td> <td data-bbox="1233 674 1434 707">1x110 ml</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 719 818 752">5</td> <td data-bbox="826 719 1225 752">Diluyente de la muestra</td> <td data-bbox="1233 719 1434 752">1x110 ml</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 763 818 797">A</td> <td data-bbox="826 763 1225 797">Substrato TMB n° 12</td> <td data-bbox="1233 763 1434 797">1x100 ml</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 808 818 842">B</td> <td data-bbox="826 808 1225 842">Solución de frenado n° 3</td> <td data-bbox="1233 808 1434 842">1x100 ml</td> </tr> <tr> <td data-bbox="746 853 818 898">C</td> <td data-bbox="826 853 1225 898">Solución de lavado concentrada (10X)</td> <td data-bbox="1233 853 1434 898">1x480 ml</td> </tr> </tbody> </table>		Reactivos	Volumen	1	Placa tapizada con antígeno BLV	10	2	Control positivo	1x1,5 ml	3	Control negativo	1x1,5 ml	4	Conjugado	1x110 ml	5	Diluyente de la muestra	1x110 ml	A	Substrato TMB n° 12	1x100 ml	B	Solución de frenado n° 3	1x100 ml	C	Solución de lavado concentrada (10X)	1x480 ml
	Reactivos	Volumen																										
1	Placa tapizada con antígeno BLV	10																										
2	Control positivo	1x1,5 ml																										
3	Control negativo	1x1,5 ml																										
4	Conjugado	1x110 ml																										
5	Diluyente de la muestra	1x110 ml																										
A	Substrato TMB n° 12	1x100 ml																										
B	Solución de frenado n° 3	1x100 ml																										
C	Solución de lavado concentrada (10X)	1x480 ml																										
<b>EQUIPOS.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estufa incubadora a 37°C</li> <li>• Refrigeradora convencional.</li> <li>• Congeladora.</li> <li>• Cronómetro de tiempo.</li> <li>• Lector de ELISA (ChroMate 4300).</li> <li>• Micro pipeta canal simple 20 a 200 µl.</li> <li>• Micropipeta canal simple 100 a 1000 µl.</li> <li>• Micro pipetas multicanal 50-300 µl.</li> </ul>																											

**Tabla 2.** Ficha de Muestreo de las Comunidades de Chijnaya y Colquejahua del Distrito de Pucará.

N°	Nombre del Productor	Fundo	Comunidad	Total de Animales	Número de Animales Muestreados
1	Alejandrina Ccama Días	Millumi	Chijnaya	35	13
2	Silveria Natividad Yanqui Jaramillo	San Efraín	Chijnaya	20	07
3	Martha Aidé Quispe Ccama	Salomón	Chijnaya	37	06
4	Matilde Arapa Quispe	Llupina	Chijnaya	23	07
5	Marco Lope Figueroa	San Marcos	Chijnaya	15	08
6	Catalina Mamani Ccama	Sintimayo	Chijnaya	12	04
7	Juana Díaz Merma	Sintimayo	Chijnaya	15	03
8	Ceferino Quispetera Cruz	Ccaccachupa	Chijnaya	20	07
9	Dionicia Ccama Apaza	Yanjaja	Colquejahua	14	08
10	Gregorio Quispe Choque	Kolpachupa	Colquejahua	20	03
11	Berila Itme Quispe	Niño Jesús	Colquejahua	30	05
12	Emilio Quispe Aguilar	Establo	Colquejahua	28	09
13	Valeriano Quispe Aguilar	San Valentín	Colquejahua	25	10
<b>Total</b>					<b>90</b>

