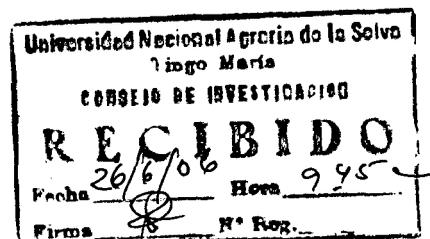


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS



**SEROPREVALENCIA DE LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN
LA PROVINCIA DE LEONCIO PRADO**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

ERIC MODENA LOPEZ

PROMOCIÓN 2000-I

“UNASINOS HACIA EL DESARROLLO DE UN NUEVO ECOMILENIO”

Tingo María - Perú

2005

L73

M68

Modena López, E.

Seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina en la Provincia de Leoncio Prado.- Tingo Maria, 2005

50 h.; 7cuadros, 4 fig.s; 40 ref.; 30 cm.

Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia

BOVINA/ENFERMEDADES/RAZAS Y CRUCES//VIRUS/
CONTROL// LEONCIO PRADO (Prov.)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA

Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 582342 - Anexos 1500 - 1501
TINGO MARÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 23 de marzo del 2005, a horas 07:00 p.m., para calificar la tesis titulada:

"SEROPREVALENCIA DE LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN LA PROVINCIA DE LEONCIO PRADO".

Presentado por el Bachiller **Eric MODENA LOPEZ**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de **"BUENO"**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Art. 87 inc. M, del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 23 de marzo del 2005.

MSc. TEODOLFO VALENCIA CHAMBA
Presidente



MSc. MIGUEL PEREZ OLANO
Miembro

M.V. LISANDRO TAFUR ZEVALLOS
Miembro

M.V. JORGE TURPO CALCINA
Miembro

DEDICATORIA

A mis queridos padres:

Mario Modena Gestir y Zoila López Castillo; por sus desvelos y sacrificio, poniendo su confianza en todo momento para cumplir sus anhelos deseados.

A mis hermanos y hermanas; en especial a Tania, esposo y sobrinos; por su apoyo y comprensión en todo momento de mi formación profesional.

A mi tío:

Elvio Modena Gestir, y esposa Azucena Alegría Bardales; quienes impartieron sus sabios consejos y el apoyo económico para hacer realidad este trabajo de investigación.

A mis hijos Rodrigo y Lilian Angele
por ser el motivo de seguir
superándome profesionalmente.

A mí querida esposa Lili Rosario
Paredes Sáenz por su apoyo y
comprensión.

A la memoria de mi primo Vittorio
Luís Modena Moreno y mi
hermana Ahide que desde el cielo
siempre iluminarán mi camino y en
vida siempre me apoyaron con sus
sabios consejos durante mi
formación profesional.

MI AGRADECIMIENTO

- ❖ A la Universidad Nacional Agraria de la Selva por ser el Alma Mater de mi formación profesional.
- ❖ Al Méd. Vet. Jorge Suplicio Turpo Calcina, asesor, amigo y guía del presente trabajo de investigación.
- ❖ Al Ing. Edilberto Sánchez Pérez por el apoyo desinteresado en la recolección de las muestras para realizar el presente trabajo de investigación.
- ❖ Al Ing. Arturo Fernández Mamani, Ing. Arturo Cárdenas Ruiz, Ing. Adín Daza Gárate y Bach. Julio Heber Panduro Villacorta por su colaboración en el trabajo de investigación.
- ❖ A la señora Adilia Cárdenas Ruiz e hija Jeidy Mirella por su apoyo desinteresado en todo momento.
- ❖ A los docentes de la Facultad de Zootecnia, por sus conocimientos y consejos impartidos.
- ❖ Al Méd. Vet. Alfredo Benito Zúñiga, por el apoyo incondicional a la realización de los análisis de las muestras en el Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.
- ❖ A los ganaderos de los distintos distritos de la provincia de Leoncio Prado, quienes facilitaron sus animales para la ejecución del presente trabajo.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Generalidades.....	3
2.2. Agente etiológico.....	3
2.3. Epidemiología.....	7
2.4. Patogénesis.....	9
2.5. Manifestaciones clínicas.....	11
2.6. Diagnóstico de la leucosis bovina.....	12
2.7. Seroprevalencia e incidencia de leucosis bovina.....	16
2.8. Control de la leucosis bovina.....	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1. Lugar y fecha de trabajo experimental.....	19
3.2. Tipo de estudio.....	19
3.3. Animales.....	20
3.4. Alimentación.....	20
3.5. Variables independientes.....	20
3.6. Variables dependientes.....	20
3.7. Metodología.....	21
3.8. Análisis estadístico.....	21

IV. RESULTADOS	25
4.1. Seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado.....	25
4.2. Seroprevalencia del virus leucosis bovina por distritos.....	26
4.3. Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces.....	27
4.4. Seroprevalencia de leucosis bovina en función a la edad.....	29
4.5. Evaluación del factor riesgo de la leucosis bovina.....	30
V. DISCUSIÓN	32
5.1. Seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado.....	32
5.2. Seroprevalencia de leucosis bovina por distritos.....	33
5.3. Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces.....	34
5.4. Seroprevalencia de leucosis bovina en función a la edad.....	35
5.5. Evaluación del factor riesgo de la leucosis bovina.....	36
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VIII. ABSTRACT	39
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Seroprevalencia del virus leucosis bovina en los animales de la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta.....	25
2. Seroprevalencia del virus leucosis bovina por distritos en la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta.....	26
3. Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces en los distritos de la provincia de Leoncio Prado.....	28
4. Seroprevalencia de leucosis bovina por edades en los distritos de la provincia de Leoncio Prado.....	29
5. Evaluación del factor riesgo de leucosis bovina por medio de Odds Ratio los efectos de las variables lugares, razas y edades sobre la prevalencia de leucosis bovina en los 6 distritos de la provincia de Leoncio Prado.....	31
6. Total de animales muestreados por distritos y edades para la prueba de ELISA Indirecta.....	47
7. Total de animales muestreados por edades y razas para la prueba de ELISA Indirecta.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Seroprevalencia del virus leucosis bovina en los animales de la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta.....	25
2.	Seroprevalencia del virus leucosis bovina por distritos en la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta.....	27
3.	Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces en los distritos de la provincia de Leoncio Prado.....	28
4.	Seroprevalencia de leucosis bovina en función de la edad de los animales, en la provincia de Leoncio Prado.....	30

RESUMEN

El presente estudio se realizó en los distritos de Rupa Rupa, Hermilio Valdizan, Daniel Alomías Robles, Mariano Damazo Beraún, Padre Felipe Luyando y José Crespo y Castillo, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, Perú. El objetivo de la investigación fue determinar la seroprevalencia del virus de leucosis bovina en el ganado vacuno en la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta. 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, ($P < 0.05$). En conclusión, 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.

I. INTRODUCCIÓN

La crianza del ganado vacuno en la región Selva del país es una actividad de importancia, debido a que se genera recursos económicos para el sustento de familias y/o empresas dedicadas a esta actividad. Los factores que limitan la crianza y el proceso productivo es la sanidad. En consecuencia, las enfermedades parasitarias o infecciosas inciden sobre la producción y productividad de los animales.

La leucosis bovina es una enfermedad viral causada por el virus leucosis bovina (VLB). El agente causal es un retrovirus oncogénico exógeno de tipo "C" con marcada predilección por células del sistema inmune (linfocitos B). Asimismo, la enfermedad es de distribución mundial y es de tipo sub clínico y el periodo de incubación es largo. El VLB se transmite por la ingestión de calostro, leche, semen y los insectos hematófagos (SCHWARTZ y LEVY, 1994; OIE, 1996).

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

enfermedad del VLB no es zoonótica. Por tal motivo, se planteó la siguiente hipótesis. La seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado es menor a 50%. En consecuencia, se plantea el siguiente objetivo. Determinar la seroprevalencia del virus de leucosis bovina en el ganado vacuno en la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de ELISA Indirecta.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades

La leucosis bovina (LB) también llamada linfosarcoma, linfoma maligno, leucosis bovina enzootica; es un proceso neoplásico común en ganado bovino. Los primeros casos clínicos fueron observados en Bendixen en 1908 en Dinamarca (HUNG, 1984). La leucosis bovina es una enfermedad viral de distribución mundial, la enfermedad afecta principalmente a la especie *Bos taurus* y es producida por el virus de leucosis bovina (VLB). Los animales infectados con VLB en su mayoría permanecen clínicamente normales, una tercera parte inmortaliza a los linfocitos B, en este caso se observa una linfocitosis persistente y de 1 a 10 % desarrolla proceso tumoral (JONHSON y KANEENE, 1991b).

