

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LEUCEMIA BOVINA EN
BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN UNA
FINCA DEL MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA,
SUROCCIDENTE DE GUATEMALA, 2018**

MIRNA LUCRECIA PÉREZ GARCÍA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2019

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LEUCEMIA BOVINA EN
BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN UNA
FINCA DEL MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA,
SUROCCIDENTE DE GUATEMALA, 2018**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTANDO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

MIRNA LUCRECIA PÉREZ GARCÍA

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO	M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO	Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I	M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II	Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III	Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV	Br. Yasmín Adalí Sian Gamboa
VOCAL V	Br. Maria Fernanda Amézquita Estévez

ASESORES

M. SC. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ GUERRERO

M.V. VIVIAN LARIZA PINEDA ALVIZURIS

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LEUCEMIA BOVINA EN BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN UNA FINCA DEL MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA, SUROCCIDENTE DE GUATEMALA, 2018

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS:** Por tantas bendiciones recibidas.
- A MIS PADRES:** Por todo su amor incondicional y el apoyo que me han brindado siempre.
- A MI FAMILIA:** Por ser un pilar importante en mi vida.
- A MIS CATEDRÁTICOS:** Que contribuyeron a mi formación a lo largo de estos años de estudio.
- A LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA:** Por todas las enseñanzas y por proveerme las herramientas necesarias para mi formación profesional.
- A MIS ASESORES:** M. Sc. Fredy González y M.V. Vivian Pineda por todo el apoyo brindado durante el desarrollo de mi trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTOS

- A DIOS:** Quien me dio la vida y por su infinita bondad.
- A MIS PADRES:** Por darme el valor para enfrentar la vida y brindarme las herramientas para alcanzar todas mis metas. Gracias por creer y confiar en mí.
- A MIS HERMANOS(A):** Por ser mis eternos compañeros de vida, mis ejemplos y quienes primero me dieron su apoyo y creyeron en mis sueños.
- A MIS ABUELOS:** Por ser mi ejemplo de fortaleza y dedicación.
- A MIS TÍOS (A):** Por todo el apoyo y cariño demostrado a lo largo de mi vida.
- A:** Universidad de San Carlos de Guatemala por convertirse en mi segundo hogar y enseñarme que todo esfuerzo tiene su recompensa.
- A MIS ASESORES:** M. Sc. Fredy González y M.V. Vivian Pineda, por toda la paciencia y dedicación para que esta meta fuera una realidad.

A MI EVALUADOR:

M. V. Heliodoro García por su aporte a mi investigación y al apoyo que me ha brindado.

A MIS CATEDRÁTICOS:

Por compartir todas sus enseñanzas y conocimientos.

A MIS AMIGOS:

Por su sincera amistad, por escucharme, discutir y compartir conmigo. En especial Giovanni Marín, Wilman Sosa, José Castañeda, Mario Castaneda, Lilian Reyes, Arlen Paz, Belsy Quebedo, Daniel Luis, Vivian Pineda, Madeleine Reyes, Faby Ortega, José Paniagua, Sergio Veliz y Gustavo Taracena. A mis amigos de Pivs Mario Rojo, Gretel Samayoa, Hugo Díaz, Byron Pineda, y muchos otros más.

ELENA CHANG:

Por apoyarme tanto y brindarme su cariño.

CARLOS CHINCHILLA:

Por ser mi gran jefe, la persona que me brindo su amistad y compartió su sabiduría conmigo.

DUGLAS RUANO:

Por brindarme su amistad y confiar en mí como profesional.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS	3
2.1.	Objetivo General	3
2.2.	Objetivos Específicos.....	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1.	Búfalo de agua.....	4
3.1.1.	División taxonómica del Búfalo.....	4
3.1.2.	Generalidades del búfalo de agua.....	4
3.1.3.	Importancia económica para el hombre.....	6
3.1.4.	Distribución.....	7
3.1.5.	Situación Actual en Guatemala	7
3.1.6.	Origen en Finca	7
3.1.7.	Entorno natural y componentes animales en Finca.....	8
3.2.	Leucemia bovina.....	8
3.2.1.	Sinónimos.....	8
3.2.2.	Definición.....	8
3.2.3.	Historia	9
3.2.4.	Distribución.....	9
3.2.5.	Etiología.....	10
3.2.6.	Presentación.....	12
3.2.7.	Transmisión	12
3.2.8.	Signos clínicos y Lesiones.....	13
3.2.9.	Patogenia	14
3.2.10.	Patogenia de la linfocitosis	15
3.2.11.	Patogenia de los tumores	15
3.2.12.	Diagnóstico.....	15

3.2.13. Diagnóstico diferencial.....	17
3.2.14. Tratamiento y Control	17
3.3. La técnica de ELISA.....	17
3.3.1. Fases de un ensayo ELISA	18
3.3.2. Determinación de antígenos.....	19
3.3.3. Determinación de anticuerpos	19
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Materiales	21
4.1.1. Recursos Humanos	21
4.1.2. Recursos Biológicos	21
4.1.3. Recursos de campo.....	21
4.1.4. Recursos de laboratorio.....	21
4.1.5. Gabinete	22
4.2. Metodología	22
4.2.1. Localización del estudio.....	22
4.2.2. Población del estudio.....	22
4.2.3. Diseño de estudio	22
4.2.4. Análisis estadístico	22
4.2.5. Variables analizadas.....	22
4.2.6. Metodología de campo	23
4.2.7. Metodología de laboratorio	23
4.2.8. Descripción del proceso y principio	23
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
5.1. Resultados.....	25
5.2. Análisis y Discusión de resultados	26
VI. CONCLUSIONES.....	30
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. RESUMEN	32
SUMMARY	33
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

X.	ANEXOS	40
10.1.	Anexo 1. Hoja de Examen Clínico	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.

Resultados de la Prueba de ELISA..... 25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.

Transmisión de Leucosis Bovina..... 13

Figura 2.

Resultados en % según la prueba de ELISA 25

I. INTRODUCCIÓN

La crianza de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) ha incrementado en Guatemala en los últimos años, gracias a su rusticidad y fácil adaptabilidad a diferentes climas y terrenos ha permitido que su crianza se haya establecido en varios departamentos del territorio nacional, convirtiéndose en un nuevo negocio agropecuario con bajos costos de producción.

En Guatemala la información sobre crianza de Búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) es escasa o inexistente, pero en el censo agropecuario realizado por el Instituto Nacional de Estadística (INE) en el 2003, donde se muestrearon un total de 95 fincas, se registraron un total de 1948 cabezas de búfalos. Repartidas en haciendas ubicadas, en su mayoría, en Escuintla, Retalhuleu, Petén y Alta Verapaz.

Actualmente en el país se dispone de escasa información sobre la producción bufalina y las enfermedades que los afectan. Por esta razón es de suma importancia investigar sobre estos aspectos. En este caso se pretendía determinar la presencia de anticuerpos del virus de Leucemia bovina en búfalos de agua por medio de la prueba de ELISA.

La leucemia bovina (LB) es una enfermedad infecciosa, crónica, viral, contagiosa, que afecta naturalmente al ganado bovino. La enfermedad está reportada en casi todo el mundo. En América en general se considera que la enfermedad está presente en forma clínica, en tanto que en la Unión Europea si bien existe, se encuentra en proceso de erradicación.