**Tabla 3.** Ficha de muestreo según sexo, edad y estado reproductivo.

N° DE PRODUCTOR	NOMBRE DEL PRODUCTOR	N° DE MUESTRA	CLASE	SEXO	NOMBRE DEL ANIMAL
1	Alejandrina Ccama Dias	1	Menor 2 años	MACHO	Paul
	Alejandrina Ccama Dias	2	Menor 2 años	MACHO	Armando
	Alejandrina Ccama Dias	3	Menor 2 años	HEMBRA	Normita
	Alejandrina Ccama Dias	4	Preñada	HEMBRA	Wala
	Alejandrina Ccama Dias	5	Preñada	HEMBRA	Norma
	Alejandrina Ccama Dias	6	preñada	HEMBRA	Feli
	Alejandrina Ccama Dias	7	Vacía	HEMBRA	Parara
	Alejandrina Ccama Dias	8	Vacía	HEMBRA	Nora
	Alejandrina Ccama Dias	9	Vacía	HEMBRA	Pepa
	Alejandrina Ccama Dias	10	Preñada	HEMBRA	Lolita
	Alejandrina Ccama Dias	11	Preñada	HEMBRA	Llorona
	Alejandrina Ccama Dias	12	Vacía	HEMBRA	Libia
	Alejandrina Ccama Dias	13	Vacía	HEMBRA	Rosa
2	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	14	Menor 2 años	MACHO	Dante
	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	15	Menor 2 años	HEMBRA	Catalina
	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	16	Menor 2 años	HEMBRA	Paty
	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	17	Preñada	HEMBRA	Pilar
	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	18	Preñada	HEMBRA	Lucero
	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	19	Vacía	HEMBRA	Iris
	Silveria N. Yanqui Jaramillo.	20	Vacía	HEMBRA	Mela
3	Martha Quispe Ccama.	21	Menor 2 Años	MACHO	Carlos
	Martha Quispe Ccama.	22	Menor 2 Años	HEMBRA	Rosa
	Martha Quispe Ccama.	23	Menor 2 Años	HEMBRA	Nely
	Martha Quispe Ccama.	24	Vacía	HEMBRA	Yola
	Martha Quispe Ccama.	25	Vacía	HEMBRA	Ines
	Martha Quispe Ccama.	26	Preñada	HEMBRA	Nely

4	Matilde Arapa Quispe.	27	Preñada	HEMBRA	Cachuda
	Matilde Arapa Quispe	28	Preñada	HEMBRA	Sara
	Matilde Arapa Quispe	29	Preñada	HEMBRA	Teta dura
	Matilde Arapa Quispe	30	Vacía	HEMBRA	Martha
	Matilde Arapa Quispe	31	Vacía	HEMBRA	Chávella
	Matilde Arapa Quispe	32	Preñada	HEMBRA	Maira
	Matilde Arapa Quispe	33	Preñada	HEMBRA	Gabi
5	Marco Lope Figueroa.	34	Menor 2 Años	MACHO	Rubén
	Marco Lope Figueroa.	35	Menor 2 Años	MACHO	Taylor
	Marco Lope Figueroa.	36	Menor 2 Años	HEMBRA	Lesly 2
	Marco Lope Figueroa.	37	Menor 2 Años	HEMBRA	Betty
	Marco Lope Figueroa.	38	Preñada	HEMBRA	Chata
	Marco Lope Figueroa.	39	Vacía	HEMBRA	Negra
	Marco Lope Figueroa.	40	Vacía	HEMBRA	Rosa
	Marco Lope Figueroa.	41	Vacía	HEMBRA	Carla
6	Catalina Mamani Ccama.	42	Menor 2 Años	MACHO	Roger
	Catalina Mamani Ccama.	43	Menor 2 Años	HEMBRA	Lisa
	Catalina Mamani Ccama.	44	Vacía	HEMBRA	Carla
	Catalina Mamani Ccama.	45	Preñada	HEMBRA	Sarascha
7	Juana Días Merma	46	Menor 2 Años	MACHO	Andres
	Juana Días Merma	47	Preñada	HEMBRA	Rosa
	Juana Días Merma	48	Vacía	HEMBRA	Maria
8	Ceferino Quispetera Cruz	49	Menor 2 Años	MACHO	Luciano
	Ceferino Quispetera Cruz	50	Menor 2 Años	HEMBRA	Elsa
	Ceferino Quispetera Cruz	51	Menor 2 Años	HEMBRA	Olga
	Ceferino Quispetera Cruz	52	Menor 2 Años	HEMBRA	Norma
	Ceferino Quispetera Cruz	53	Menor 2 Años	HEMBRA	Yolanda
	Ceferino Quispetera Cruz	54	Vacía	HEMBRA	Gringa
	Ceferino Quispetera Cruz	55	Vacía	HEMBRA	Agida

