



VIRUS DE LEUCOSIS BOVINA (VLB): UNA REVISIÓN

Buitrago Mejia, J.A.

1 Corporación Universitaria Remington. UNIREMINGTON, Facultad de Medicina Veterinaria, Grupo de Investigación GINVER, Medellín, Colombia.
jhonny.buitrago@uniremington.edu.co

Salazar Torres, L.M.

1 Corporación Universitaria Remington. UNIREMINGTON, Facultad de Medicina Veterinaria, Grupo de Investigación GINVER, Medellín, Colombia.

DESCRIPCIÓN DEL VIRUS

El VLB es un virus leukemogénico (Esteban, 2009), taxonómicamente se clasifica como un Oncovirus exógeno tipo C del genero deltaretrovirus de la familia retroviridae (Gonzales 1999, Radostis O.M. 2002, Fauquet2005, Lim SI 2009, Abdalla & entre otros 2016, Oguma & otros 2017).

Es un retrovirus transactivador que causa una leucemia crónica y linfomas en los bovinos (Naif 1992) quien se encuentra estrechamente relacionado con los virus HTLV-1 y HTLV-2 los cuales son responsables de la leucemia humana de células T tipo I y II (Jhonson citado por Williams et al 2000yCoffin et al 1997, OIE 2004), por ello es considerado como un modelo importante para su estudio debido a que comparten muchas características moleculares y biológicas.(Radostis O.M. 2002,Williems et al 2000,Merimi M, 2007)

Las partículas víricas del VLBconstan de un ARN de cadena sencilla, las proteínas p12 (nucleoproteína), p24 (proteína de capsídeo), las glicoproteínas gp30 (trasmembranal) y gp51 (envoltura) y algunas enzimas dentro de las cuales se encuentra la transcryptasa reversa (OIE, 2004), estas glicoproteínas de envoltura son responsables del tropismo celular debido a que contienen el sitio de reconocimiento de los receptores celulares de superficie requeridos para la entrada del virus (Licursi 2002, Abdalla & otros 2016, Oguma & otros 2017)

A nivel genómico, además de los clásicos genes de acompañamiento proviral LTR's, gag (cápside Pr 70 que cliva a p24, p 15 y p12), pol (polimerasa p7 y p9) y env (envoltura Pr72 que luego cliva a gp 51 gp 30) de los retrovirus los deltavirus poseen algunos marcos abiertos de lectura (ORF's) que codifican proteínas virales no estructurales como las de transactivación transcripcional provirica (tax), regulación postranscripcional (rex), R3 y G4 , siendo los genes tax y rex indispensables para la infectividad in vivo e in vitro (Kucerova 1999, shigeru 1998).

DIVERSIDAD GENETICA DEL VLB

El estudio de la diversidad genética de VLB es importante porque permite monitorear la aparición de nuevas variantes genéticas y subtipos. Contribuyendo a estudios epidemiológicos y filogenética del virus, permitiendo además detectar la aparición de

mutantes que puedan tener capacidad zoonótica (Bicka L 2002, Felmer R 2006, Panei , y otros, 2017).

VLB por su actividad biológica se relaciona con las glicoproteínas de envoltura, la mayoría de la diversidad de la proteína gp-51 codificada por el gen env (Blicka L, 2002). Los análisis del gen env son aislado en diferentes ubicaciones geográficas demostrando una conservación significativa de la secuencia (Camargos et al 2002, 2007 y Coluston et al 1990), hay indicios de que algunas mutaciones en el gen env podrían ser ocasionadas por la respuesta inmune del hospedero (Sabrina M, 2009, Abdalla & otros 2016).

Licursi M en 2002 detecto diferentes genotipos del provirus de VLB usando un análisis RFLP (restriction fragment length polymorphism) con las endonucleasas Bcl I, Hae III and P_u II, y Bicka L en 2002 afirma que mediante el análisis SSCP provee una herramienta discriminatoria de fácil uso que puede distinguir las variantes de VLB, incluyendo aquellas que no son distinguibles mediante el análisis de RFLP.

Según Sabrina M (2009), las cepas de VLB pueden ser clasificadas en 7 genotipos, el genotipo y el origen particular de cada cepa de VLB tienen una alta correlación, lo que indica que los diferentes genotipos de VLB tienen una distribución geográfica irregular.