2.2. Agente etiológico

Según BLOOD y RADOSTITS (1992), la leucosis bovina es una enfermedad infecciosa viral sistémica, maligna y mortal que afecta al sistema retículo endotelial de los bovinos. La enfermedad es causado por el virus de leucosis bovina (VLB), este es un retrovirus oncogénico que pertenece a la familia de *retroviridae*, género *oncovirus tipo C mamífero*. Por otro lado los retrovirus se caracterizan, porque estos se integran al genoma de la célula hospedadora en forma de provirus (JOHNSON y KANEENE, 1991a).

Asimismo, el virus está compuesto por un nucleóide denso central de 60 a 90 nm de diámetro, el cual está rodeado de una envoltura de 30 nm. El RNA del virus tiene un alto peso molecular de aproximadamente 60 a 70S. El virus posee la enzima transcriptasa reversa que se activa en presencia de Magnesio (HUNG, 1984).

2.2.1. Genoma viral

El VLB es un virus ARN de dos cadenas simples (ARNss), de polaridad positiva y la secuencia completa de aminoácidos consta de 8714 nucleótidos. En el extremo del genoma viral se encuentran unidades repetidas largas (LTR), estos son poderosos elementos reguladores provirales de control celular, los cuales pueden desregular los genes de la célula hospedadora. Asimismo, en el genoma viral además de LTR existe tres genes principales (*gag*, *pol* y *env*) y se identificaron otros genes auxiliares denominados *prt*, *tax*, *rex*, *RIII* y *GIV* que están localizados a lo largo del genoma viral en forma alternada (SCHWARTZ y LÉVY, 1994).

2.2.2. Las proteínas del virus leucosis bovina

El VLB codifica muchas proteínas, pero las principales son las proteínas cápside, envoltura, enzima transcriptasa reversa y la proteasa viral. El gen *gag* codifica las proteínas de la cápside, esta por la acción de la proteasa viral se segmenta en proteínas maduras p12, p15 y p24. La p24 es la principal proteína de la cápside y la p12 forma parte del núcleo cápside y está asociado al genoma viral. La p15 es una proteína asociada a la proteína de la

cápside y la bicapa de lípidos de la membrana viral (JOHNSON y KANEENE, 1991c). El gen *pol*, codifica la transcriptasa reversa (RT), la porción N (amino) terminal de la RT, tiene actividad ARN dependiente de la ADN polimerasa celular, mientras que la porción C (carboxilo) tiene actividad de ARNasa. El gen *env*, codifica las glicoproteínas gp51 y gp30. La gp51, es la glicoproteína de la envoltura que se encuentra en la membrana del virus y su función es para adherencia del virus con el receptor de la célula blanco. La gp30, es una proteína transmembrana, a nivel de su segmento amino terminal se inserta en la bicapa de lípidos sujetando un complejo formado por ambas glicoproteínas en la envoltura viral y la membrana celular de la célula blanco (CALLEBAUT *et al.*, 1993; ORLIK y SPLITTER, 1996a). En resumen, las glicoproteínas están asociadas a la envoltura viral y son de importancia en el reconocimiento por los receptores celulares y en el mecanismo de fusión celular así como, en la inducción de los anticuerpos neutralizantes (SCHWARTZ y LÉVY, 1994).

2.2.3. Replicación viral

La replicación viral sigue el mismo patrón de los retrovirus. El proceso de replicación involucra la adherencia, penetración, desnudamiento, integración, transcripción, traducción y la salida de progenie viral. Luego que el virus ingresa al organismo animal por contacto directo, picadura de insectos, iatrogénicamente o por la leche. El virus ataca las células blancas del hospedero adhiriéndose mediante las glicoproteínas virales gp51 y gp30 a los receptores presentes en la membrana celular de las células blancas. Luego de la adherencia, el virus es internalizado dentro de las células por un proceso de

endocitosis. Después de la penetración del virus a la célula, la envoltura viral es removida por proteasas celulares y se libera el genoma viral, produciéndose una molécula híbrida ARN-ADN, luego es procesado a ADNds a partir de ARN viral con participación de la RT. La copia de ADN es denominado provirus, este forma un círculo e ingresa al núcleo donde se integra en el genoma (ADN) (JOHNSON y KANEENE, 1991c; FLOSS y RANDLE, 1993). El ADN viral utiliza el ADN polimerasa celular para producir la ARNm para la síntesis de proteínas virales y estas están bajo control de secuencias reguladoras de la transcripción viral localizadas en el LTR del provirus integrado. La formación de nuevos viriones, la síntesis de proteínas virales ocurre al mismo tiempo. La transcripción mediada por ARN polimerasa celular se inicia en la 5' y finaliza en la región 3' del LTR. Asimismo, las copias de ARN se asocian en parejas para formar el genoma diploide de los nuevos viriones. En la síntesis de proteínas se transcriben en ARNm mayores a partir del marco de lectura abierta (ORF), las proteínas producidas y el genoma viral son ensambladas dentro de los nuevos viriones, luego estos salen de la célula (ORLIK *et al.*, 1997).

2.2.4. El virus leucosis bovina y transformación celular

El mecanismo por el cual el virus leucosis bovina conlleva al desarrollo del tumor no es bien conocido. No se han demostrado rearrreglos con oncogenes como c-myc, c-src, etc., sin embargo, algunos experimentos han demostrado que la proteína *tax* del VLB así como el *tax* del HTLV-1 pueden actuar como oncogenes. Estudios de transfección del *tax* del VLB junto con el oncogen Ha-ras producen tumor en ratones. Así mismo, el ARNm que codifican

las proteínas *tax* y/o *rex* están presentes en animales con linfocitosis persistente o en aquellos en la fase tumoral. Por tanto, la transformación del linfocito o al menos en la fase inicial de la génesis del tumor (HAAS *et al.*, 1992).

2.3. Epidemiología

En condiciones naturales, solamente los vacunos y búfalos son susceptibles a ser infectados con VLB. Los ovinos y caprinos se pueden infectar solamente en forma experimental. En bovinos la infección por el VLB es permanente y no se han observado la recuperación espontánea, esto probablemente se debe a la localización del virus en los linfocitos lo cual limita la formación de respuesta inmune para detener la infección. Asimismo, el virus es capaz de sufrir cambios antigénicos periódicos para así escapar al control que ejercen los mecanismos de inmunidad. Por tanto, el animal infectado sigue siendo fuente de infección durante largos periodos y quizás para toda su vida independientemente de la existencia simultánea en el animal de anticuerpos específicos (BLOOD y RADOSTITS, 1992).

Las razas de vacunos de las especies *Bos taurus* y *Bos indicus* son susceptibles a la infección por el VLB. Sin embargo, en las razas lecheras se presentan altas tasas de infección viral más que en las razas de carne. La alta tasa de infección en vacunos lecheros se debe a la explotación intensiva y el confinamiento. En este tipo de crianza existe mayor contacto físico entre los animales. Asimismo, la permanencia de vacunos adultos en los hatos lecheros

(mayores de 3-5 años) posibilita la aparición de tumores en los animales infectados (JOHNSON y KANEENE, 1991a).

El VLB se halla en los linfocitos B y raramente como virus libre, para que ocurra una transmisión del virus se requiere el intercambio de estas células infectadas desde animales infectados hacia animales susceptibles. La transmisión del VLB, involucra la transfusión de sangre de animales infectados, secreciones corporales (calostro, leche, orina, heces, semen, saliva, secreciones nasales, fluidos urinarios y vaginales, secreciones traqueo-bronco-alveolares) contienen linfocitos B infectados. Por consiguiente, el contacto a través de estos fluidos entre los animales infectados y los susceptibles es un factor de alto riesgo para la transmisión del virus (JOHNSON y KANEENE, 1991b).

El VLB se transmite principalmente por vía horizontal el 80% de los casos. La transmisión ocurre generalmente por el manejo de los animales, estas actividades de manejo incluye descornes, castraciones, tatuajes, muesqueados, corte de pezones supernumerarios, dosificaciones, etc., en los cuales los instrumentos utilizados en estas actividades facilitan la transmisión del virus (EVERMANN, 1986 - 1987). Asimismo, el VLB también puede transmitirse en forma vertical de la madre a la cría esto ocurre en un 10% (MERCK, 2000). También la palpación rectal, sirve como un modo de transmisión del VLB por ser usual la utilización de guantes comunes con las cuales se pueden dañar la mucosa rectal (HOPKINS *et al.*, 1991).

El virus leucosis bovino posiblemente puede transmitirse por vectores como son los tábanos o moscas de los caballos (*Tabanus fuscicostatus*), mosquitos (*Anopheles sp*), moscas de establos (*Stomoxys calcitrans*), moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*) y garrapatas comunes (*Boophilus microphilus* e *Ixodes sp*) (FOIL *et al.*, 1989). Sin embargo, al parecer está limitada a zonas tropicales y subtropicales donde existe una alta incidencia de estos insectos y para que exista una efectiva transmisión es necesario 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 (WEBER *et al.*, 1988; JOHNSON y KANEENE, 1991b). Los insectos tienen un rol potencial en la transmisión del VLB. Pero, ésta es mínima debido que no se han determinado la cantidad mínima de insectos para la transmisión, porque además el virus al parecer no sobrevive largo tiempo dentro o sobre la superficie del vector. Sin embargo, las prácticas intensivas en el control y reducción de la población de estos insectos puede disminuir el riesgo de difusión del VLB (JOHNSON y KANEENE, 1991b; BLOOD y RADOSTITS, 1992; FLOSS y RANDLE, 1993).