En este estudio se buscó generar información de la situación sanitaria del búfalo de agua, aportar datos para los planes profilácticos de esta especie y que se puedan tomar como referencia en los estudios epidemiológicos de la especie en el país. Ya que este tipo de enfermedades causan grandes pérdidas económicas en las explotaciones ganaderas y al haber un diagnóstico deficiente sin respaldo de

pruebas de laboratorio se influye aún más en la persistencia de la prevalencia dentro de los hatos nacionales.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Contribuir al diagnóstico de enfermedades infecciosas en Búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) criados en el Suroccidente de Guatemala.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de anticuerpos del virus de Leucemia bovina en búfalos de agua por medio de la prueba de ELISA Indirecto de Competición.
- Establecer, si los resultados fuesen positivo a leucemia bovina, la posible relación entre la presencia de anticuerpos contra leucemia bovina y la manifestación de signos clínicos en el búfalo de agua.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Búfalo de agua

3.1.1. División taxonómica del Búfalo

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Artiodactyla

Familia: Bovidae

Subfamilia: Bovinae

Género: *Bubalus*

Especie: *B. bubalis*

(Linnaeus, 1958)

3.1.2. Generalidades del búfalo de agua

El búfalo de agua se caracteriza por sus dimensiones. Su cuerpo es corpulento, fornido y con el vientre grande. La altura del macho se estima entre 1.29 a 1.33 m, y la hembra entre 1.20 y 1.27 m. El búfalo domesticado pesa entre 300 y 550 kg. Tienen una longitud corporal de 2.40 a 3 m. y una longitud de cola de 0.6 a 1 m. En ambos casos, la hembra es más pequeña y menos pesada que el macho. Su rostro es largo y estrecho, con orejas pequeñas y cuernos grandes (en ambos sexos). Por lo general, los búfalos de pantano tienen cuernos más grandes y más largos que el ganado. El tamaño y la configuración del cuerno varían en gran medida. Generalmente se extienden hacia afuera y luego se curvan hacia atrás en un semicírculo, pero permanecen en el plano de la frente (Giorgio, 2017). Sus patas a menudo son blancas hasta la rodilla y tienen grandes patas con pezuñas

extendidas. El pelaje es ralo, largo y ceniciento, de gris a negro. Los búfalos de agua son diurnos y nocturno. Son más sensibles al calor que la mayoría de los bóvidos porque tienen menos glándulas sudoríparas. Por lo tanto, deben revolcarse en el barro para enfriarse. Revolcarse también sirve para ayudar al animal a protegerse de los insectos que pican (Roth, 2004).

Es un animal social que conforma grupos de hasta 20 individuos o más. Estas manadas ocupan un rango hogareño que proporciona áreas para alimentarse, beber, revolcarse y descansar. Existe una jerarquía de dominación dentro de estos grupos y el líder es una hembra vieja (Roth, 2004; Giorgio, 2017).

Hay dos tipos principales de búfalos de agua: el de pantano y el búfalo de río. Los búfalos de río se crían como animales lecheros, pero también expresan buenas cualidades cárnicas y se pueden usar para propósitos triples y productivos. En comparación con los búfalos de pantano, los búfalos de tipo fluvial tienen de 2 a 4 veces mayor rendimiento de leche por lactancia, pero menor contenido de grasa en la leche. También tienen un período de lactancia más largo que el búfalo de pantano, que sin embargo es más corto en comparación con el ganado bovino (Giorgio, 2017).

Estos tipos de búfalos incluyen diferentes razas y están ampliamente distribuidos en muchos países del mundo, ya sea como raza pura o cruces (Giorgio, 2017).

La vida reproductiva activa de los toros de búfalo es de 3 a 10 años. Por lo general, la actividad sexual normal aumenta hasta los 12 y más años de edad, pero después de aproximadamente el séptimo año, el potencial sexual comienza a disminuir y después de los 15 años se observan rasgos seniles. La edad del primer estro de las vacas de búfalo varía dentro de límites extremadamente amplios dependiendo de la raza, las condiciones de manejo, el nivel de nutrición, la estación y otros factores (Giorgio, 2017).

La edad al primer parto del búfalo de río está entre los 34 a 54 meses. En términos de período de servicio, las vacas de búfalo tienen un período de servicio considerablemente largo que suele ser de más de 100-120 días. Las búfalas también tienen un embarazo más prolongado dentro de los límites de 281 a 334 días, de 300 a 320 días para la mayoría de ellas y algunos varían de 299 a 346 días (Giorgio, 2017).

El búfalo del pantano tiene una excelente capacidad de arrastre, pero la intensidad de su utilización varía en gran medida en diferentes países. Por lo general, el uso inicia aproximadamente a los 4 años de edad y llega a su fin a los 12 años y en algunos casos a los 20 años. El tiempo de trabajo diario promedio es de 5 horas y el registro anual promedio es de entre 20 a 146 días. En algunos casos, los toros son castraos antes de su entrenamiento preliminar (Giorgio, 2017).

3.1.3. Importancia económica para el hombre

La domesticación del búfalo de agua hace 5,000 años los ha convertido en animales económicamente importantes. La especie bufalina, ha escalado peldaños importantes para suplir las necesidades de proteína de alto valor biológico (Carne y leche) en áreas donde las condiciones son inhóspitas para el ganado vacuno, lo cual hace que gane espacio como una alternativa biológica potencial. Su fácil manejo, alta capacidad de aprovechamiento de pastizales toscos de baja calidad y una tolerancia natural a diversas enfermedades, la hacen una alternativa sustentable de producción animal. Proporcionan más del 5% del suministro mundial de leche. Su leche es extremadamente rica, tiene menos agua y más grasa, lactosa y proteínas que la leche de vaca. Se utiliza para hacer mantequilla, aceite de mantequilla, queso de alta calidad y varios otros productos. Su carne es muy tierna y apetitosa. Son una bestia de carga digna de mención en gran parte de su rango. Los búfalos de agua son equivalentes a los tractores en el sudeste de Asia, que proporcionan entre 20% y 30% de la energía de una granja; también sirven como medio de transporte, y su estiércol se usa como fertilizante (Roth, 2004; Borghese, 2005).

3.1.4. Distribución

La población mundial de búfalos de agua es de alrededor de 168 millones de cabezas: más del 95% se encuentra en Asia con 161 millones (95.8%); el 2% en África, particularmente en Egipto con 3.7 millones (2.2%); otro 2% en América del sur con 3.3 millones (1.9%), y menos del 1% en Australia y Europa con 40,000 (0.02%) y en Europa con 500,000 (0.3%) respectivamente. Los países con la mayor cantidad de búfalas lecheras son la India, Pakistán, China, Egipto y Nepal. (FAO, 2018; Giorgio, 2017).

En América, por ejemplo, según datos recientes la población de búfalos en Venezuela es de 200,000 y 70,000 en Argentina. La población actual en todo Estados Unidos es de aproximadamente 3, 415,000 (Giorgio, 2017).

3.1.5. Situación Actual en Guatemala

Los primeros búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) vinieron al país procedentes de Trinidad y Tobago, durante el gobierno de Romeo Lucas García para su reproducción en una finca nacional de Alta Verapaz; después varios ganaderos obtuvieron ejemplares para llevarlos a haciendas del suroccidente del país. En Guatemala existen las razas Buffalipso, trinitaria y cruce con ejemplares Murrah, Jafarabadi y Mediterránea. (Gómez, 2015).

La información poblacional es escasa, solo se cuenta con información del censo del Instituto Nacional de Estadística (INE) del 2003, que indica que se muestrearon un total de 95 fincas que registraron un total de 1948 cabezas de búfalos. Repartidas en haciendas ubicadas, en su mayoría, en Escuintla, Retalhuleu, Peten y Alta Verapaz (Gómez, 2015).

3.1.6. Origen en Finca

El pie de cría con el que inicio la Finca fue con 6 ejemplares adquiridos en el año de 1980. Durante los siguientes años, se han introducido las razas Jafarabadi, Murrah y Mediterráneo. El objetivo siempre fue el de agregar genética nueva al hato de animales de la explotación (Vélez, 2014).

3.1.7. Entorno natural y componentes animales en Finca

La finca está ubicada en el municipio de Colomba Costa cuca del departamento de Quetzaltenango, el clima es cálido y la mayor parte del tiempo es lluvioso. La Finca cuenta con grandes extensiones de tierra utilizadas para el cultivo de café, plantaciones de hule y ecoturismo. Cuenta además de los búfalos con una producción de ovejas. (Vélez, 2014).

3.2. Leucemia bovina

3.2.1. Sinónimos

- Leucosis bovina (LB)
- Leucosis bovina enzoótica (LBE)
- Leucosis viral bovina
- Leucosis linfoide
- Linfosarcoma
- Linfoma maligno
- Leucosis endémica
- Leucosis enzoótica

(Quiroz, Sf)

3.2.2. Definición

La leucemia bovina es una enfermedad infecciosa, crónica, viral, contagiosa, que afecta naturalmente al ganado bovino. El ganado puede infectarse a cualquier edad, incluida la fase embrionaria. La mayoría de las infecciones son sub-clínicas, pero un porcentaje del ganado mayor de 3 años (30%) desarrolla una linfocitosis persistente, y un grupo menor, desarrolla linfosarcomas (tumores) en varios órganos internos. También se ha registrado la infección natural en búfalos acuáticos y capibaras (OIE, 2012; Baruta et al., 2011).