No existe una relación aparente entre el genotipo de las cepas de VLB infectantes y las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Licursi 2002, Sabrina M 2009)

ESPECIES AFECTADAS y TROPISMO

Los bovinos son la única especie que se infecta de forma natural con el VLB, aunque es posible infectar experimentalmente ovinos, caprinos, equinos, ciervos, conejos, ratas, cobayos, gatos, monos Rhesus, antílopes, cerdos, cabras, búfalos, y con ciertas dudas al chimpancé usando material tumoral, sangre infectada o virus cultivado, pero solo se producen linfosarcomas en los rumiantes. La enfermedad no se trasmite de ovejas infectadas experimentalmente a otras ovejas. (Radostis O.M. 2002, OIE 2004)

Todas las razas bovinas son susceptibles a la infección por VLB, aunque es rara en animales menores de 2 años (Jhonson 1992) y la infección es más frecuente en ganado de leche que de carne, probablemente debido a que su confinamiento es más estrecho y la edad media del hato es más alta. (Radostis O.M. 2002)

El virus es aislado principalmente de los linfocitos y puede ser identificado en sangre, leche y masas tumorales, también se ha identificado en secreciones nasales y se puede obtener a través de lavados traqueales y nasales pero al interior de las células, no como virus libre, adicionalmente muchos investigadores afirman haber podido encontrar el virus en el semen (Radostis O.M. 2002, OIE 2004), pero Según Johnson (1992), esto se da en semen obtenido por masaje rectal de la uretra o de las glándulas accesorias debido a la posible contaminación con sangre.

La transmisión experimental de la vaca a la oveja es tan fácil, que se ha convertido en la técnica preferida para comprobar la presencia del virus y en modelo de investigación para VLB (Radostis O.M. 2002, Merimi M 2007, Esteban E.N., 2009,)

Las células diana del VLB son principalmente los linfocitos B (OIE 2004), pero también posee capacidad de infectar otras células como los linfocitos T (Stott et al 1991, chwartz et al 1994) y monocitos (Domenech et al 2000)

La asociación del VLB con las células es muy íntima y provoca una infección persistente en una subpoblación de linfocitos B periféricos por integración del ADN proviral en el ADN de la célula hospedera, haciendo que estos proliferen, por lo que casi nunca se encuentra virus libre en la sangre ya que se ubica en los cromosomas del hospedador haciendo que la infección persista. (Radostis O.M. 2002, Esteban EN 2009, Panei , y otros, 2017)

EPIDEMIOLOGIA

La lucosis bovina se describió por primera vez en Alemania en 1871 (Johnson R 1992) y ahora es frecuente en Canadá, Estados Unidos y muchos países de América del sur (Rodostis O.M. 2002, Abdalla & otros 2016).)

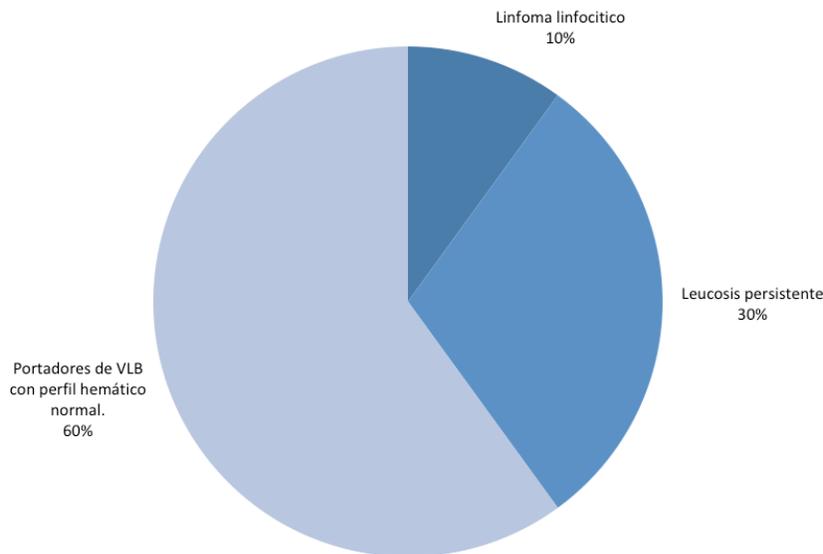
La enfermedad no se propaga con rapidez entre hatos, sin embargo dentro de los rebaños afectados la seropositividad puede ser hasta del 80%, el periodo de incubación habitual es de 4-5 años y la infección es rara en los animales menores

de 2 años y su máxima frecuencia ocurre en animales entre 4 a 8 años de edad. Muchos animales permanecen en estado preclínico durante toda su vida productiva (Radostis O.M. 2002, Hernandez D.Y. 2010, Meza Barreto, Sanjuanelo Corredor, & Gallego Marín, 2016)