2.4. Patogénesis

El grado de infección depende de la dosis del virus, la ruta de entrada y del sistema inmunológico del animal (JOHNSON y KANEENE, 1991a). Luego de la infección el virus se establece en el bazo y se replica en los linfocitos B, después de esta fase esplénica inicial el virus infecta otros

linfocitos en la sangre periférica y permanece en ellos en forma latente (BLOOD y RADOSTITS, 1992; SCHWARTZ y LÉVY, 1994). La permanencia del virus dentro de los linfocitos B le permite persistir sin ser eliminado por el sistema inmune del animal y ser estos las principales fuentes del virus (FLOSS y RANDLE, 1993; OLLIS, 1996). Luego de la infección la mayoría de los animales infectados permanecen saludables o progresan a estadios más avanzados caracterizados por un aumento permanente de linfocitos B (ORLIK y SPLITTER, 1996 b), alcanzando cuentas de hasta $100,000/\text{mm}^3$ (SCHWARTZ y LÉVY, 1994). La linfocitosis persistente (LP), es considerada una reacción benigna y es el resultado de la proliferación policlonal de linfocitos B maduros, pero citológico y cariotípicamente normales. El mecanismo por el cual se produce la LP no está bien elucidado. Sin embargo, hay evidencia que la resistencia y susceptibilidad genética al desarrollo de la LP estaría asociada a la presencia del gen *BoLA* asociado al Complejo de Histocompatibilidad Mayor Clase I (SCHWARTZ y LÉVY, 1994; ORLIK y SPLITTER, 1996a; VILLOUTA *et al.*, 1994).

La seroconversión y la presencia de anticuerpos de larga vida son los únicos indicios de la infección por el VLB (ORLIK y SPLITTER, 1996a); la cual puede resultar en: producción de anticuerpos sin otra evidencia de infección, producción de anticuerpos y linfocitosis persistente, en 30 a 70% de los animales infectados y en la producción de anticuerpos y linfosarcoma con o sin linfocitosis persistente (PYEON *et al.*, 1996).

2.5. Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación del virus de la leucosis bovina es de 1-8 años, y usualmente 1-10% de los animales mayores de 2 años de edad pueden desarrollar tumores (linfosarcomas), pero con un pico de incidencia entre los 4 a 8 años. El animal no muestra signos clínicos de enfermedad pero el estrés de parto, frío, calor u otra enfermedad pueden favorecer la expresión de la forma tumoral de la enfermedad (DARCEL, 1996; OLLIS, 1996 y SHIRLEY *et al.*, 1997).

Las diversas manifestaciones clínicas después de la infección viral es el resultado de procesos múltiples en que pueden estar involucrados factores genéticos, inmunológicos y medioambientales. La linfocitosis sin signos es el primer cambio que ocurre y muchas veces permanecen así por años sin que se observe un descenso del rendimiento animal. Sin embargo, en cierta proporción de animales aparece la enfermedad clínica (ROSADIO, 1993).

En el caso de un animal con linfosarcoma los signos clínicos dependen de la localización del tumor. Las células tumorales se originan en los tejidos linfáticos, pero estos pueden localizarse en todos los tejidos del organismo. Asimismo, las manifestaciones clínicas dependen del órgano afectado, de la tasa de crecimiento tumoral y del grado de difusión del proceso tumoral. En los vacunos adultos las lesiones se observan con mayor frecuencia en el abomaso, corazón, útero, ganglios linfáticos superficiales y viscerales. En los animales jóvenes en los ganglios linfáticos viscerales, bazo e hígado (SCHWARTZ y LÉVY, 1994; FLOSS y RANDLE, 1993 y OIE, 1996). Además,

en los animales afectados pueden observarse anorexia, pérdida de peso progresivo, disminución de la producción láctea, parálisis de los miembros posteriores, fiebre, protrusión del globo ocular, obstrucción gastrointestinal, timpanismo, falla cardíaca, LP, diarrea y constipación (OLLIS, 1996 y WELLS *et al.*, 1996). Estos animales generalmente son eliminados por baja producción de leche, debido en algunos casos a neoplasias en el área de la faríngea que impiden la deglución (SHIRLEY *et al.*, 1997).

2.6. Diagnóstico de la leucosis bovina

BLOOD (1992) y OLLIS (1996) mencionan que, no se puede establecer el diagnóstico únicamente observando los signos clínicos, por lo que se requiere la confirmación por el laboratorio realizando la histopatología de los tejidos afectados tomados en la necropsia o a través de biopsias.

2.6.1. Diagnóstico por detección y/o medición de anticuerpos anti virus leucosis bovina en el suero.

Las pruebas serológicas más utilizadas para el diagnóstico de la infección por VLB son la IDGA (Inmunodifusión en gel de agar), RIA (Prueba de radioinmuno ensayo) y ELISA (Prueba de inmunoabsorbancia ligado a Enzimas), que permiten identificar los anticuerpos producidos contra la proteína de cápside (p24) y la glicoproteína de envoltura (gp51) en los animales; mostrando niveles de sensibilidad y especificidad por encima del 90% (TIZARD, 1988; JOHNSON y KANEENE, 1991a).

2.6.1.1. Inmunodifusión en gel de agar (IDGA)

Es un método simple que se usa para detectar anticuerpos precipitantes. Como antígeno se emplea la gp51 que se difunde radialmente hacia los antisueros, y cuando estos encuentran el punto de equivalencia precipitan formando una línea visible. Esta prueba posee 93% de especificidad y 75% de sensibilidad para detectar anticuerpos en suero de animales individuales y es de gran utilidad en la mayoría de los laboratorios (TIZARD, 1995; OIE, 1996; MANCHEGO *et al.*, 1996).

2.6.1.2. Prueba de radioinmuno ensayo (RIA)

Esta prueba usa las proteínas p24 y gp51 como antígeno y emplea como marcador del anticuerpo o antígeno un radioisótopo radioactivo marcado y otro sin marcar compiten por sitios de unión en el anticuerpo. El complejo antígeno-anticuerpo son detectados por un contador gama. Esta prueba tiene una alta sensibilidad y especificidad similares a la prueba de ELISA; sin embargo, el costo del equipo y el riesgo de la salud de trabajar con radioisótopos son una limitante para su aplicación (FENNER *et al.*, 1993; JOHNSON y KANEENE, 1991a).

2.6.1.3. Prueba de inmunoabsorbancia ligada a enzimas (ELISA)

La técnica de ELISA, se fundamenta en la combinación de los antígenos y anticuerpos específicos con la fuerza altamente catalítica de las enzimas. Además es una reacción en la fase sólida, en el cual los

inmunoreactantes (antígenos o anticuerpos) son absorbidos en placas que pueden ser de poliestireno o polyvinil, mediante incubación entre 20 - 24 horas. Luego son añadidos las muestras para analizar, permitiendo la interacción antígeno - anticuerpo bajo incubación con temperatura controlada de 37 °C y con agitación continua. La adición de un conjugado que contiene un anticuerpo (anti-IgG) de la especie (bovina) marcado con una enzima, permite el reconocimiento del complejo antígeno – anticuerpo sobre la fase sólida. Este complejo formado por la reacción antígeno – anticuerpo – conjugado marcado es evaluado, mediante la adición de un sustrato de la enzima, y la consiguiente formación y acumulación de un producto coloreado, se cuantifica por espectrofotometría (TIZARD, 1988 y FAO/IAEA, 1993). Asimismo, la prueba de ELISA es más sensible (96.5%) que la inmunodifusión en gel de agar (75%) para la detección de anticuerpos contra el virus leucosis bovina; sobre todo en hatos con baja prevalencia (FLORES, 2000; MANCHEGO *et al.*, 1996).

2.6.2. Diagnóstico clínico.

El diagnóstico clínico de la enfermedad puede hacerse a través de la palpación rectal para detectar tumores internos que no se pueden observar por aumento de volumen de los ganglios periféricos, en especial los escapulares y poplíteos. Asimismo, es necesaria la confirmación mediante pruebas de laboratorio (BLOOD y RADOSTITS, 1992; OIE, 1996 y SHIRLEY *et al.*, 1997). Por otro lado, mediante el diagnóstico clínico se sospecha leucosis bovina cuando hay perturbaciones digestivas crónicas (meteorismo y diarrea),

hipertrofia de los ganglios, exoftalmia, anorexia y raramente paresia o parálisis posterior y placas cutáneas (MAURICIO y NOGUEIRA, 1979). Sin embargo, el diagnóstico clínico de los animales que presentan la forma tumoral franco, no ofrece grandes problemas. El examen clínico generalmente revela masas tumorales. La forma cutánea debe ser diferenciada de otras manifestaciones que causan nódulos en la piel tales como papilomatosis y picadas de insectos (LOMBARDO y FURTADO, 1989).