3.2.3. Historia

Los primeros antecedentes que se tienen sobre la leucemia bovina provienen de Europa en la segunda mitad del siglo pasado. Las primeras descripciones de la LB datan de 1871 en Alemania, realizadas por Leisering. Se cree que los primeros casos aparecieron en la zona de Memel (Lituania) y luego se desplazaron hacia el oeste del continente. En los años posteriores a la Segunda Guerra Mundial se incrementaron los casos de enfermedad con tumores en Alemania y otros países del este de Europa, lo que originó la profundización de las investigaciones en esta zona. A su vez, vacas infectadas fueron exportadas desde las costas del Mar Báltico a EEUU y así llegó la enfermedad a América, expandiéndose por EEUU y Canadá, principalmente en el ganado lechero. Los demás países de América probablemente la han adquirido a través de importaciones para mejorar los rebaños de los mismos. (Johnson y Kaneene, 1992).

3.2.4. Distribución

La enfermedad está reportada en casi todo el mundo. En América en general se considera que la enfermedad está presente en forma clínica, en tanto que en la Unión Europea si bien existe, se encuentra en proceso de erradicación. Los países con mayor prevalencia en el mundo son: Venezuela 49%; Japón 44% y Filipinas 32%. En estudios realizados en Florida se reportó una prevalencia de 48% en ganado lechero y 7% en ganado productor de carne. Otros estudios indican que existe una predisposición del 25.5% en animales mayores de dos años y un 12.6% en menores de dos años. En estudios realizados en México, particularmente en Baja California, se encontró una prevalencia de 32% (Baruta et al., 2011; Chamizo, 2005).

La leucosis bovina es una enfermedad de declaración obligatoria en Guatemala, pero no se encuentran reportes sobre la situación actual en bovinos y tampoco en búfalos de Agua. (MAGA, 2006)

Como reportes en América latina no se cuenta con mucha información específicamente en búfalos, pero algunos artículos científicos hacen referencia a lesiones morfológicas encontradas en algunos animales o la detección por medio de pruebas de laboratorio. Por ejemplo:

Un artículo científico publicado en Maracaibo, Venezuela en el año 2009 reporta por primera vez en una búfala de agua, un caso de linfosarcoma multicéntrico compatible con leucosis bovina procedente del estado de Mérida. Se estableció que existía actividad viral en un 2% de la población bufalina estudiada, comprobable según las lesiones y hallazgos morfológicos y típicos y compatibles con LVB (Vale et al., 2009).

En Colombia se reportan casos de presencia de masas tumorales, de etiología indefinida, lo cual es un problema para algunas empresas bufaleras ya que frecuentemente se les asocia a la tuberculosis. Balvín, Ramírez y Ruiz, 2014 reportan en su investigación que se seleccionaron dos búfalos afectados de dos diferentes fincas en Colombia, los cuales fueron sacrificados y evaluados por necropsia. Solamente uno de ellos se consideró positivo a la enfermedad, era una hembra de 7 años de edad, con 8 meses de gestación, presentaba desde hacía un año y medio tumoraciones, además de disnea y decaimiento; fue tratada previamente con antibióticos y antiinflamatorios, sin presentar mejoría. A la necropsia se evidenciaron masas en corazón, pulmón, bazo, nódulos linfoides e hígado, similares a las encontradas en la piel. Se realizaron exámenes microbiológicos, descartando la presencia de agentes infecciosos; el diagnóstico histopatológico identificó un linfoma multicéntrico, relacionado en otras especies a virus oncógenos, entre ellos, la leucemia viral bovina. (Balvín et al., 2014)

3.2.5. Etiología

La leucemia bovina es causada por un retrovirus (ARN) oncogénico llamado virus de la leucemia bovina (VLB). El VLB es un retrovirus exógeno, subfamilia Ortoretrovirinae, género *Deltaretrovirus*. Estructural y funcionalmente está

relacionado con los virus de los primates tipos 1, 2 y 3 que infectan a los linfocitos T (VLTS- 1, -2, -3) y los virus de los humanos tipos 1 y 2 que infectan a los linfocitos T (HTLV-1, y -2). Las células blanco de este virus son los linfocitos B. el genoma viral está constituido por dos cadenas de ARN monocatenario, de polaridad positiva unidos por su extremo 5', la nucleoproteína p12 la proteína p24 de la cápside, la glucoproteína transmembrana gp30, la glicoproteína de la envoltura gp51, y varias enzimas, entre las que se incluye la transcriptasa inversa (OIE, 2012).

Está integrado por tres genes estructurales: *gag*, *pol* y *env*, los cuales son necesarios para su síntesis, además comparte con otros *Deltaretrovirus* de la región X (OIE, 2012). Estos genes codifican para la producción, entre otras, de la proteína estructural p24, y de las proteínas de la envoltura, la p51 y p30. La partícula viral tiene un diámetro que varía entre los 60 y los 125 nm, está constituida por un núcleo electrodenso central rodeado por la envoltura viral (Johnson y Kaneene, 1992; Gillet et al., 2007).

La reverso transcriptasa es responsable de la síntesis de una copia de ADN a partir de ARN viral. Este nuevo ADN o Pro virus se conserva en el interior de las células del hospedador, propiedad que le da las características de la infección (integración de la información viral en las células del organismo), donde persiste sin una producción constante de progenie vírica. (Gatti, 2007; OIE, 2012).

El virus es muy poco resistente a las influencias exteriores por lo que tiene escasa viabilidad, de menos de cuatro horas fuera del animal. Los rayos ultravioletas, la congelación-descongelación repetida y la pasteurización inactivan el virus, al igual que los desinfectantes utilizados habitualmente (OIE, 2012).

3.2.6. Presentación

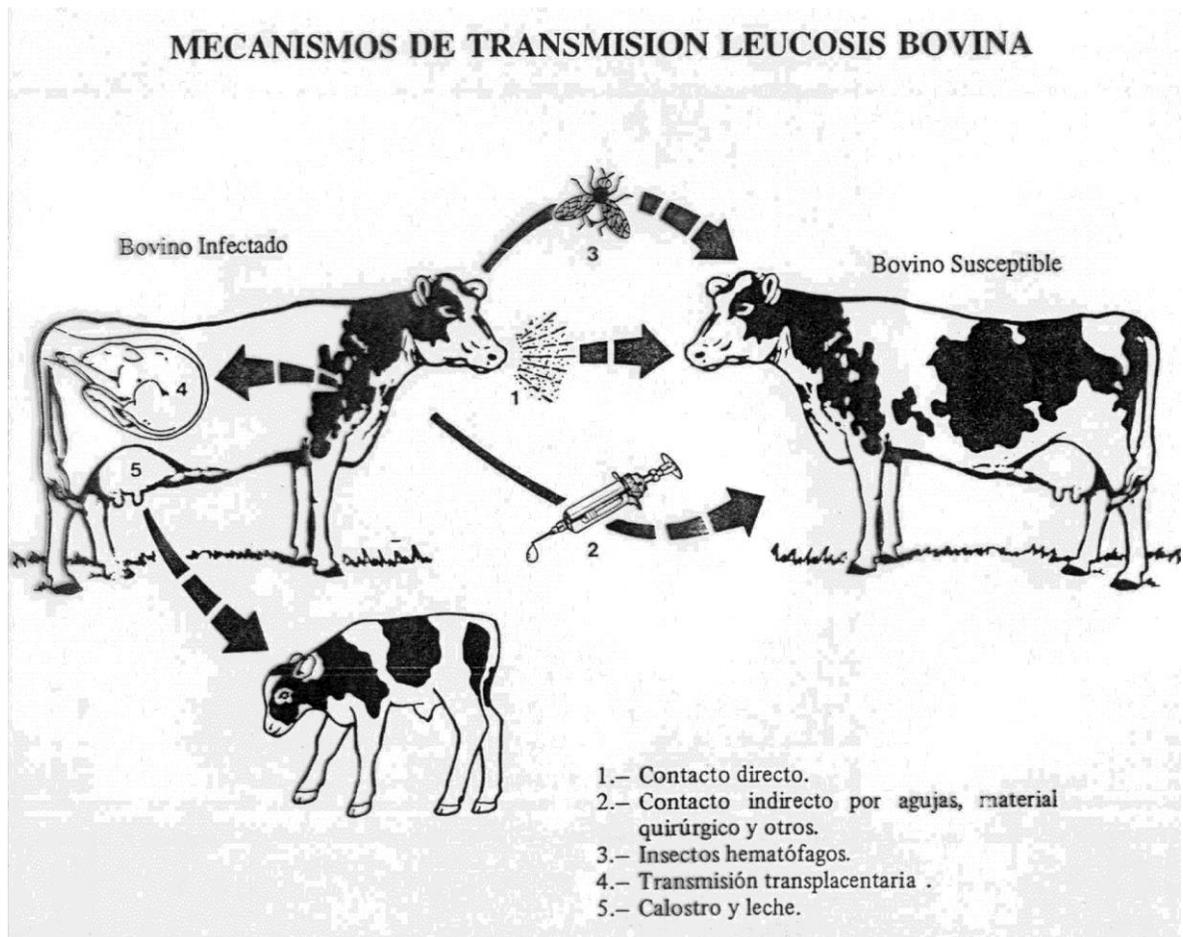
Tiene cuatro formas de presentación:

- Forma Juvenil: usualmente se presenta antes del primer año de edad, aunque también puede desarrollarse antes del nacimiento. Involucra casi todos los nódulos linfáticos y los órganos viscerales.
- Forma tímica: se presenta en bovinos de uno y medio a dos años. Provoca tumor del timo y nódulos linfáticos de cualquier parte del cuerpo.
- Forma cutánea: se presenta en animales de dos a tres años. Puede o no haber regresión de las lesiones, sin embargo, el animal puede desarrollar más adelante la forma adulta.
- Forma adulta o multicentrica: aparece entre los 4 y los 8 años de edad. La localización de las tumoraciones es impredecible, pero es más común encontrarlos en nódulos linfáticos, riñón, bazo, corazón, cordón espinal en su porción lumbar, útero, abomaso y tejido linfático retro bulbar (Quiroz, Sf; Merck, 2007).

3.2.7. Transmisión

El virus se transmite en forma horizontal y vertical, siendo la primera la más importante. El contagio se produce por el traspaso de linfocitos B que contienen el virus, los cuales a su vez provienen de animales infectados. Estos se encuentran en sangre, calostro, leche, saliva, secreciones nasales, semen y orina. Es importante el contagio mediante maniobras tales como a extracción de sangre, vacunaciones y palpación rectal, en las cuales se trabaja un elevado número de animales utilizando el mismo instrumental repetidamente (Baruta et al., 2011). En la transmisión vertical es importante la vía lactógena, en la cual el virus infecta los linfocitos B de las placas de Peyer, y a partir de ahí se disemina. Además, el virus puede transmitirse por la vía transplacentaria generando aproximadamente el 5% de terneros infectados nacidos de madres portadoras. La infección ocurre frecuentemente a partir de la introducción de animales infectados asintomáticos al hato (Baruta et al., 2011; González et al., 2001).

Figura 1. Transmisión de Leucosis Bovina



Fuente: Rafaela.inta.gov.ar

3.2.8. Signos clínicos y Lesiones

Aunque los animales pueden resultar infectados por el VLE a cualquier edad, los tumores (linfosarcomas) se observan típicamente en los animales de más de 3 años. Normalmente las infecciones son sub-clínicas; solamente el 30-70% del ganado infectado desarrolla una linfocitosis persistente, y el 0.1-10% de los animales infectados desarrolla tumores. La mayoría de las vacas infectadas son asintomáticas, inmunocompetentes, y tan productivas como las compañeras de rebaño no infectadas. Los síntomas en vacas adultas infectadas dependen del lugar en que aparecen los tumores y pueden incluir desarreglos digestivos, falta de apetito, pérdida de peso, debilidad o decaimiento general y, a veces, signos

neurrológicos. Los ganglios linfáticos superficiales pueden estar claramente aumentados de tamaño y palpase bajo la piel y mediante un examen rectal. A la necropsia, los ganglios linfáticos y gran variedad de tejidos están infiltrados por células neoplásicas. Los órganos implicados con más frecuencia son el abomaso, la aurícula derecha del corazón, el bazo, el intestino, el hígado, el riñón, el omaso, los pulmones y el útero. El linfosarcoma se puede disfrazar de un gran número de otras enfermedades inflamatorias o debilitantes de las vacas (OIE. 2012; Rebhun, 1999)

3.2.9. Patogenia

Los primeros pasos en el establecimiento de la infección por el VLB, como así también de otros virus asociados (HTLV) 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 pro-virus integrados (Gillet et al., 2007). Durante el primer mes post infección las células infectadas son detectables en sangre alrededor de las 2 semanas, alcanzan un pico en la tercera semana y luego decrecen rápidamente, lo que sugiere que el virus está ingresando 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. Casi al mismo tiempo de la seroconversión temprana aparecen linfocitos T citotóxicos para los epitopes *tax* y *env* en sangre periférica. Esta respuesta persiste y se amplifica durante la vida del animal, indicando que el sistema inmune es estimulado permanentemente por el virus (Gillet et al., 2007)

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. (Baruta et al., 2011).

3.2.10. 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. (Baruta et al., 2011).

3.2.11. Patogenia de los tumores

En el comienzo del período de cronicidad de la enfermedad el genoma de la célula huésped evidencia modificaciones genéticas: hiperdiploidía, pequeños cromosomas adicionales, trisomías, translocaciones y reacomodamientos isocromáticos. 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 (Baruta et al., 2011).

3.2.12. Diagnóstico

Debido a la amplia gama de hallazgos clínicos, con frecuencia es difícil dar un diagnóstico definitivo. El aumento de los nódulos linfáticos periféricos sin fiebre o linfangitis es inusual en otras enfermedades, excepto en la tuberculosis, que se puede diferenciar por el test de la tuberculina. El diagnóstico de la enfermedad se hace mediante serología o virología, la linfocitosis persistente se identifica por hematología, y los tumores neoplásicos se identifican por examen histológico de biopsias. (Merck, 2007)

La infección por VLB estimula una fuerte reacción inmune humoral en contra de las principales proteínas virales gp51 y p24 que constituyen la base para la detección mediante pruebas serológicas. (OIE, 2012)

El diagnóstico serológico en las vacas se realiza utilizando técnicas como una prueba de inmunodifusión en gel de agar (AGID), la prueba ELISA (Enzyme linked Immuno Sorbent Assay / ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) y/o PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). (Merck, 2007)

La inmunodifusión en gel de agar (AGID) es una buena prueba de detección para la identificación de animales o rebaños infectados. Tiene una especificidad estimada del 99.8% y una sensibilidad del 98.5%. El ELISA sérico es más sensible que otros test serológicos y puede usarse también en leche. Los rebaños identificados como positivos con ELISA requieren más diagnósticos a nivel individual o de rebaño para establecer el estatus definitivo de VLB. (Merck, 2007)

En un programa de control y erradicación, la detección precoz de terneros infectados es difícil debido a que los anticuerpos calostrales frente al VLB no se pueden diferenciar de los anticuerpos que resultan de una infección natural. Los terneros que han ingerido calostro de vacas infectadas normalmente tienen anticuerpos maternos. Es necesaria la PCR para distinguir los terneros infectados de los libres del virus. (Merck, 2007)

La PCR es una prueba sensitiva y específica para el diagnóstico directo de la infección por el VLB en linfocitos de sangre periférica. La prueba puede identificar ADN proviral del VLB en los linfocitos de neonatos de vacas infectadas, diferenciar terneros neonatos no infectados con anticuerpos calostrales de terneros infectados por el VLB y detectar la existencia del virus en presencia de anticuerpos. (Merck, 2007)

La leucosis bovina no puede ser diferenciada de la leucosis bovina esporádica en el examen histopatológico. El ELISA está recomendado para diferenciar entre la leucosis bovina y la esporádica ya que es rápido, fiable y sensible. En los casos que no se pueda obtener sangre u otros fluidos, la PCR es el método más útil para la detección directa del VLB. (Merck, 2007)

3.2.13. Diagnóstico diferencial

Este depende de los órganos afectados por los linfosarcomas, por ejemplo, el linfosarcoma abomasal puede confundirse con una úlcera o enfermedad de Johne, si afecta las raíces nerviosas de la médula espinal debe diferenciarse con rabia, espondilosis y otras enfermedades con signos nerviosos. Otros diferenciales del cuadro clínico pueden ser Tuberculosis, Paratuberculosis, Retículo pericarditis Traumática y Carbunco bacteriano (por la ruptura y/o el tamaño del bazo) (Quiroz, Sf; Merck, 2007).

3.2.14. Tratamiento y Control

No existe ningún tratamiento, pero la enfermedad puede erradicarse de un rebaño o país o controlarse a un nivel bajo, aplicando programas de control los cuales tienen éxito en parte por la baja prevalencia de infección y debido a que las pérdidas económicas por eliminar vacas infectadas o positivas al virus no son tan elevadas (Merck, 2007).