<b>9</b>	Dionisia Ccama Apaza.	56	Menor 2 Años	MACHO	Pepe 1
	Dionisia Ccama Apaza.	57	Menor 2 Años	MACHO	Juan
	Dionisia Ccama Apaza.	58	Menor 2 Años	MACHO	Pepe 2
	Dionisia Ccama Apaza.	59	Menor 2 Años	HEMBRA	Flor
	Dionisia Ccama Apaza.	60	Menor 2 Años	HEMBRA	Blanca
	Dionisia Ccama Apaza.	61	Menor 2 Años	HEMBRA	Reyna
	Dionisia Ccama Apaza.	62	Preñada	HEMBRA	Carmen
	Dionisia Ccama Apaza.	63	Preñada	HEMBRA	Morocho
<b>10</b>	Gregorio Quispe choque	64	Menor 2 Años	MACHO	Larcy
	Gregorio Quispe choque	65	Menor 2 Años	HEMBRA	Rosi
	Gregorio Quispe choque	66	Menor 2 Años	HEMBRA	Ana
<b>11</b>	Berila Itme Quispe	67	Preñada	HEMBRA	Nora
	Berila Itme Quispe	68	Preñada	HEMBRA	Golosa
	Berila Itme Quispe	69	Preñada	HEMBRA	Karen
	Berila Itme Quispe	70	Vacía	HEMBRA	Pasta
	Berila Itme Quispe	71	Vacía	HEMBRA	Carolina
<b>12</b>	Emilio Quispe Aguilar	72	Preñada	HEMBRA	Yeny
	Emilio Quispe Aguilar	73	Preñada	HEMBRA	Yersey
	Emilio Quispe Aguilar	74	Preñada	HEMBRA	Rosa
	Emilio Quispe Aguilar	75	Vacía	HEMBRA	Mili
	Emilio Quispe Aguilar	76	Vacía	HEMBRA	Negra
	Emilio Quispe Aguilar	77	Vacía	HEMBRA	India
	Emilio Quispe Aguilar	78	Vacía	HEMBRA	Ana
	Emilio Quispe Aguilar	79	Vacía	HEMBRA	Yanet
	Emilio Quispe Aguilar	80	Vacía	HEMBRA	Sara

<b>13</b>	Valerio Quispe Aguilar	81	Preñada	HEMBRA	Sandra
	Valerio Quispe Aguilar	82	Preñada	HEMBRA	Dina
	Valerio Quispe Aguilar	83	Preñada	HEMBRA	Carla
	Valerio Quispe Aguilar	84	Preñada	HEMBRA	Negra
	Valerio Quispe Aguilar	85	Preñada	HEMBRA	Chaska
	Valerio Quispe Aguilar	86	Vacía	HEMBRA	Caramelo
	Valerio Quispe Aguilar	87	Vacía	HEMBRA	Blanca
	Valerio Quispe Aguilar	88	Vacía	HEMBRA	Tica
	Valerio Quispe Aguilar	89	Preñada	HEMBRA	Carmen
	Valerio Quispe Aguilar	90	Vacía	HEMBRA	Rosa