El diagnóstico de la forma tumoral, se hace mediante examen clínico, comprende el reconocimiento completo del animal, concediendo particular valor a la inspección de los ojos y la palpación de diversos grupos de ganglios linfáticos (ganglios del canal esofágico, entrada del pecho, pliegue de la rodilla, ubres, cutáneas y pelvianas). Los métodos utilizados para la identificación del virus se practican por lo común a partir de linfocitos periféricos basándose en el descubrimiento del enzima revertasa con un test radioactivo (TR). Asimismo, la fase clínicamente termina en casi todos los casos con la muerte después de un curso generalmente sub agudo o crónico que dura semanas o meses, puede presentarse estados de cansancio, inapetencia y trastornos digestivos, disminución de la producción de leche, alteraciones circulatorias, ruidos cardiacos anormales, son típicas las tumefacciones de diversos ganglios linfáticos, apreciables a simple vista palpables o en otros casos motivadoras de secuelas, características con insuficiencia respiratoria, trastornos de deglución exoftalmos, cojeras, etc. (BEER, 1983).

2.7. Seroprevalencia e incidencia de leucosis bovina

La leucosis bovina se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo. Sin embargo, el modo de transmisión del virus, grado de infección es diferente dentro de un hato, región y país (SCHWART y LÉVY, 1994). En ese sentido en el país se realizaron estudios en diferentes departamentos para determinar la prevalencia del BLV mediante la prueba de ELISA Indirecta, con este fin se utilizaron 547 muestras de sueros de bovinos procedentes de diferentes departamentos, donde se determinó 163 (30%) positivos y 384 (70%) negativos, con una especificidad y una sensibilidad de $93.01 \pm 4.18 \pm 1.3$ al determinar las prevalencias del BLV en los departamentos se obtuvo un 34% en Lima, 0% en Puno, 84% en Huánuco, 27% en Arequipa, 19% en Junín, 31% en Cajamarca y 33% en San Martín (MANCHEGO *et al.*, 1996).

En 1994, se reporto para el Perú una prevalencia de 23.6% en una población total de 1207 animales; además, se encontró prevalencia de 23.5%, 21.5% y 31% en la Costa, Sierra y Selva (Pucallpa – Ucayali) respectivamente (HUNG, 1984). Sin embargo, posteriores estudios realizados por MANCHEGO *et al.* (1994) en zonas como Arequipa, Huánuco, Junín y Lima la prevalencia del VLB tuvo un incremento significativo y la prevalencia encontrada a nivel de hatos individuales tuvo amplio rangos principalmente en Lima (16 - 90%) y Cajamarca (0 - 42%). Por otro lado, en posteriores estudios en la región Ucayali en el centro poblado de Obenteni se determinó una prevalencia de $12.5 \pm 3.3\%$ (DIAZ, 1999) y en la cuenca lechera de Arequipa su prevalencia es de 12.8% (FLORES, 2000).

Posiblemente el examen de una población mayor de animales, así como la alta sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA permitieron encontrar más animales reactivos al VLB. 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 y LÉVY, 1994).

CALLE (1999) menciona que, mediante el diagnóstico de leucosis bovina por los signos clínicos y hematológicos en la provincia de Leoncio Prado realizado en 252 bovinos (hembras) reportó 0.03% de incidencia, los animales de 4 a 6 años (59.5%) de incidencia y la raza de mayor incidencia fue la Brown Swiss (0.079 y 41.6%) seguida por la raza Holstein (14.5%) y el distrito de Rupa Rupa presentó mayor número de animales sospechoso al diagnóstico clínico.

2.8. Control de la leucosis bovina.

El control y la erradicación se puede realizar mediante la identificación de los animales reactivos positivos por medio de pruebas serológicas. Luego sacrificar a los animales infectados y paralelo conservando los rebaños cerrados. Por otro lado, se puede limitar la propagación del virus, modificando los factores de riesgo en la transferencia de sangre linfocitos por virus de leucosis bovina. No obstante, para la elaboración de programas de control de la leucosis bovina se requiere el entendimiento completo de su epidemiología y el modo de transmisión del VLB (JOHNSON y KANEENE, 1991d). Medidas

preventivas ayudarán reducir la incidencia y prevalencia de la enfermedad en los rebaños. El éxito de todo programa de control, depende de muchos factores que deben ser ejecutados severamente, estos incluyen: monitoreo serológico en los rebaños, el grado en el cual los productores adoptan las medidas recomendadas y la voluntad para eliminar del hato los animales que resulten positivos al VLB (OLLIS, 1996).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha del trabajo experimental.

El trabajo de investigación se realizó en los distritos de Rupa Rupa, Hermilio Valdizan, Daniel Alomias Robles, Mariano Damazo Beraún, Padre Felipe Luyando y José Crespo Y Castillo, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco - Perú. Geográficamente se halla ubicado entre 75°59'40" longitud Oeste; 09°17'8" a 09°17'48" latitud Sur y a una Altitud de 350 a 1900 m.s.n.m., con una humedad relativa de 80 a 84%, temperatura media anual mínima de 22.5°C y una máxima de 33°C y precipitación pluvial promedio de 3200 mm, ecológicamente esta clasificada en tres zonas de vida, bosque húmedo tropical (bh-T), bosque muy húmedo premontano tropical (bmh-PT), bosque pluvial premontano tropical (bp-PT).

El presente estudio se realizó de abril del 2001 a junio del 2001.

3.2. Tipo de estudio

THRUSFIELD (1990) menciona que, uno de los tipos de estudio es el experimental transversal que busca identificar la naturaleza y el modo de acción de los factores causales de la enfermedad; recogiendo los hechos ocurridos en un punto determinado del tiempo.

3.3. Animales

Los animales utilizados en el estudio fueron vacunos hembras de las razas Holstein (H), Brown Swiss (B.S), Cebú (C) y cruzadas (B.SxC, HxB.S, HxC). Las edades de los animales fueron mayores de un año de edad.

3.4. Alimentación

La alimentación de los vacunos en la provincia de Leoncio Prado es generalmente a base de pasturas naturales *Axonopus compressus* y *Paspalum conjugatum* y cultivadas *Centrocema pubescens*, *King grass*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria dictioneura*, *Brachiaria brizantha*, entre otros. Asimismo, en algunos predios los animales son suministrados sales minerales, alimento concentrado o sub productos agrícolas.

3.5. Variables independientes

- Lugares
- Razas o cruces
- Edad

3.6. Variables dependientes

- Presencia de anticuerpos en los sueros sanguíneos.

3.7. Metodología

3.7.1. Toma de Muestras

Las muestras de sangre se tomaron en horas de la mañana, directamente de la vena yugular externa utilizando agujas hipodérmicas N° 18 x

1 ½ en tubos de ensayo estériles previamente rotuladas. Luego se llevó al Laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para su procedimiento respectivo.

3.7.2. Análisis de muestras

En el Laboratorio de Sanidad Animal, las muestras de sangre se procedió a separar el suero por medio de centrifugación a 3000 rpm. Luego, el suero sanguíneo se colocó en frascos de 2 ml y se sometió a congelación. Luego, las muestras de suero se llevó a la ciudad de Lima al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su análisis mediante la prueba de ELISA Indirecta.

3.8. Análisis estadístico

3.8.1. Población (universo en estudio)

La Provincia de Leoncio Prado tiene aproximadamente en total 12,204 bovinos distribuidos en 6 distritos de la siguiente manera: Rupa Rupa 536, Hermilio Valdizan 468, Daniel Alomias Robles 427, Mariano Damaso Beraún 2025, Padre Felipe Luyando 1316 y José Crespo Y Castillo 7432 (AGENCIA AGRARIA LEONCIO PRADO, 1999).

3.8.2. Tamaño de muestra

El tamaño muestral se calculó tomando una prevalencia referencial de 84% (MANCHEGO *et al.*, 1996), con un nivel de confianza de 95% y un margen de error de 5%; usando la siguiente fórmula (GARCÍA, 1990).