3.3. La técnica de ELISA

La técnica de ELISA es un procedimiento de ensayo inmunoenzimático cuyo nombre resulta de la asociación de las iniciales de su denominación inglesa (Enzyme Linked Inmuno Sorbent Assay). Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo, un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente (Gutiérrez, 2008). En el caso de la presente investigación se utilizó ELISA Indirecto de Competición. Por lo que se describe la técnica a continuación:

Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre (Gutiérrez, 2008).

De un modo general se procede a la fijación de uno de los componentes de la reacción inmunológica (antígeno Ag o Anticuerpo Ac) a un soporte sólido, poniendo luego ese sistema en contacto con una fase fluida que contiene el reactivo complementario. El complejo inmunológico formado es enfrentado luego a las moléculas capaces de reconocer a su componente más superficial, marcadas con una enzima (peroxidasa de rábano picante); agregándose posteriormente un sustrato cromogénico de la enzima marcadora. La existencia de una reacción inmunológica se demuestra y se cuantifica midiendo espectrofotométricamente la cantidad de producto enzimático resultante (Gutiérrez, 2008).

El método ELISA está recomendado fundamentalmente para el estudio de poblaciones. Es una técnica altamente sensible y de gran especificidad, que permite realizar en un corto espacio de tiempo estudios sobre grandes poblaciones, de manera sencilla y económica. Esta técnica presenta además una buena reproducibilidad y facilidad en la interpretación de los resultados (Gutiérrez, 2008).

3.3.1. Fases de un ensayo ELISA

Las 4 fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

1. Conjugación del anticuerpo o del antígeno con una enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina). El anticuerpo conjugado a la enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sándwich, etc. El antígeno marcado se emplea en ensayos de competición de antígeno.
2. Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos. La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas.
3. Formación de una o más capas de inmunocomplejos. En el caso del antígeno unido a la placa se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISA directo) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti-primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más

anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. En el caso del anticuerpo unido a la placa se incubaba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado. Se ensayan diferentes relaciones de antígeno frío frente a una cantidad fija de antígeno marcado. Es el ensayo de competición del antígeno.

4. Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee la densidad óptica mediante espectrofotometría (Gutiérrez, 2008).

Se han adaptado varios tipos del método ELISA tanto para la determinación de Antígenos como de Anticuerpos:

3.3.2. Determinación de antígenos

La modalidad más frecuente del método ELISA para la determinación de antígeno es el modelo ELISA "Sandwich". En esta forma, la placa suele ya venir con un anticuerpo fijado (monoclonal o policlonal) frente al antígeno problema, sobre el que se añadirá el macerado del órgano sospechoso, que, en caso de reaccionar con el anticuerpo de la placa, será puesto en evidencia tras la adición del segundo anticuerpo marcado con la enzima. Por último, se añade el sustrato para revelar la reacción (Gutiérrez, 2008).

3.3.3. Determinación de anticuerpos

Para la determinación de anticuerpos específicos frente a un determinado antígeno se utilizan normalmente las siguientes modalidades del método ELISA (Gutiérrez, 2008):

- ELISA indirecto
- ELISA competición

3.3.3.1. ELISA indirecto

Es el método más utilizado para la determinación de anticuerpos. Básicamente, consiste en la inmovilización a la placa de ELISA del antígeno (en los kits ya viene

fijado) del que se quiere conocer si en el suero problema existen anticuerpos específicos. Se pueden utilizar como antígenos, proteínas virales o bacterianas e incluso virus completos.

Los pasos siguientes serían la adición del suero problema, incubación y lavado, adición del conjugado, incubación y lavado, finalizando con la adición del sustrato, el frenado de la reacción y la lectura (Gutiérrez, 2008).

3.3.3.2. ELISA de competición

Este sistema también es muy utilizado para la detección de anticuerpos específicos. Se parte de un anticuerpo (monoclonal o policlonal), frente a un antígeno conocido, que previamente ha sido inmovilizado en la placa. Se denomina de competición ya que el suero problema es incubado previamente con el antígeno, antes de incubarlo con el antisuero fijado en la placa, y por tanto compite con él. (Gutiérrez, 2008).

Los pasos siguientes es la adición y incubación del conjugado, lavado y finalización con el sustrato y la lectura. (Gutiérrez, 2008).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1. Recursos Humanos

- Tesista
- Asesores de Tesis
- Médicos Veterinarios de laboratorio de Microbiología
- Técnicos
- Personal de finca

4.1.2. Recursos Biológicos

- Suero de muestras de sangre de los Búfalos seleccionados para el estudio.

4.1.3. Recursos de campo

- Tubos vacutainer para sangrar al vacío
- Agujas #21
- Tubos de ensayo sin anticoagulante
- Hielo
- Lazos
- Nariguera
- Libreta
- Lapicero
- Termómetro
- Reloj
- Estetoscopio
- Marcador para animales

4.1.4. Recursos de laboratorio

- Kit de ELISA para Leucosis Bovina (ELISA Indirecto de competición)
- Micro pipetas

- Pocillos
- Cronómetro
- Centrífuga
- Recipientes para sustrato

4.1.5. Gabinete

- Marcador permanente
- Block de notas
- Lapicero
- Computadora
- Impresora
- Hojas de papel bond

4.2. Metodología

4.2.1. Localización del estudio

El estudio se realizó en una finca ubicada en el Municipio de Colomba Costa Cuca, Quetzaltenango. Está finca se ubica en el km 211 carretera CA9 sur.

4.2.2. Población del estudio

Un hato bufalino de 236 animales, del cual se muestreo un mínimo del 10%, es decir 23 animales de los cuales 20 son hembras y 3 machos adultos. Fue un muestreo a conveniencia por el costo de las muestras, las cuales financió la sustentante.

4.2.3. Diseño de estudio

Diseño descriptivo de corte transversal

4.2.4. Análisis estadístico

4.2.5. Variables analizadas

Reacción a la prueba (positivo o negativo)

4.2.6. Metodología de campo

- Las muestras se recolectaron en los corrales donde se encuentra el ganado, con la colaboración de Médicos Veterinarios asesores y personal de la Finca a cargo de los búfalos.
- Se les realizó inicialmente un examen clínico con revisión de nódulos linfáticos palpables y sus constantes fisiológicas. (**Ver anexo 1**)
- Las muestras sanguíneas fueron obtenidas de la vena marginal de la nariz, que posteriormente se colocaron en los tubos de ensayo sin anticoagulante para la obtención de suero sanguíneo, debidamente identificadas con los números y/o nombres de los animales.
- Estas muestras se transportaron en una hielera.
- Los sueros obtenidos se analizaron con la prueba serológica de ELISA indirecta por competición para detectar anticuerpos contra el virus de leucemia bovina.

4.2.7. Metodología de laboratorio

Se trabajó con el kit de detección de anticuerpos anti-gP51 por ELISA de competición en sueros individuales y mezcla de sueros: este kit de diagnóstico está destinado a detectar anticuerpos dirigidos contra la gP51 en sueros de bovinos y búfalos. Puede ser utilizado en sueros individuales o mezclas de 10 sueros.

4.2.8. Descripción del proceso y principio

- Los pocillos son sensibilizados con el antígeno gP51.
- Las muestras y los controles son añadidos a los pocillos.
- Los anticuerpos anti-gP51, si están presentes, formarán un complejo antígeno-conjugado-HRP.
- Luego de la eliminación del exceso del conjugado mediante lavado, la reacción es revelada a través de una solución de revelación (TMB)
- La coloración que resulta está ligada a la cantidad de anticuerpos específicos presente en las muestras a analizar.

- En ausencia de anticuerpos en las muestras, aparece una coloración azul que se convierte en amarilla luego de añadir la solución de parada.
- En presencia de anticuerpos en las muestras, no aparece ninguna coloración.
- La lectura se realiza a una longitud de onda de 450nm dando como indicativo una densidad óptica media de control negativo y control positivo.
- Validación

El test es válido si:

- La densidad óptica media del Control Negativo (DO_{CN}) es superior a 0.7.

$$DO_{CN} > 0.7$$

- El valor medio de la densidad óptica de los Controles Positivos (DO_{CP}) es inferior a 30% de la DO_{CN} .

$$DO_{CP} / DO_{CN} < 0.3$$

- Interpretación

Para cada muestra, se calculó el porcentaje de competición (S/N%):

$$S/N\% = \frac{DO_{muestra}}{DO_{CN}} * 100$$

Las muestras que presentaron un S/N%:

- Inferior o igual a 50% fueron consideradas positivas.
- Superior a 50% e inferior a 60% fueron consideradas dudosas.
- Superior o igual a 60% fueron consideradas negativas.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Resultados

Se muestreó un total de 23 animales, de los cuales 22 resultaron negativos y solo un macho adulto de 6 años de edad resulto sospechoso en la prueba de ELISA para diagnóstico de Leucemia Viral Bovina. Los resultados se presentan a continuación en el cuadro 1.