**Tabla 4.** Resultados tomados del lector de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	<b>C+ 1.015</b>	5 = 0.186	13 = 0.203	21 = 0.226	29 = 0.234	37 = 0.195	45 = 0.212	53 = 0.221	61 = 0.210	69 = 0.205	77 = 0.225	85 = 0.235
<b>B</b>	<b>C+ 1.033</b>	6 = 0.287	14 = 0.216	22 = 0.224	30 = 0.200	38 = 0.225	46 = 0.222	54 = 0.268	62 = 0.219	70 = 0.241	78 = 0.209	86 = 0.209
<b>C</b>	<b>C- 0.182</b>	7 = 0.207	15 = 0.165	23 = 0.180	31 = 0.170	39 = 0.208	47 = 0.189	55 = 0.207	63 = 0.214	71 = 0.195	79 = 0.210	87 = 0.221
<b>D</b>	<b>C- 0.190</b>	8 = 0.195	16 = 0.168	24 = 0.169	32 = 0.161	40 = 0.185	48 = 0.198	56 = 0.208	64 = 0.205	72 = 0.188	80 = 0.182	88 = 0.204
<b>E</b>	1 = 0.171	9 = 0.179	17 = 0.182	25 = 0.181	33 = 0.179	41 = 0.171	49 = 0.184	57 = 0.198	65 = 0.196	73 = 0.160	81 = 0.181	89 = 0.223
<b>F</b>	2 = 0.162	10 = 0.214	18 = 0.188	26 = 0.170	34 = 0.176	42 = 0.196	50 = 0.207	58 = 0.203	66 = 0.187	74 = 0.179	82 = 0.179	90 = 0.182
<b>G</b>	3 = 0.179	11 = 0.194	19 = 0.174	27 = 0.176	35 = 0.187	43 = 0.171	51 = 0.180	59 = 0.184	67 = 0.197	75 = 0.166	83 = 0.173	
<b>H</b>	4 = 0.215	12 = 0.211	20 = 0.172	28 = 0.176	36 = 0.206	44 = 0.174	52 = 0.183	60 = 0.197	68 = 0.198	76 = 0.202	84 = 0.178	

Promedio de Control Positivo: 460.8

Promedio Control Negativo: 83.7

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

**Tabla 5.** Resultados de la Seroprevalencia del Virus de la Leucosis Viral Bovina (LVB) en vacunos Brown Swiss, en dos comunidades del distrito de Pucará – Puno.