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Donde:

- n : Tamaño muestral
 Z : 1.96 (95% de confiabilidad)
 p : Prevalencia referencial (0.84%)
 q : $1 - p$
 d : Error de precisión = 0.05

El tamaño muestral según la formula para estudio es 207 animales. Así mismo, el número de muestra se estratifico por distritos en estudio; utilizando la formula establecida por (HERNÁNDEZ *et al.*, 1991).

$$nh = \frac{n}{N} x Nh$$

Donde:

nh	=	Tamaño de muestra para cada estrato
n	=	Tamaño muestral
N	=	Tamaño de la población (universo en estudio)
Nh	=	Tamaño de la sub población (distritos).
nh Rupa Rupa	=	9
nh Hermilio Valdizan	=	8
nh Mariano Damaso Beraún	=	35
nh Daniel Alomias Robles	=	7
nh Padre Felipe Luyando	=	22
nh José Crespo Y Castillo	=	125
Total	=	207

3.8.3. Prevalencia aparente (PA)

La prevalencia de la enfermedad de leucosis bovina se determinó utilizando la siguiente fórmula (THURSFIELD, 1990).

$$P = \frac{\text{Número de individuos enfermos}}{\text{Población total en riesgo}} \times 100$$

$$P = \% \text{ de prevalencia}$$

3.8.4. Prevalencia corregida (PC)

La prevalencia corregida se obtuvo en base a los porcentajes de 96.5% de sensibilidad y 96% de especificidad (FLORES, 2000) y se calculó haciendo uso de la siguiente fórmula (AHLBOM y NORELL, 1990):

$$\hat{p} = \frac{p + \beta - 1}{\alpha + \beta - 1}$$

Donde:

\hat{p} = Prevalencia corregida

p = Prevalencia encontrada

β = Especificidad (96%)

α = Sensibilidad (96.5%)

3.8.5. Intervalos de confianza (IC)

Los resultados se expresan con un intervalo de confianza de 95 %, para lo cual se utilizó la siguiente fórmula (ARMITAGE y BERRY, 1987).

$$\text{Prevalencia} = p \pm z_{(95\%)} \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

3.8.6. Evaluación de los factores de riesgo.

Los resultados de seroprevalencia se presentan con intervalos de confianza del 95%. El efecto de las variables edad, raza y lugares de estudio sobre la presencia de la enfermedad, se evaluó haciendo uso de la regresión logística modelo de Odds ratio.

$$\ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \alpha + \sum \beta_i X_i$$

Donde:

- p = Probabilidad de ocurrencia de un evento
- X = Valor de exposición
- α, β = parámetros desconocidos

IV. RESULTADOS

4.1. Seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado

En el Cuadro 1 y Figura 1 se observa el análisis serológico de 207 muestras de suero sanguíneo mediante la prueba de ELISA Indirecta y el resultado obtenido fue de 25 positivos y 182 negativos dando una prevalencia corregida de $12.06 \pm 4.4\%$; en base a los porcentajes de sensibilidad (96.5%) y Especificidad (96%).

Cuadro 1. Prevalencia del virus leucosis bovina en vacunos de la provincia de Leoncio Prado mediante la prueba de ELISA Indirecta.

Animales muestreados ¹	Diagnóstico		Prevalencia (%)	
	Positivos ¹	Negativos ¹	aparente	corregida
207	25	182	12.08	12.06 ± 4.4

¹ Número de animales

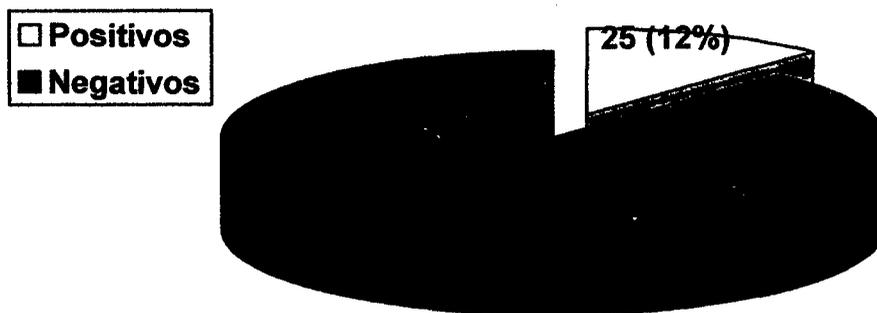


Figura 1. Seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado

4.2. Seroprevalencia del virus leucosis bovina por distritos

En el Cuadro 2 y Figura 2, se presenta la prevalencia del virus leucosis bovina corregida en animales por distritos, observándose una mayor prevalencia en Rupa Rupa ($33\pm 31\%$) seguido por Daniel Alomias Robles ($29\pm 33\%$), Mariano Damazo Beráun ($23\pm 14\%$), Padre Felipe Luyando ($9\pm 12\%$), José Crespo Castillo ($8\pm 5\%$) y el distrito de Hermilio Valdizan no presentó animales reactivos a la prueba.

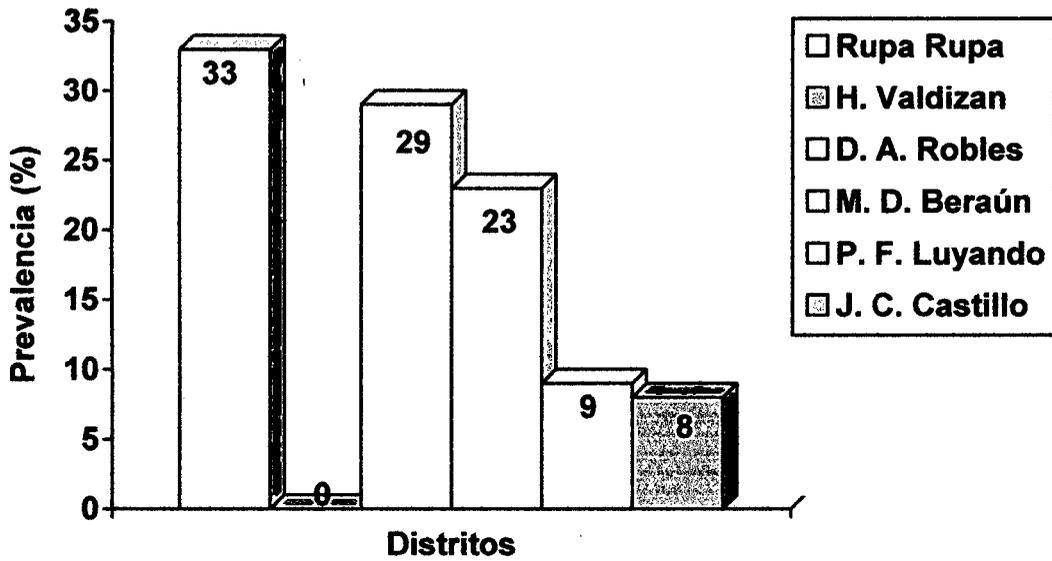
Cuadro 2. Seroprevalencia del virus leucosis bovina por distritos en la provincia de Leoncio Prado mediante la prueba de ELISA Indirecta.

Distritos	Muestras Obtenidas	Diagnóstico		PC ¹ ± IC ² (%)
		Negativos ³	Positivos ³	
Rupa Rupa	9	6	3	33 ± 31
H. Valdizan	8	8	0	0
D. A. Robles	7	5	2	29 ± 33
M. D. Beraún	35	27	8	23 ± 14
P.F. Luyando	22	20	2	9 ± 12
J. C. y Castillo	125	116	10	8 ± 5
TOTAL	207	182	25	12 ± 4.4

¹ Prevalencia corregida

² Intervalo de confianza

³ Número de muestras



2. Seroprevalencia del virus leucosis bovina por distritos en la provincia de Leoncio Prado mediante la prueba de ELISA Indirecta.

4.3. Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces

En el Cuadro 3 y Figura 3 se observa la prevalencia de la leucosis bovina por razas en la provincia de Leoncio Prado. La seroprevalencia de leucosis se observa en mayor porcentaje en los cruces de Holstein x Brown Swiss ($29 \pm 15\%$), seguido de las razas Brown Swiss (16 ± 8), Holstein ($11 \pm 5\%$), Brown Swiss x Cebú ($6 \pm 24\%$) y no presentándose reactores positivos en el cruce de Holstein x Cebú (0%).

Cuadro 3. Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces en los distritos de la provincia de Leoncio Prado.

Razas y Cruces	Total	Prueba de ELISA		PC ¹ ± IC ² (%)
		Negativos ³	Positivos ³	
Holstein	18	16	2	11 ± 15
Brown Swiss	86	72	14	16 ± 8
B.S x Cebú	86	81	5	6 ± 5
Holstein x B.S	14	10	4	29 ± 24
Holstein x Cebú	3	3	0	0
Total	207	182	25	12 ± 4.4

¹ Prevalencia corregida

² Intervalo de confianza

³ Número de muestras.