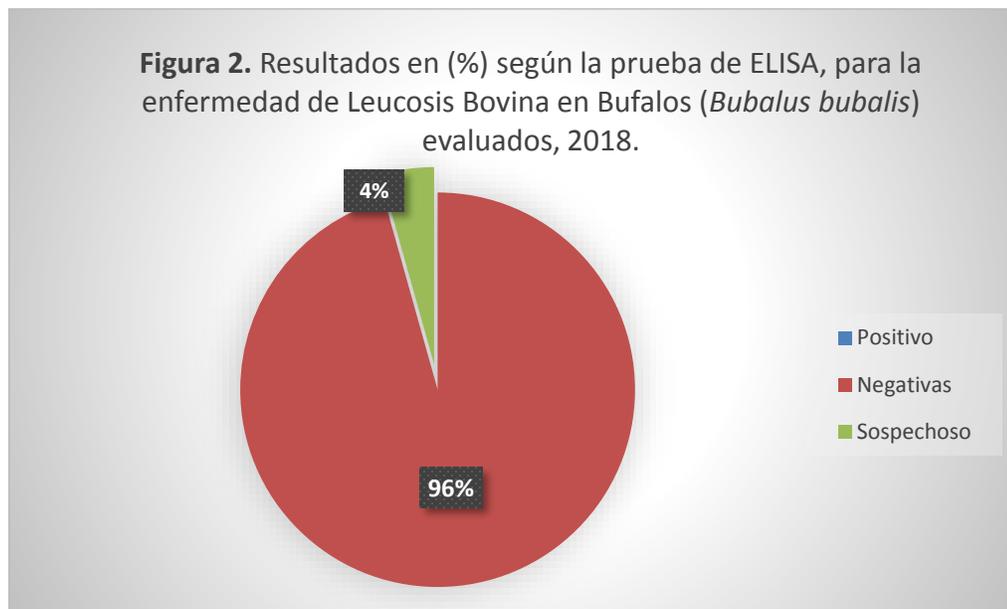
Cuadro 1. Resultados de la Prueba de ELISA

Cantidad	Sexo	Resultado
20	Hembras	Negativo
2	Machos	Negativo
1	Macho	Sospechoso

Fuente: Elaboración propia

Expresando los resultados en porcentaje, un 96% de las muestras fueron negativas a la prueba de ELISA y 4% se reporta como sospechoso. Se representan estos datos a continuación en la figura 2.

Figura 2. Resultados en % según la prueba de ELISA



Fuente: Elaboración propia

Al realizar el examen clínico ninguno de los animales, tenían los nódulos linfáticos infartados, sus constantes fisiológicas se encontraron dentro del rango normal para un búfalo y no se observó o palpó tampoco alguna masa en piel.

5.2. Análisis y Discusión de resultados

Del total de animales muestreados se reporta un caso sospechoso que representa el 4%, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2012, recomienda que en estos casos se debe volver a analizar al animal tomando una muestra un mes después, ya que no es concluyente el resultado. Lamentablemente para este estudio el macho sospechoso fue eliminado del hato, al saberse el resultado.

Por otro lado, el 96% de los animales muestreados resultaron negativos a Leucemia Bovina a la prueba de ELISA realizada, y sustentando dichos resultados con lo que indica la OIE, que reconoce y recomienda esta prueba como una técnica fiable de diagnóstico por ser un método validado, simple, práctico y económico (OIE, 2012; Úsuga, Echeverri y López, 2018), se puede inferir que dichos animales no presentan anticuerpos para la enfermedad de Leucosis Bovina.

Úsuga, Echeverri y López., 2018 menciona que algunos de los factores que pueden afectar la veracidad de los resultados obtenidos, en el caso de ELISA, es que se pueden encontrar animales con baja cantidad de inmunoglobulinas debido a que, la célula blanco del virus son los linfocitos B. En otros casos, la infección puede estar dada por un serotipo adaptado contra el cual no se generan anticuerpos, o cuyos antígenos no sean detectados por la técnica debido a mutaciones en el epítope.

Las pruebas serológicas, como ELISA-VLB, usualmente utilizadas para el ganado pueden producir resultados falsos positivos para VLB en búfalos. Esta estructura de diagnóstico de VLB está calibrada para las vacas y, por lo tanto, carece de referencias específicas para las especies de búfalos. Además, las

pruebas comerciales disponibles se han validado utilizando sueros o muestras de leche recolectadas de bovinos. Por lo que autores que mencionan lo anterior recomiendan elegir otras pruebas de detección directa como la PCR en estas investigaciones para respaldar el resultado. (Resende et al., 2016; Feliziani et al., 2017).

Sin embargo, en este caso los resultados negativos obtenidos concuerdan con el hecho de no haber encontrado linfadenopatía durante el examen clínico de cada animal y ningún otro signo visible que indicara la presencia de Leucosis bovina, como es descrito en la literatura que se presenta la enfermedad.

Algo que se considera favorece en este caso los resultados obtenidos es que la producción bufalina muestreada cuenta con planes profilácticos y de manejo para asegurar de que el hato se mantenga sano y productivo. Tomando en cuenta que, como se menciona en la revisión bibliográfica, hay factores de manejo que predisponen altamente a la transmisión de la enfermedad.

Romero et al., 1981 relata la menor susceptibilidad de los búfalos a la infección por el VLB en relación con los bovinos, después de realizar un estudio en paralelo con ambas especies donde los animales fueron desafiados a la infección a través de inóculo de virus en cultivo de células y también con sangre infectada. Los búfalos se infectaron solo con la sangre mientras que los bovinos se infectaron en ambas situaciones. Esto es respaldado por De Souza et al., 2010 quien evaluó búfalos en los estados de Minas Gerais y Pará, donde se obtuvieron resultados negativos para anticuerpos contra VLB, incluso en los animales que tenían contacto con bovinos positivos.

Según Womack, 2009 los búfalos están genéticamente distantes de los bovinos, presentando mayor proximidad con bantengs, yacs y bisontes, lo que puede reducir la susceptibilidad de esta especie al VLB.

El estudio realizado por De Souza et al., 2010 sobre el virus de leucosis bovina en búfalos (*Bubalus bubalis*) refiere que los búfalos no se infectan naturalmente por el VLB con la misma frecuencia que los bovinos, incluso cuando estos se crían en contacto con animales de esa especie infectados. Aunque la infección natural de búfalos por agentes infecciosos que afectan a la especie bovina (*Bos taurus*) y otros rumiantes puede producirse, estos parecen ser menos susceptibles a la infección por el virus de la leucosis bovina.

El búfalo de agua se describe como un huésped natural de VLB, pero la literatura que informa casos de infección es muy limitada. (Feliziani et al., 2015)

El virus infecta naturalmente al ganado bovino y experimentalmente en búfalos. La aparición de linfoma en búfalos se ha atribuido a la infección por VLB por algunos autores en India y Venezuela, pero no está confirmada por otros estudios y existe poca información sobre la infección por VLB natural en búfalos. (Resende et al., 2016)

Según Baltian et al., 2016, existe un único cambio en las bases de ADN del individuo (animal) que lo pueden predisponer a padecer la enfermedad. En ese caso, se está ante alelos de susceptibilidad, o bien puede resultar que dicho cambio le dé resistencia a la enfermedad, en ese caso, el alelo tiene efecto protector.

Para los bovinos se ha estudiado mucho el gen BoLA-DRB3 el cual ha sido relacionado con el desarrollo de resistencia o susceptibilidad a diversas infecciones, pero en específico de esta investigación a Leucemia bovina. Según los resultados expuestos por Baltian et al., 2016 se evidencio que, vacas con alelo DRB3.2*22, presentarían mayor riesgo a desarrollar Leucosis y vacas con el alelo DRB3.2*11, un menor riesgo (resistencia). Lamentablemente no se dispone aún de información como esta en búfalos.

Mencionar todo lo anterior es de importancia ya que, en contraste o ejemplificando lo reportado, se han dado casos como en Colombia y Venezuela de

un búfalo respectivamente en cada país que han presentado actividad viral en un 2%, según la población bufalina estudiada, comprobable por las lesiones y hallazgos morfológicos, típicos y compatibles con LVB. (Balvín, Ramírez y Ruiz, 2014; Vale et al., 2009). Y se han reportado prevalencias en bovinos de hasta un 32% en países vecinos como México (Baruta et al., 2011; Chamizo, 2005).