En 2002 Radostis O.M reporta que el virus presentaba una prevalencia del 20% en vacas lecheras adultas ubicados en Estados unidos, 6-11% en Canadá, 27% en Francia y 37% en Venezuela.

Debido a que la infección por VLB pasa inadvertida por algunos años a menos que se realice una evaluación serológica o para presencia del genoma viral; el virus alcanza una alta prevalencia antes de que la pirámide epidemiológica se haga evidente con la detección del primer caso de linfosarcoma la pirámide completa solo es descubierta por evaluaciones serológicas o hematológicas (Esteban E.N. 2009,)

Gráfico 1. Detección directa o serológica de VLB 2



Fuente: Esteban E.N. (2009.)

TRASMISIÓN

La transmisión del virus se da de forma horizontal, y para que esta se pueda dar es necesario el intercambio de material biológico contaminado con linfocitos infectados, haciendo que una de las principales vías de contaminación sea la

iatrogénica (Dus santos 2007, Esteban EN 2009, Hernández DY 2010, Furtado et 2013), esta se puede dar por medio de instrumentos contaminados con sangre infectada como lo son las tatuadoras, agujas hipodérmicas e instrumentos quirúrgicos que no sean desinfectados entre un animal y otro, incluso puede transmitirse por la prueba intradérmica de tuberculina. (Johnson 1992, Radostis O.M 2002, OIE 2004, García cummins & Herrera costabel , 2016, Oguma & otros 2017)

en países que presentan estaciones los meses de verano favorece a las infecciones por contacto directo y contacto con sangre completa transportada por murciélagos o insectos hematófagos (OIE 2004, Dus Santos 2007, Oguma & otros 2017) se demostró que 0,1 μ L de sangre pueden transmitir la infección, esta es la cantidad que alberga la boca de la mosca del establo (Radostis O.M. 2002) García Cummins & Herrera Costabel en el 2016 desarrollan un estudio de Uruguay con el fin de búsqueda del agente en los artrópodos a través del PCR, dando como resultados que las moscas extraídas de dos vacas positivas dieron positivo a la prueba. El virus también puede ser transmitido por inoculación rectal de sangre infectada, esto se da con el uso de guantes de palpación contaminados con sangre de animales seropositivos en animales seronegativos (WentikG H 1993, Divers 1995, Furtado et 2013)

Según Radostis O.M. en 2002 afirman que es posible que los linfocitos infectados presentes en el semen puedan actuar como un foco de transmisión del virus, mientras que Dus Santos en 2007 indica que según datos experimentales es improbable que el semen de toros positivos puede ser una forma de transmisión del VLB, aunque se mantiene la restricción en la comercialización de semen de animales infectados.

Según Radostis O.M. en 2010, declara que es posible que la enfermedad se transmita por leche debido al paso de linfocitos a través del epitelio de la mucosa intestinal durante las primeras horas de vida, sin embargo se cree que vía de infección es rara, aunque según Hernandez DY afirma que la sangre y la leche son los principales vehículos para la transmisión del virus.

FACTORES DE RIESGO

La prevalencia de la infección es proporcional al envejecimiento de la población. En ganado de leche la prevalencia en vacas adultas es mayor que en animales que no han entrado al lote de producción, momento en el cual aumenta la seroprevalencia

debido a la exposición. (Johnson R 1992, Oguma & otros 2017)

Gonzales E.T (2001) expone que la prevalencia aumenta a partir de los 6 meses de edad, con una mayor incidencia entre los 2 y 3 años, siendo mayor en hatos de leche que de carne. Dentro de un hato la velocidad de propagación podría asociarse de forma proporcional a la prevalencia de la infección. (DimmockC K 1991)

Existe una relación compleja entre el perfil genético, la producción de leche, el genotipo BoLA y la susceptibilidad a la leucosis persistente, siendo más susceptibles aquellos animales con gran potencial genético para la producción de leche y grasa (Wu 1989, Radostis O.M 2006, Hernández, et al 2014)

PATOGENIA

La mayoría de los animales desarrolla una fuerte respuesta inmune permanente contra la glicoproteína antigénica de la envoltura algunas semanas después de la infección e integración del provirus a sus leucocitos (Licursi M 2002). El provirus se integra en el ADN nuclear de la célula hospedera donde permanece sin producir virus libres in vivo (OIE 2004).