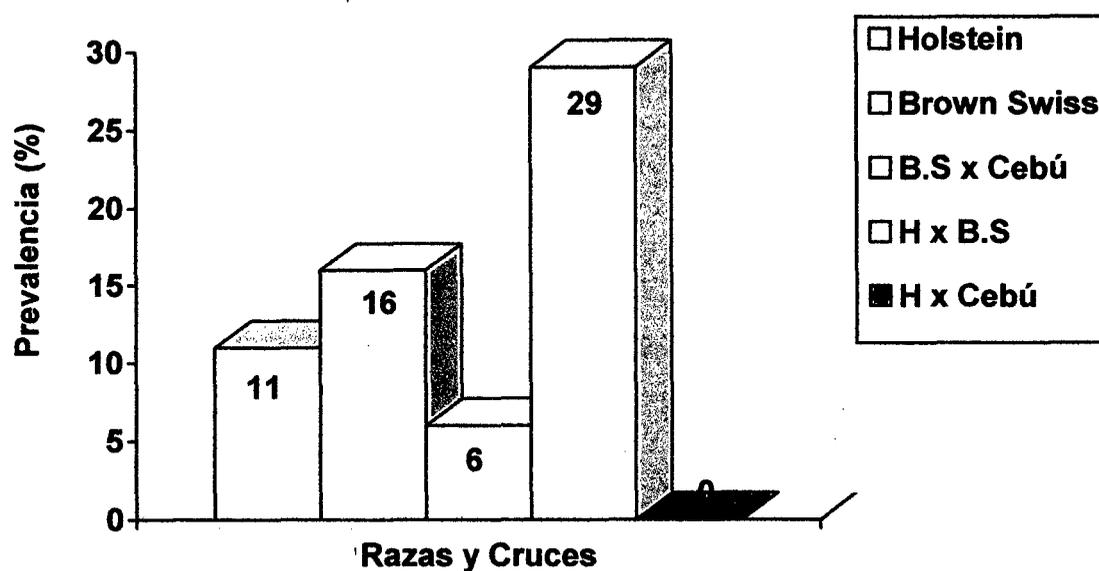


Figura 3. Seroprevalencia del virus leucosis bovina por razas y cruces en la provincia de Leoncio Prado.

4.4. Seroprevalencia de leucosis bovina en función a la edad

Según el Cuadro 4 y Figura 4, se observa la prevalencia de leucosis bovina en función a la edad de los animales, de la provincia de Leoncio Prado. La seroprevalencia de leucosis es en alto porcentaje en animales mayores de 5 años ($5\pm 7\%$), 6 años ($13\pm 13\%$), 7 años ($36\pm 25\%$), 8 años ($45\pm 22\%$), 9 años ($100\pm 7\%$) y 10 años ($100\pm 10\%$) y no registrándose reactivos a la prueba animales de 1 a 4 años de edad. El mayor porcentaje se registran en animales mayores de 7 años en adelante.

Cuadro 4. Seroprevalencia de leucosis bovina por edades en los distritos de la provincia de Leoncio Prado.

Edades (años)	Total	Prueba de ELISA		PC ¹ ± IC ² (%)
		Negativos ³	Positivos ³	
1	9	9	0	-
2	19	19	0	-
3	50	50	0	-
4	24	24	0	-
5	41	39	2	5±7
6	24	21	3	13 ±13
7	14	9	5	36±25
8	20	11	9	45±22
9	4	0	4	100±7
10	2	0	2	100±10
Total	207	182	25	12 ±4.4

¹ Prevalencia corregida

² Intervalo de confianza

³ Número de muestras

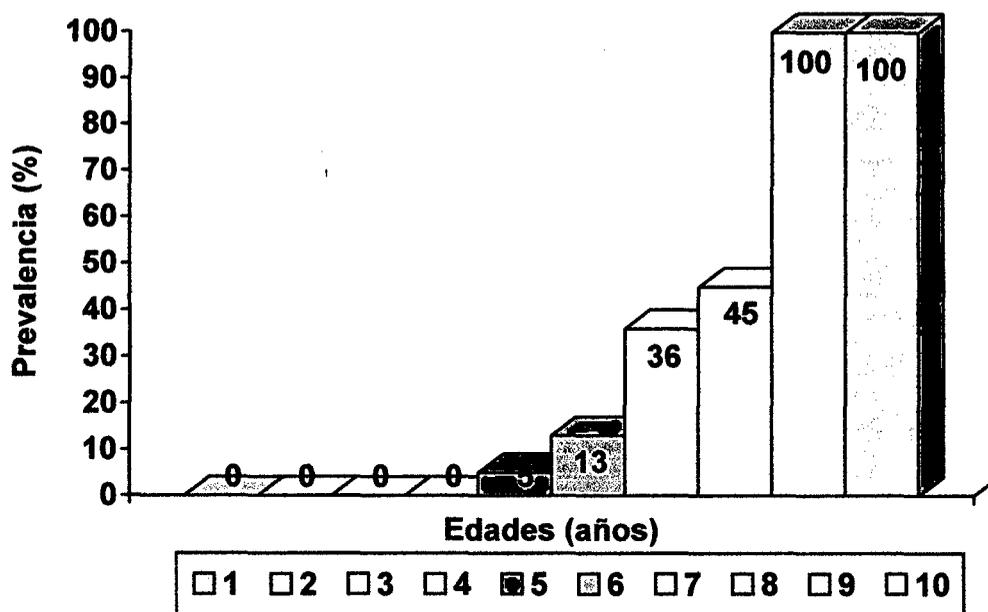


Figura 4. Seroprevalencia del virus leucosis bovina en función de la edad de los animales, en la provincia de Leoncio Prado.

4.5. Evaluación del factor riesgo de la leucosis bovina

El Cuadro 5 muestra las interacciones mediante la regresión logística, actuando como basal Hermilio Valdizan, edad 1 a 5 años; estos resultados indican que la variable lugar sobre la prevalencia de leucosis bovina es un factor de protección los expuestos adquirieron la enfermedad menos que los no expuestos. La variable edad es un factor de riesgo para la presentación de leucosis bovina, esto indica que los vacunos se infectan a temprana edad desarrollándose anticuerpos para dar positivo a la prueba serológica en edad adulta.

Cuadro 5. Evaluación del factor riesgo de leucosis bovina por medio de Odds Ratio los efectos de las variables lugares, razas y edades sobre la prevalencia de leucosis bovina en los 6 distritos de la provincia de Leoncio Prado.

Variables	Odds Ratio (OR)	IC 95% Odds Ratio	
		Inferior	Superior
D. A. Robles	1.64	0.86	31.47
M. D. Beraún	0.15	0.02	1.21
P. F. Luyando	0.09	0.01	1.45
J. C. Castillo	0.15	0.02	1.04
6 años de edad	1.53	0.31	7.52
7 años de edad	6.75	1.33	34.28
8 años de edad	19.42	4.60	81.95
B.S x C	0.23	0.05	1.11
H x B.S	2.05	0.42	9.88

V. DISCUSIÓN

5.1. Seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado

Según el Cuadro 1 Figura 1, la prevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado fue de $12\pm 4.4\%$ (25/207). Este resultado obtenido concuerda con los reportados por FLORES (1999) y DÍAZ (2000), pero, no concuerda con MANCHEGO *et al.* (1996) donde reporta prevalencia de 30% en promedio en los diferentes departamentos del país y del departamento de Huánuco reporta 84%. Asimismo, la prevalencia obtenida no concuerda con los obtenidos por HUNG (1984) donde reporta que la prevalencia de leucosis bovina en el país es de 23.6% y para la zona de Selva reportó prevalencia de la enfermedad de 31%. Sin embargo, la prevalencia obtenida en el estudio nos indica que no hay control zoonosanitario en la introducción de animales a la zona de Leoncio Prado por parte de los ganaderos, gobiernos locales y gobiernos regionales. Asimismo, la prevalencia de 12% de la enfermedad en la zona se debe a los factores de manejo, tipo de crianza semi extensiva y condiciones climáticas favorables para la proliferación de los insectos hematófagos los cuales facilitan la propagación de la enfermedad (JOHNSON y KANEENE, 1991b; HOOD, 1993)

5.2. Seroprevalencia de leucosis bovina por distritos

Según el Cuadro 2 y Figura 2, nos indica la prevalencia de leucosis bovina por distritos, observándose una mayor prevalencia en el distrito de Rupa Rupa ($33\pm 31\%$) seguido por Daniel Alomias Robles ($29\pm 34\%$), Mariano Damazo Beráun ($23\pm 14\%$), Padre Felipe Luyando ($9\pm 12\%$), José Crespo Castillo ($8\pm 5\%$) y el distrito de Hermilio Valdizan no presentó animales reactivos a la prueba de ELISA Indirecta. La leucosis bovina se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo. Sin embargo, la enfermedad dependiendo del modo de transmisión del virus, el grado de infección es diferente dentro de un hato, región y país (SCHWARTZ y LÉVY, 1994).

Los distritos con alta prevalencia de enfermedad existen factores de manejo, tipo de crianza, condiciones ambientales favorables e insectos hematófagos que facilitan la difusión del virus. Asimismo, los insectos hematófagos se asocian a un 3-16% de las infecciones en climas tropicales o estaciones de verano (JOHNSON y KANEENE, 1991b; HOOD, 1993). En consecuencia, el virus de leucosis bovino 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*) (FOIL et al., 1989). 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 (WEBER *et al.*, 1988; JOHNSON y KANEENE, 1991b). Sin embargo, estos tipos de insectos tienen un rol potencial en la transmisión del virus de leucosis bovina, las prácticas intensivas en el control y reducción de la población de estos insectos pueden disminuir el riesgo de difusión del virus de leucosis bovina (JOHNSON y KANEENE, 1991b; BLOOD y RADOSTITS, 1992; FLOSS y RANDLE, 1993).