Colindres, 1977 examinó 400 vacas lecheras mayores de 3 años de edad, existentes en distintas zonas del municipio de Guatemala, en diferentes hatos lecheros, obteniendo como resultado 60 animales positivos, 95 sospechosos y 245 negativos, equivalentes a 15%, 24% y 61% de los animales muestreados respectivamente. Este diagnóstico se realizó por medio de un estudio hematológico.

Ochoa, 1998 realizó también un estudio sobre Leucosis bovina en tres fincas de ganado bovino de cría comercial en el parcelamiento El Pilar, La Democracia, departamento de Escuintla, en el cual se muestrearon por medio de la prueba de Inmunodifusión en Agar gel un total de 1598 bovinos, a partir de los 18 hasta los 42 meses de edad. Reportando que de 1501 hembras muestreadas un 99.86% fueron negativas a la enfermedad, equivalente a 1499 animales y 0.14% positivas equivalente a 2 animales. Lo que confirmaba en ese momento la presencia de Leucosis Viral Bovina Enzootica en Guatemala en los hatos bovinos.

Una investigación más reciente hecha por Matta, 2016 por medio de la prueba de ELISA, en un hato bovino lechero del Instituto Indígena Santiago, Ubicado en el departamento de Guatemala, reporta que 9 de los 22 animales muestreados en dicha investigación fueron positivos para la enfermedad de Leucemia Bovina, estableciendo una prevalencia de 41%.

Por lo tanto, aunque en Guatemala no hay reporte oficial actual de la existencia de la enfermedad en bovinos o en búfalos, se puede decir con base a la literatura anteriormente mencionada que si se ha investigado la enfermedad en nuestro país y que hay bovinos con el virus de LVB criados en Guatemala.

VI. CONCLUSIONES

Para las condiciones del presente estudio se puede concluir que:

- Se determinó por medio de la prueba de Elisa Indirecto de competición, con un 96% negativos y un 4 % sospechoso, que no hay presencia de anticuerpos para el virus de Leucemia Bovina en la mayoría de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) muestreados.
- No se pudo establecer si existe alguna relación entre la presencia de anticuerpos contra Leucemia bovina y la manifestación de signos clínicos en el búfalo de agua debido a que no se obtuvieron resultados positivos.
- Los resultados en este estudio fueron en su mayoría negativos como ya se menciona, lo cual, es un punto favorable, en la epidemiología de enfermedades infecciosas, para la producción bufalina del área del sur occidente de Guatemala.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda volver a evaluar animales con resultado sospechoso.
- Es recomendable incluir dentro de los programas de prevención o de vigilancia epidemiológica en los hatos productivos, tanto de búfalos como de bovinos, exámenes de diagnóstico serológicos de VLB.
- Es importante evitar el ingreso de animales nuevos, no evaluados previamente, en los hatos bufalinos ya establecidos para evitar el riesgo de transmisión de la enfermedad.
- Se debería continuar realizando más estudios sobre Leucemia bovina en otros hatos cercanos al área del suroccidente de Guatemala y otros distribuidos en todo el país.
- Es aconsejable realizar más investigación sobre esta enfermedad para establecer si el búfalo es naturalmente infectado por VLB. Y si se encontraran casos positivos notificar a las autoridades correspondientes.
- Para investigaciones futuras se recomienda buscar importar y utilizar métodos o kits de diagnóstico específicos para búfalos, y así descartar medios de variación en los resultados.

VIII. RESUMEN

El presente estudio se realizó en una finca de producción de búfalos situada en el sur occidente de Guatemala. El diseño del estudio es descriptivo de corte transversal.

Se realizó un examen clínico a cada búfalo y luego la extracción de muestras sanguíneas, que fueron procesadas con la prueba de ELISA indirecta, la cual dio como resultado 96% de las muestras negativas para la presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Leucemia bovina equivalente a veintidós animales, y un 4% sospechoso equivalente a un animal el cual fue eliminado del hato. El resto de animales negativos concuerdan con el hecho de no haberseles encontrado linfadenopatía durante el examen clínico y ningún otro signo visible que indicara la presencia de Leucemia bovina.

No se pudo establecer si existe alguna relación entre la presencia de anticuerpos contra Leucemia bovina y la manifestación de signos clínicos en el búfalo de agua porque no se obtuvieron resultados positivos.

Se recomienda continuar realizando más estudios sobre leucemia bovina para establecer si el búfalo es naturalmente infectado por VLB y para tener más epidemiología de estas enfermedades en nuestro país.

SUMMARY

A study was developed in a buffalo production farm located in the south west of Guatemala. It was used a descriptive cross section design.

A clinical examination was performed on each buffalo and they were extracted blood samples, which were processed with the indirect ELISA test, which resulted in 96% of the negative samples for the presence of antibodies against bovine leukemia disease equivalent to twenty two animals, and a 4% suspect equivalent to an animal which was removed from the herd. The rest of the negative animals had been classified as negative to lymphadenopathy during the clinical examination and no other visible sign, indicating the presence of bovine leukemia.

It was not possible to establish whether there is any relationship between the presence of antibodies against bovine leukemia and the manifestation of clinical signs in the water buffalo, they were not found positive results.

It is recommended to continue performing more studies on bovine to establish if the buffalo is naturally infected with VLB, they will present bovine leukemia and to gather more information about the epidemiology of these diseases in our country.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baltian, L., Follmer, A., Peratta, D., Schmidt, E., Severini, R., Delbonis, S., Borrego, C., Alvarez, N., Ripoli, M., y Giovambattista, G. (2016). *Ciencia Veterinaria*, Polimorfismo de exón 2 del gen BoLA-DRB3 asociados con resistencia/ susceptibilidad a leucosis en ganado Holstein de la Pampa. 18(1), 9-27. Consultado en: <http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=737de3d9-2a24-4f4c-a845-a845-2421365bdb9c%40pdc-v-sessmgr02>
- Balvín, D., Ramírez, R., y Ruiz, J. (2014). Identificación y caracterización de lesiones tumorales en piel y órganos internos de etiología indefinida, en búfalos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 9(2), pág. 356. Recuperado de <https://go.galegroup.com/ps/anonymous>
- Baruta, D., Ardoino, S., Brandan, J., Sosa, R., Mariani, E., y Albretch, E. (2011). Leucosis bovina enzoótica. *Ciencia Veterinaria*, 13(1), 9-16. Recuperado de <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=5&sid=cca1f438-dd47-450f-943b-55188a03cb50%40sessionmgr4006>
- Borghese, A. (Ed.). (2005). *Buffalo Production and Reserch*. (pp. 1-39). Roma, Italia: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-ah847e.pdf>
- Chamizo, E. (2005). Leucosis Bovina Enzoótica: Revisión. *REDVET*, 4(7), 1-25. doi: 1695-7504. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/636/63612652016/>
- Colindres, B. (1977). *Diagnostico Hematológico de Leucosis Enzoótica Bovina en vacas lecheras del municipio de Guatemala*. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- De Souza, D., Bastianetto, E., Pereira, J., Andrrade, D., Do Lago, L., y Cerqueira, R. (2010). Estudo da infecção pelo vírus da leucose bovina em bubalinos (*Bubalus bubalis*) no Estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(1), 42-45.
- FAO. (2018). Búfalo de agua. En *Portal Lácteo de La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)*. Recuperado de <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/productiondairy-animals/productiondairy-animalswater-buffaloes/es/>
- Feliziani, F., Martucciello, A., Iscaro, C., Vecchio, D., Petrini, S., y De Carlo, E. (2015). BLV experimental infection in buffalo species (*Bubalus bubalis*): preliminary data. Recuperado de: <http://www.spvet.it/archivio/numero-92/documenti/BLVbufale.pdf>
- Feliziani, F., Martucciello, A., Iscaro, C., Vecchio, D., Petrini, S., Grassi, Bazzucchi, M., y De Carlo, E. (2017). Bovine leukemia virus: Experimental infection in buffaloes and evaluation of diagnostic test reliability. *Research in Veterinary Science*. Pág. 450-454. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528817301212>
- Felmer, R., Zuñiga, J., Recabal, M. (2006). Estudio comparativo de un PCR anidado, ELISA y AGID en la detección del virus de la leucosis bovina en muestras de suero, sangre y leche. *ArchMedVet*, 38(2), 137-141. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/amv/v38n2/art07.pdf>
- Felmer, R., Zuñiga, J., López, A., Miranda, H. (2009). Prevalencia y distribución espacial de brucelosis, leucosis bovina, diarrea viral bovina y rinotraqueítis infecciosa bovina a partir del análisis ELISA de estanques

prediales en lecherías de la IX Región, Chile. *ArchMedVet*, 41(1), 17-26.
Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/amv/v41n1/art03.pdf>

Gatti, M. (2007). Leucosis bovina, enfermedad de gran importancia y limitante para la exportación de ganado en pie. En *producción-animal.com.ar*.
Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/67-leucosis.pdf

Gillet, N., Florrins, A., Boxus, M., Burteau, C., Nigro, A., Vandermeers, F., Baln, H., Bouzar, A., Defoiche, J., Burny, A., Reichert, M., Kettmann, R. & Willems L. (2007). Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*, 4(18), 127-132.