N°	NOMBRE DEL PRODUCTOR	N° DE MUESTRA	CLASE	NOMBRE DEL ANIMAL	DO	VALOR M/P	RESULT LVB
1	Alejandrina Ccama Dias	1	PREÑADA	Wala	0.171	-1.79	NEGATIVO
2	Alejandrina Ccama Dias	2	PREÑADA	Lolita	0.162	-2.86	NEGATIVO
3	Alejandrina Ccama Dias	3	VACÍA	Pepa	0.179	0.84	NEGATIVO
4	Alejandrina Ccama Dias	4	MACHO MENOR 2 AÑOS	Paul	0.215	3.46	NEGATIVO
5	Alejandrina Ccama Dias	5	PREÑADA	Feli	0.186	3.76	NEGATIVO
6	Alejandrina Ccama Dias	6	MACHO MENOR 2 AÑOS	Armando	0.287	12.05	NEGATIVO
7	Alejandrina Ccama Dias	7	VACÍA	Rosa	0.207	2.50	NEGATIVO
8	Alejandrina Ccama Dias	8	VACÍA	Libia	0.195	1.07	NEGATIVO
9	Alejandrina Ccama Dias	9	VACÍA	Nora	0.179	-0.83	NEGATIVO
10	Alejandrina Ccama Dias	10	HEMBRA MENOR 2	Normita	0.214	3.34	NEGATIVO
11	Alejandrina Ccama Dias	11	PREÑADA	Norma	0.194	0.95	NEGATIVO
12	Alejandrina Ccama Dias	12	PREÑADA	Llorona	0.211	2.98	NEGATIVO
13	Alejandrina Ccama Dias	13	VACÍA	Parara	0.203	2.03	NEGATIVO
14	Silberia Yanqui Jaramilla	14	HEMBRA MENOR 2	Paty	0.216	3.58	NEGATIVO
15	Silberia Yanqui Jaramilla	15	VACÍA	Iris	0.165	-2.50	NEGATIVO
16	Silberia Yanqui Jaramilla	16	PREÑADA	Pilar	0.168	-2.14	NEGATIVO
17	Silberia Yanqui Jaramilla	17	PREÑADA	Lucero	0.182	-0.47	NEGATIVO
18	Silberia Yanqui Jaramilla	18	HEMBRA MENOR 2	Catalina	0.188	0.24	NEGATIVO
19	Silberia Yanqui Jaramilla	19	VACÍA	Mela	0.174	-1.43	NEGATIVO
20	Silberia Yanqui Jaramilla	20	MACHO MENOR 2 AÑOS	Dante	0.172	-1.67	NEGATIVO
21	Martha Quispe Ccama	21	VACÍA	Yola	0.226	4.77	NEGATIVO
22	Martha Quispe Ccama	22	HEMBRA MENOR 2	Rosa	0.224	4.53	NEGATIVO
23	Martha Quispe Ccama	23	VACÍA	Ines	0.180	-0.71	NEGATIVO
24	Martha Quispe Ccama	24	HEMBRA MENOR 2 AÑOS	Nely	0.169	-2.02	NEGATIVO
25	Martha Quispe Ccama	25	MACHO MENOR 2 AÑOS	Carlos	0.181	-0.59	NEGATIVO
26	Martha Quispe Ccama	26	PREÑADA	Nely	0.170	-1.90	NEGATIVO
27	Matilde Arapa Quispe	27	PREÑADA	Sara	0.176	-1.19	NEGATIVO
28	Matilde Arapa Quispe	28	PREÑADA	Tetadura	0.176	-1.19	NEGATIVO
29	Matilde Arapa Quispe	29	VACÍA	Chavela	0.234	5.72	NEGATIVO
30	Matilde Arapa Quispe	30	PREÑADA	Gabi	0.200	1.67	NEGATIVO
31	Matilde Arapa Quispe	31	PREÑADA	Nayra	0.170	-1.90	NEGATIVO
32	Matilde Arapa Quispe	32	PREÑADA	Cachuda	0.161	-2.98	NEGATIVO
33	Matilde Arapa Quispe	33	VACÍA	Martha	0.179	-0.83	NEGATIVO
34	Marco Lope Figueroa	34	VACÍA	Negra	0.176	-1.19	NEGATIVO
35	Marco Lope Figueroa	35	HEMBRA MENOR 2 AÑOS	Bety	0.187	0.12	NEGATIVO
36	Marco Lope Figueroa	36	PREÑADA	Chata	0.206	2.38	NEGATIVO
37	Marco Lope Figueroa	37	VACÍA	Rosa	0.195	1.07	NEGATIVO
38	Marco Lope Figueroa	38	VACÍA	Carla	0.225	4.65	NEGATIVO
39	Marco Lope Figueroa	39	MACHO MENOR 2 AÑOS	Taylor	0.208	2.62	NEGATIVO
40	Marco Lope Figueroa	40	HEMBRA MENOR 2	Lesly	0.185	-0.12	NEGATIVO
41	Marco Lope Figueroa	41	MACHO MENOR 2 AÑOS	Ruben	0.171	-1.79	NEGATIVO