5.3. Seroprevalencia de leucosis bovina por razas y cruces

En el Cuadro 3 y Figura 3 nos muestra la prevalencia de la leucosis bovina por razas en la provincia de Leoncio Prado, los resultados positivos se observan en mayor porcentaje en los cruces de Holstein x Brown Swiss ($29\pm 24\%$), seguido de las razas Brown Swiss ($16\pm 8\%$), Holstein ($11\pm 15\%$), y cruces Brown Swiss x Cebú ($6\pm 5\%$) y no presentándose reactores positivos en el cruce de Holstein x Cebú (0%). Estos resultados concuerdan con reportados por CALLE (1999) donde indica que la raza de mayor prevalencia para la leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado es la Brown Swiss (41.6%) seguida por la raza Holstein con (14.5%). En consecuencia, todas las razas de vacunos son susceptibles a la infección por el VLB. Pero, el virus leucosis bovina es mas prevalente en ganado lechero que en ganado de carne, esto podría deberse que el ganado lechero sufre mayor stress por la producción de leche, tipo de manejo, la edad promedio del ganado en el hato es mayor y el mayor contacto físico entre los animales (JOHNSON Y KANEENE, 1991a; BLOOD y RADOSTITS, 1992; EVERMANN, 1986-1987; HOPKINS *et al.*, 1991). Asimismo, la transmisión del virus de la leucosis bovina involucra la

transfusión de sangre, secreciones corporales contienen linfocitocis B infectados y el contacto a través de estos fluidos entre los animales infectados y los susceptibles es un factor de alto riesgo para la transmisión del virus (JOHNSON y KANEENE, 1991b; FLOSS y RANDLE, 1993; OLLIS, 1996). Sin embargo, el virus de leucosis bovina puede transmitirse en forma vertical de la madre a la cría (MERCK, 2000). En consecuencia, la alta prevalencia de la enfermedad mayormente en los cruces de Holstein por Brown Swiss puede deberse a que en la provincia de Leoncio Prado existe mayor cantidad de estos animales.

5.4. Seroprevalencia de leucosis bovina en función a la edad

Según el Cuadro 4 y Figura 4, muestra la prevalencia de leucosis bovina en función de la edad de los animales en la provincia de Leoncio Prado, los resultados positivos se encuentran en los animales de 5 años ($5\pm 7\%$), 6 años ($13\pm 13\%$), 7 años ($36\pm 25\%$), 8 años ($45\pm 22\%$), 9 años ($100\pm 7\%$) y 10 años ($100\pm 10\%$) y no registrándose reactores positivos a la prueba animales de 1 a 4 años de edad. Estos resultados obtenidos indican que la prevalencia de la enfermedad es alta en los animales mayores de 5 años. En consecuencia, la prevalencia alta en animales mayores de 5 años de edad se debe al periodo de incubación largo del virus. Asimismo, el periodo de incubación del virus es de 1 a 8 años (DARCEL, 1996; OLLIS, 1996 y SHIRLEY *et al.*, 1997).

5.5. Evaluación del factor riesgo de la leucosis bovina

El Cuadro 5, nos muestra las interacciones mediante la regresión logística, de las variables lugar, raza y edad; donde se encontró que la variable edad es un factor de riesgo ($P < 0.05$), para presentación de leucosis bovina. El resultado obtenido se debe a que la enfermedad aparece en animales de mayor edad, por el periodo de incubación largo del virus. Por lo tanto, los animales de mayor edad tienen mayor probabilidad de presentar los signos clínicos de la enfermedad y por otro lado, en el presente estudio se encontró que existe una mayor proporción de animales infectados del cruce de Holstein x Brown Swiss. Pero la raza no representa factor de riesgo para la presentación de la enfermedad. En base a estos resultados obtenidos, es necesario implementar monitoreo serológico de la leucosis bovina en las regiones del país, a fin de implementar medidas de control y erradicación de esta enfermedad (OLLIS, 1996).

VI. CONCLUSIONES

- ◆ La seroprevalencia de leucosis bovina en la provincia de Leoncio Prado es de $12 \pm 4.4\%$.
- ◆ La seroprevalencia de leucosis bovina según distritos en la provincia de Leoncio Prado fueron: Rupa Rupa, ($33 \pm 31\%$), Daniel Alomias Robles ($29 \pm 34\%$), Mariano Damazo Beráun ($23 \pm 14\%$), Padre Felipe Luyando ($9 \pm 12\%$), José Crespo Castillo ($8 \pm 5\%$) y el distrito de Hermilio Valdizan (0%).
- ◆ En el cruce de razas Holstein x Brown Swiss se observó alta prevalencia de la enfermedad $29 \pm 24\%$.
- ◆ El análisis de regresión logística muestra que las variables raza y edad representan factores de riesgo asociados a la enfermedad.

VII. RECOMENDACIONES

- ◆ El Ministerio de Agricultura (SENASA) debe controlar el movimiento de los animales.
- ◆ Realizar prueba serológica a los animales que ingresan a la zona para las enfermedades de leucosis bovina, brucelosis y tuberculosis.
- ◆ Realizar monitoreo serológico de enfermedades infecciosas prevalentes en la zona en forma permanente.
- ◆ Implementar programas de control y prevención de las enfermedades infecciosas.

VIII. ABSTRACT

"Seroprevalence of bovine viral leucosis in Leoncio Prado province"

The research was carried out in the districts of Rupa Rupa, Padre Felipe Luyando, Hermilio Valdizan, Mariano Dámaso Beraún, Daniel Alomia Robles and Jose Crespo and Castillo of Leoncio Prado province, Huanuco country in Peru. The objective of this investigation was to determine the seroprevalence of bovine leukosis virus in Leoncio Prado province, using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). We investigated bovine leukosis virus in 207 serum samples of cattle Holstein, Brown Swiss and Cebu breed and its crosses (Holstein x Brown Swiss, Holstein x Cebu, Brown Swiss x Cebu), from 1 to 10 years old. The seroprevalence of bovine leukosis virus in Leoncio Prado province was 12.42%, while being Rupa Rupa and Daniel Alomia Robles districts showed highest prevalence 39.31% and 29.33% respectively. Moreover, the cattle Holstein x Brown Swiss crosses showed highest prevalence (29.24%). The cattle older than five years showed highest prevalence than younger cattle. In conclusion, the seroprevalence of bovine viral leukosis in Leoncio Prado province was less than 50% ($P < 0.05$). Therefore, it have to realize a strict control in transport of animals from a country to another, and the farmers have to introduce to the zone animals negative to the bovine viral leukosis test.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGENCIA AGRARIA LEONCIO PRADO. 1999. III Resumen CENAGRO del departamento de Huánuco. Tingo María, Perú. 45 p.
- AHLBOM, A. y NORELL, S. 1990. Introduction to modern epidemiology. 2 ed. USA: Resources Inc. p. 5, 25-27.
- ARMITAGE, P. y BERRY, G. 1987. Statistical methods in medical research. 2 ed. Great Britain. Blackwell scientific publication. p. 115-120.
- BEER, J. 1983. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Zaragoza, España, Acribia. 453 p.
- BLOOD, D. y RADOSTITS, O. 1992. Leucosis viral bovina. En Medicina Veterinaria. 7 ed. México, Interamericana Mc Graw-Hill. Vol. 2. p. 878-886.
- CALLE, C. K. Y. 1999. Diagnóstico de leucosis bovina por los signos clínicos y hematológicos en la Provincia de Leoncio Prado. Tesis Ing. Zootenista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 60 p.
- CALLEBAUT, I., VONECHE, V., MANGER, A., FUMIÉRE, O., KRCHNAK, V., MERZA, M., ZAVADA, J., MAMMERICKV, M., BURNY, A. and PORTETELLE, D. 1993. Mapping of B-Neutralizing and T-helper cell epitopes on the bovine leukemia virus external glycoprotein gp51. J. Virol. p. 67, 5321-5327.