Giorgio, A. (2017). *The Buffalo (Bubalus bubalis) Production and Research*.
Recuperado de <http://web.b.ebscohost.com/ehost/detail/detail?vid=3&sid=6d18fd18-d374-4ffb-b43d-db2e3286e758%40pdc-v-sessmgr05&bdata=Jmxhbmc9ZXMmc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#AN=1528294&db=nlebk>

González, E., Oliva, G., Valera, A., Bonzo, E., Licursi, M., Etcheverrigaray, M. (2001). Leucosis enzoótica bovina: Evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, Elisa-I, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente. *Analecta Veterinaria*, 21(2), 12-20. doi: 15144259-0.
Recuperado de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11131/Documento_completo_.pdf?sequence=1

Gómez, A. (2015). *Determinación de la Prevalencia de Diarrea Viral Bovina (DVB) y Vulvovaginitis Infecciosa bovina (VIB), en una explotación de búfalos (Bubalus bubalis) en la región de Flores, Costa Rica*,

- Quetzaltenango. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Gutiérrez, V. (2008). *Estudio comparativo entre el método de coloración de Wright y prueba de Elisa para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina en la ciudad de San Pedro Sula, Honduras*. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Johnson, R., Kaneene, J. (1992). Bovine Leukaemia virus and Enzootic Bovine Leukosis. *Vet. Bulletin*, 62, 287-312.
- MAGA. (2006). Acuerdo Ministerial No. 495-2006. Disposiciones zoosanitarias para la declaración obligatoria de enfermedades en especies animales. Recuperado de [http://www.vertic.org/media/National%20Legislation Guatemala/GT Zoosanitarias_495_2006.pdf](http://www.vertic.org/media/National%20Legislation%20Guatemala/GT_Zoosanitarias_495_2006.pdf)
- Manual Merck de Veterinaria. (2007). *Leucosis bovina*. Barcelona, España: Océano.
- Matta, A. (2016). *Determinación de anticuerpos contra Leucosis Bovina utilizando la prueba de ELISA en el hato lechero del Instituto Indígena Santiago, Ubicado en la Zona 7 de Mixco, Durante el año 2014*. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- OIE. (2012). *Enzootic Bovine Leukosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for terrestrial Animals*. 7th Edition. Chapter 2.4.11, 1-11. Recuperado de http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.04.11_EBL.pdf
- Ochoa, D. (1998). *Estudio Serológico sobre Leucosis Viral Bovina Enzootica a través de la prueba de Inmunodifusión en agar gel en tres fincas de ganado de cría del parcelamiento el Pilar, La Democracia, Escuintla*. (Tesis pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- Quiroz, M. (sf). *Leucosis Viral Bovina*. Recuperado de http://www.ammveb.net/clinica/leucosis_viral_bovina.pdf
- Rebhun, W. (1999). Infección con el virus de la leucemia bovina (Leucosis)(Linfosarcoma Bovino). *Enfermedades del ganado lechero* (pp. 626-635). Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Resende, C., Oliveira, C., Barbosa, J., Fonseca, A., Leite, R., y Reis, J. (2016). Absence of Bovine leukemia virus (BLV) infection in buffaloes from Amazon and southeast region in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*. 129(0), 9-12. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587716301325?via%3Dihub>
- Romero, C., Aguilar, A., Zancocci h., Abaracon, D., Rowe, C., y Silva, A. (1981). Susceptibility of the wáter buffalo (*Bubalus bubalis*) to enzootic bovine leukosis virus. *Pesq. Vet. Bras*. Pág. 137-140.
- Roth, J. (2004). *Bubalus bubalis*, Water buffalo. *Animal Diversity Web*. Recuperado de: http://animaldiversity.org/accounts/Bubalus_bubalis/
- Úsuga, C., Echeverri, J., y López, A. (2018). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. Detección molecular y serológica del virus de la leucosis bovina en una población de vacas Holstein, de Colombia. 9(2), 387-399. Recuperado de: <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=2&sid=ade7e775-7977-48a7-bae5-da8c00b90835%40sdc-v-sessmgr06>
- Vale, O., Montiel, N., Simoes, D., Vale, R., Parra, O., Oviedo, M., y García, A. (2009). Linfoma multicéntrico o Linfosarcoma multicéntrico en Búfalo de agua (*Bubalus bubalis*): Estudio Anatomopatológico. Reporte de un caso. *Revista Científica*, 19(3), 257-263. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592009000300007&lang=pt

Vélez, H. (2014). Ingeniero Agrónomo. (Abascal, G., Entrevistador)

Womack, J. (2009). Water buffalo genome. V America's Buffalo Symposium/ IV Europe and America's Buffalo Symposium, 12 a 14 de agosto, 2009.

X. ANEXOS

10.1. Anexo 1. Hoja de Examen Clínico

EXAMEN CLÍNICO

Id del animal: _____

Sexo: _____

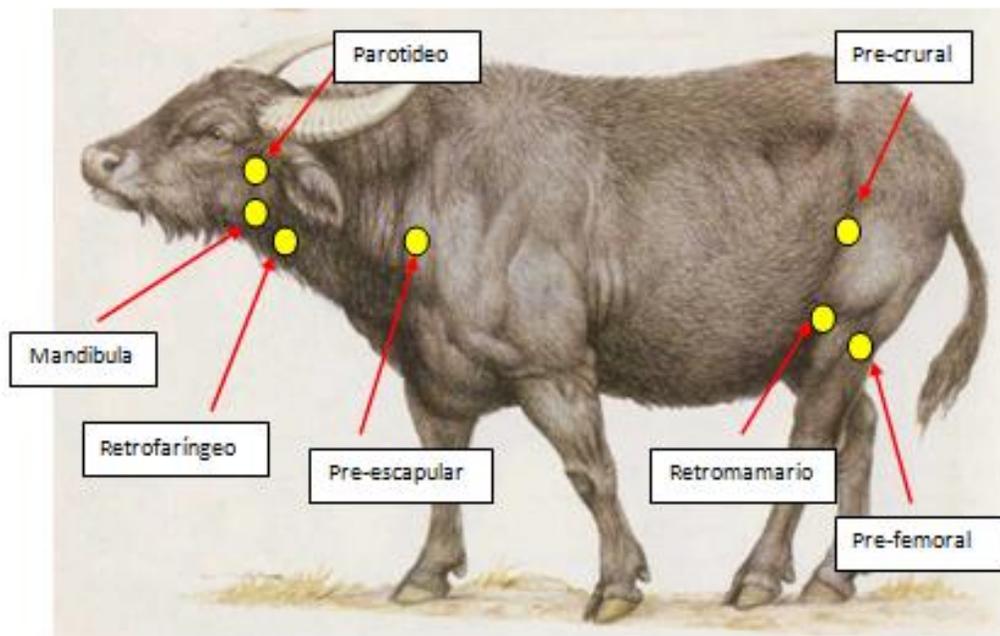
Edad: _____

Tº: _____

F/C: _____

F/R: _____

Otros: _____

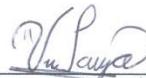


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

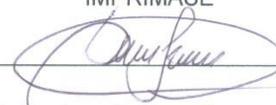
DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LEUCEMIA BOVINA EN
BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN UNA
FINCA DEL MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA,
SUROCCIDENTE DE GUATEMALA, 2018

f. 
Mirna Lucrecia Pérez García

f. 
M. Sc. Fredy Rolando González Guerrero
ASESOR PRINCIPAL

f. 
M.V. Vivian Lariza Pineda Alvizuris
ASESOR

f. 
M.V. Heliodoro Antonio García Lemus
EVALUADOR

IMPRÍMASE
f. 
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
DECANO