42	Catalina Mamani Ccama	42	HEMBRA MENOR 2	Lisa	0.196	1.19	NEGATIVO
43	Catalina Mamani Ccama	43	MACHO MENOR 2 AÑOS	Roger	0.171	-1.79	NEGATIVO
44	Catalina Mamani Ccama	44	PREÑADA	Sarascha	0.174	-1.43	NEGATIVO
45	Catalina Mamani Ccama	45	VACÍA	Carla	0.212	3.10	NEGATIVO
46	Juana Diaz Merma	46	PREÑADA	Rosa	0.222	4.29	NEGATIVO
47	Juana Diaz Merma	47	VACÍA	Maria	0.189	0.35	NEGATIVO
48	Juana Diaz Merma	48	MACHO MENOR 2 AÑOS	Andres	0.198	1.43	NEGATIVO
49	Ceferino Quispetera Cruz	49	HEMBRA MENOR 2	Norma	0.184	-0.24	NEGATIVO
50	Ceferino Quispetera Cruz	50	VACÍA	Agida	0.207	2.50	NEGATIVO
51	Ceferino Quispetera Cruz	51	MACHO MENOR 2 AÑOS	Luciano	0.180	-0.71	NEGATIVO
52	Ceferino Quispetera Cruz	52	VACÍA	Gringa	0.183	-0.35	NEGATIVO
53	Ceferino Quispetera Cruz	53	HEMBRA MENOR 2	Yolanda	0.221	4.17	NEGATIVO
54	Ceferino Quispetera Cruz	54	HEMBRA MENOR 2	Elsa	0.268	9.78	NEGATIVO
55	Ceferino Quispetera Cruz	55	HEMBRA MENOR 2	Olga	0.207	2.50	NEGATIVO
56	Dionicia Ccama Apaza	56	HEMBRA MENOR 2	Reyna	0.208	2.62	NEGATIVO
57	Dionicia Ccama Apaza	57	PREÑADA	Morochoa	0.198	1.43	NEGATIVO
58	Dionicia Ccama Apaza	58	MACHO MENOR 2 AÑOS	Juan	0.203	2.02	NEGATIVO
59	Dionicia Ccama Apaza	59	HEMBRA MENOR 2	Flor	0.184	-0.23	NEGATIVO
60	Dionicia Ccama Apaza	60	MACHO MENOR 2 AÑOS	Pepe 1	0.197	1.31	NEGATIVO
61	Dionicia Ccama Apaza	61	MACHO MENOR 2 AÑOS	Pepe 2	0.210	2.86	NEGATIVO
62	Dionicia Ccama Apaza	62	HEMBRA MENOR 2	Blanca	0.219	3.93	NEGATIVO
63	Dionicia Ccama Apaza	63	PREÑADA	Carmen	0.214	3.34	NEGATIVO
64	Gregorio Quispe Choque	64	MACHO MENOR 2 AÑOS	Larcy	0.205	2.26	NEGATIVO
65	Gregorio Quispe Choque	65	HEMBRA MENOR 2	Ana	0.196	1.19	NEGATIVO
66	Gregorio Quispe Choque	66	HEMBRA MENOR 2	Rosy	0.187	0.12	NEGATIVO
67	Berila Itme Quispe	67	PREÑADA	Nora	0.197	1.31	NEGATIVO
68	Berila Itme Quispe	68	VACÍA	Carolina	0.198	1.43	NEGATIVO
69	Berila Itme Quispe	69	PREÑADA	Golosa	0.205	2.26	NEGATIVO
70	Berila Itme Quispe	70	VACÍA	Pasta	0.241	6.56	NEGATIVO
71	Berila Itme Quispe	71	PREÑADA	Karen	0.195	1.07	NEGATIVO
72	Emilio Quispe Aguilar	72	VACÍA	Sara	0.188	0.23	NEGATIVO
73	Emilio Quispe Aguilar	73	VACÍA	Yanet	0.160	-3.10	NEGATIVO
74	Emilio Quispe Aguilar	74	VACÍA	Mily	0.179	-0.83	NEGATIVO
75	Emilio Quispe Aguilar	75	VACÍA	Negra	0.166	-2.38	NEGATIVO
76	Emilio Quispe Aguilar	76	VACÍA	Ana	0.202	1.90	NEGATIVO
77	Emilio Quispe Aguilar	77	VACÍA	India	0.225	4.65	NEGATIVO
78	Emilio Quispe Aguilar	78	PREÑADA	Rosa	0.209	2.74	NEGATIVO
79	Emilio Quispe Aguilar	79	PREÑADA	Yersey	0.210	2.86	NEGATIVO
80	Emilio Quispe Aguilar	80	PREÑADA	Yeny	0.182	-0.47	NEGATIVO
81	Valerio Quispe Aguilar	81	PREÑADA	Negra	0.181	-0.59	NEGATIVO
82	Valerio Quispe Aguilar	82	PREÑADA	Chaska	0.179	-0.83	NEGATIVO
83	Valerio Quispe Aguilar	83	VACÍA	Tica	0.173	-1.55	NEGATIVO
84	Valerio Quispe Aguilar	84	VACÍA	Blanca	0.178	-0.95	NEGATIVO
85	Valerio Quispe Aguilar	85	PREÑADA	Carla	0.235	5.84	NEGATIVO
86	Valerio Quispe Aguilar	86	PREÑADA	Dina	0.209	2.74	NEGATIVO