- DARCEL, C. 1996. A collection of essays on comparative medicine and a bibliography of references to the ELISA test. Ralliser animal health laboratories Ltd. Lethbridge, Alberta Canada. p. 91-98.
- DÍAZ, P. A. 1999. Prevalencia del virus de leucosis bovina (VLB) en el centro poblado menor de Obenteni Gran Pajonal-región Ucayali. Tesis Méd. Veterinario. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- EVERMANN, JF. 1986-1987. Update on bovine leucosis virus. Dep. Of Clinical Medicine and Surgery. College of Veterinary Medicine. Washington State University. p. 1-11.
- FAO/IAEA. 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 FAO/IAEA. Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Viena, Austria.
- FENNER, F., GIBBS, E., MURPHY, F., ROTT, R., STUDDERT, M., and WHITE, D. 1993. Veterinary virology. 2 ed. Academic Press. Inc. USA. p. 561-576.
- FLORES, A. 2000. Seroprevalencia del virus de la leucosis bovina en la cuenca lechera de Arequipa. Tesis Méd. Veterinario. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 33 p.
- FLOSS, J. y RANDLE, R. 1993. Bovine leukosis. Agricultural publication. College of Veterinary Medicine, University of Missouri, USA, Colombia. p: 4

- FOIL, L., FRENCH, D., HOYT, P., ISSEL, C., LEPRINCE, D., McMANUS, J. and SEGER, L. 1989. Transmission of bovine leukemia virus by *Tabanus fuscicostatus*. Resumen en JAVMA. 195(11):1583.
- GARCIA, Z. 1990. Epidemiología veterinaria y salud animal. 1 ed. México, Limusa. 213 p.
- GEOFFREY, W. 1991. Diccionario enciclopédico de veterinaria. 16 ed. Barcelona, TEXT. 912 p.
- HASS, L., DIVERS, T. and COSEY, W. 1992. Bovine leukemia virus gene expression *in vivo*. Virol. 66, 6223-6225.
- HERNÁNDEZ, S.R., FERNÁNDEZ C.C., BAPTISTA L.P. 1991. Metodología de la investigación. 2 ed. Mc Graw-Hill. 505 p.
- HOOD, L. 1993. Bovine leukosis. Vet. Sci. cooperative extension the Pennsylvania State, University Park Pennsylvania. 4 pages. Pennsylvania, USA.
- HOPKINS, SG., DIGIACOMO, RF., EVERMANN, JF., CHRISTENSEN, JD., DEIELHOFF, MS. and MICKELSEN, WD. 1991. Rectal palpation and transmission of bovine leukemia virus in dairy cattle. JAVMA 199(8): 1035-1038.
- HUNG, A. 1984. Infección a virus de la leukemia en bovinos y felinos. Departamento de Medicina y Cirugía Veterinaria. Programa de Medicina Veterinaria. Lima, Perú. UNMSM. p. 34-36.
- JOHNSON, R. and KANEENE, JB. 1991a. Bovine leukemia virus. Part I. Descriptive epidemiology. Clinical manifestations and diagnostic test. The compendium. Continuing education 12(13)2:315-327.

- JOHNSON, R. and KANEENE, JB. 1991b. Bovine leukemia virus. Part II. Risk factors of transmission. The compendium. Continuing education 10(13) 4:681-691.
- JOHNSON, R. and KANEENE, JB. 1991c. Bovine leukemia virus. Part III. Zoonotic potencial, molecular epidemiology, and an animal. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 13(10):1631-1639.
- LOMBARDO B, FURTADO E. 1989. XIII Jornadas Uruguayas de Buiatria. Paysandú, Uruguay. 305 p.
- MANCHEGO, A., SANDOVAL, N., GONZALES, A., RIVERA, H., ROSADIO, R. 1996. Comparación de ELISA inmunodifusion para el diagnóstico de leucosis bovina. XIII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. Lima, Perú.
- MAURICIO, W., NOGUEIRA C. 1979. Enfermedades infecciosas en los mamíferos domésticos. Sau Paulo, Brasil, Vareta. 823 p.
- MERCK. 2000. Manual Merck de veterinaria. 5 ed. Barcelona, España. Océano Centrun. 2558 p.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA – INRENA. 1995. Mapa ecológico del Perú; Guía explicativa. Lima, Perú.
- OFICINA INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE). 1996. Enzootic bovine leucosis. Manual of standards for diagnostic test and vaccines. World organization for animal health. 3 ed. p. 276-280.
- OLLIS, G. 1996. Enzootic bovine leucosis. Food and development. Home page adapted from Agri-fax 663-7.

- ORLIK, O., BAN, J., HLAVANTY, J., ALTANER, C., KETTMANN, R., PORTETELLE, D. and SPLITTER, G. 1997. Polyclonal bovine sera but not virus-neutralizing monoclonal antibodies block bovine leukemia virus (BLV) gp51 binding to recombinant BLV receptor BLVRcp1. *J. Virol.* 71 (4):3263-3267.
- ORLIK, O. and SPLITTER, G. 1996a. Progression persistent lymphocytosis and tumor development in bovine leukemia virus (BLV)-infected cattle correlates with impaired proliferation of CD4⁺ T cells in response to *gag*- and *env*-encoded BLV proteins. *J. Virol.* 70(11): 7584-7593.
- ORLIK, O. and SPLITTER, G. 1996b. Optimization of lymphocyte proliferation assay for cells with high spontaneous proliferation in vitro: CD4⁺ T Cells proliferation in bovine leukemia virus infected animals with persistent lymphocytosis. *J. Immunol. Methods.* p. 199, 159-165.
- PYEON, D., OREILLY, L. and SPLITTER, G. 1996. Increased interleukin-10 mRNA expression in tumor-bearing or persistently lymphocytotic animals infected with bovine leukemia virus. *J. Virol.* 70(8): 5706-5710.
- ROSADIO, R. 1993. Los retrovirus; Una revisión biocronológica. *Rev. Pec. Inv. IVITA-Perú.* 6 (1): 8-16.
- SCHWARTZ, I. and LEVY, D. 1994. Pathobiology of bovine leukemia virus. *Vet. Res.* 25 (6): 521-536.
- SHIRLEY, J., SMITH, J., STOKKA, G. and SCOPY, R. 1997. Bovine leucosis in dairy production management update. *Compend. In educ.* 19(5):651-654.

- THRUSFIELD, M. 1990. Epidemiología veterinaria. Zaragoza, España, Acribia S.A. 339 p.
- TIZARD, DI.1988. Inmunología veterinaria. 2 ed. México, Nueva Editorial Interamericana. 412 p.
- TIZARD, DI.1995. Inmunología veterinaria. 5 ed. México, Mc Graw-Hill Interamericana. 242 p.
- VILLOUTA, G., DURÁN, Y., CÉSPED, W., MONTES, G. 1994. Dinámica de la infección con el virus de la leucosis bovina en un predio lechero de Chile. Arch. Méd. Vet. 26(2): 63-73.
- WEBER, A., MOON, R., SORENSEN, D., BATES, D., MEISKE, J., BROWN, C., ROHLAND, N., HOOKER, E. and STRAND, W. 1988. Evaluation of stable fly (*Stomoxys calcitrans*) as a vector of enzootic bovine leucosis. Am. J. Vet. Res. 49(9):1543-1549.
- WELLS, D., ALSTAD, R., JOHNSON, R. and KOPRAL, C et al., 1996. High prevalence of bovine leucosis virus in U.S. dairy herds. NAHMS.

ANEXO

Cuadro 6. Total de animales muestreados por distritos y edades para la prueba de ELISA.

Distritos	Edades (años)										Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Rupa Rupa	0	0	3	1	2	2	1	0	0	0	9
H. Valdizan	0	0	6	1	1	0	0	0	0	0	8
D. A. Robles	0	0	0	1	2	2	0	1	1	0	7
M. D. Beraún	1	0	7	2	8	4	7	4	1	1	35
P.F. Luyando	0	0	9	3	6	1	1	1	0	1	22
J.C.Y Castillo	8	19	25	16	22	15	5	14	2	0	126
Total	9	19	50	24	41	24	14	20	4	2	207

Cuadro 7. Total de animales muestreados por edades y razas para la prueba de Elisa.

Edades (años)	Razas y Cruces					Total
	Holstein	Brown Swiss	B.S x C	HxB.S	HxC	
1	1	2	6	0	0	9
2	0	13	6	0	0	19
3	4	18	25	2	1	50
4	4	9	10	1	0	24
5	3	17	15	6	0	41
6	3	9	11	1	0	24
7	2	5	4	3	0	14
8	1	8	8	1	2	20
9	0	3	1	0	0	4
10	0	2	0	0	0	2
Total	18	86	86	14	3	207

ANEXO 1. Formato del examen serológico de leucosis bovina.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

Departamento Académico de Ciencias Pecuarias

D	M	A

Coordinación			
Provincia		Distrito	
Localidad		Caserío	
Departamento		Zona de vida	
Antecedentes prediales			
Nombre del propietario			
Nombre del fundo			
Tipo de crianza	Intensiva		
	Extensiva		
	Semi extensiva		
Nº de animales existentes			

Identificación del animal

Nombre o número	edad	raza o cruce	Resultado serológico		Observaciones
			Positivo	Negativo	

 Tesista

Bach. Modena López Eric

ANEXO 2. Formato del diagnóstico clínico de leucosis bovina

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**FACULTAD DE ZOOTECNIA****Departamento Académico de Ciencias Pecuarias**

D	M	A

Reseña del animal

1. Propietario		2. Lugar	
3. Especie		4. Nombre o número	
5. Raza		6. Edad	
7. Partos		8. Peso	

Estado general

9. Temperatura	Fiebre	
	Normal	
10. Piel placas cutáneas		
11. Ganglios linfáticos	Hipertrofiados	
	Normales	
12. Alteraciones digestivas crónicas	Diarrea	
	Timpanismo	
13. Mucosas Visibles	Normales	
	Ictericia	
14. Anorexia	Paresia o parálisis	
15. Exoftalmos		

Tesista
Bach. Modena López Eric