87	Valerio Quispe Aguilar	87	VACÍA	Caramelo	0.221	4.17	NEGATIVO
88	Valerio Quispe Aguilar	88	PREÑADA	Sandra	0.204	2.14	NEGATIVO
89	Valerio Quispe Aguilar	89	PREÑADA	Carmen	0.223	4.29	NEGATIVO
90	Valerio Quispe Aguilar	90	VACÍA	Rosa	0.182	-0.47	NEGATIVO



**FIGURA 1.** Materiales para la toma de muestras sanguíneas – tubos vacutainer de 10 ml.



**FIGURA 2.** Materiales para la toma de muestras sanguíneas – Agujas vacutainer 20G. X 1 pulgadas.



**FIGURA 3.** Materiales para la toma de muestras sanguíneas – algodón, pipetas manuales, guantes de exploración, barbijo y alcohol yodado.



**FIGURA 4.** Toma de muestras sanguíneas de la vena yugular.



**FIGURA 5.** Toma de muestras sanguíneas de la vena yugular.



**FIGURA 6.** Toma de muestras sanguíneas de la vena yugular.



**FIGURA 7.** Rotulo respectivo de cada tubo con muestras sanguíneas.



**FIGURA 8.** Colocación de tubos en el maletín de muestras sanguíneas a temperatura ambiente por 20 minutos.



**FIGURA 9.** Colocación de tubos en el maletín de muestras sanguíneas a temperatura ambiente por 20 minutos.



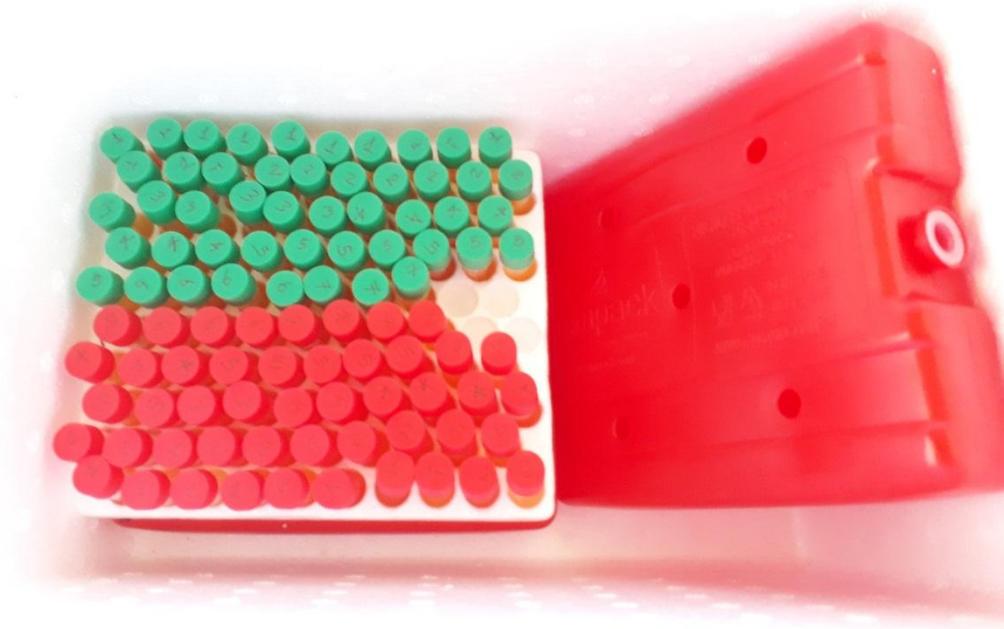
**FIGURA 10.** Llevado de muestras para su análisis correspondiente.



**FIGURA 11.** Preparación de la mesa de trabajo para realizar el procesamiento respectivo de cada muestra.



**FIGURA 12.** Clasificación respectiva de cada muestra sanguínea.



**FIGURA 13.** Viales colocados en la caja térmica (tecnopor) a temperatura de congelación  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento del trabajo en el laboratorio de salud animal del CIP – CHUQUIBAMBILLA.