El virus posee actividad leucemogena y produce una enfermedad linfoproliferativa por expansión clonal de las células B que resulta en el desarrollo de tumores linfoides (Radostis O.M. 2006, Esteban EN 2009, Gillet 2007, Oguma & otros 2017)

Según Radostis O.M. 2002 después de que se dé la contaminación por VLB se pueden dar las siguientes vías:

- No se desarrolla infección debido a resistencia genética.
- Desarrollo de animales portadores sanos, los cuales presentan infección permanente con desarrollo de niveles detectables de anticuerpos.
- Desarrollo de linfocitosis persistente, los animales presentan infección permanente y son seropositivos.
- Desarrollo de la forma tumoral de la infección, los animales son seropositivos que pueden presentar o no linfocitosis persistente y desarrollan linfosarcomas.

La fase preleucémica de la infección incluye la expansión de las inmunoglobulinas

de superficie M- positivo (sIgM+), de células B infectadas con la inserción proviral en múltiples sitios, mientras que un único sitio de integración representa la firma molecular de los clones malignos de células B, encontrados en cada individuo después de la aparición de la leucemia o linfomas (Merimi M 2007, García Cummins & Herrera Costabel, 2016).

SIGNOS CLÍNICOS

La infección por VLB no implica la presencia de enfermedad clínica, la mayoría de los animales permanecen asintomáticos y sin signos clínicos externos o de enfermedad relacionada con el virus (enfermedad neoplásica), actuando como portadores (Licursi M 2002, Radostis O.M. 2006, DusSantos 2007, Lim 2009, Esteban EN 2009, Sabrina M 2009, Hernandez DY 2010, Bautista R. 2013, Meza Barreto, Sanjuanelo Corredor & Gallego Marín, 2016, Úsuga Monroy, Echeverri, & López Herrera, 2015), este hecho no implica que los animales sean resistentes, debido a que la resistencia implica ausencia de una infección masiva de VLB en el hospedero reduciendo así la cadena de transmisión entre animales. (Esteban EN 2009)

El desarrollo de la forma clínica de la infección ya sea con tan solo una respuesta de anticuerpos, con una linfocitosis persistente o de anticuerpos más linfosarcomas sin leucosis persistente dependerá del perfil genético del hospedero (Radostis O.M. 2006).

El VLB es reconocido como el agente etiológico de la leucosis bovina enzootica (Radostis O.M. 2006, Gonzales ET 1999, Lim 2009, Sparling AM 2000, Sabrina M 2009, Tajima 1998, Bicka 2002, OIE 2004, García Cummins & Herrera Costabel, 2016) la cual puede adoptar las siguientes formas: (Radostis 2002, Esteban EN 2009)

- Infección enzoótica de la leucosis bovina aislada.
- Leucosis bovina enzoótica con leucosis persistente, es la forma “benigna” de la infección por VLB, no es una enfermedad per-se pero puede causar hipogamaglobulinemia e incremento de infecciones bacterianas.
- Leucosis bovina enzoótica con tumores: forma habitual en animales de más de 3 años.

En los animales que padecen la forma tumoral las lesiones se pueden asentar en casi todos los órganos, pero son más frecuentes en el abomaso, el corazón y los ganglios linfáticos viscerales y periféricos (Radostis O.M 2006).

En la mayoría de los casos la evolución se inicia con emaciación, inapetencia, anemia y debilidad muscular (Radostis O.M 2006, Hernandez DY 2011, Furtado et 2013), cuando los signos de enfermedad clínica y el desarrollo de tumores se hace evidente, la evolución es rápida y la muerte se produce en 2-3 semanas (Radostis O.M. 2006).

En algunos otros casos se encuentran distintos síndromes clínicos dependiendo del órgano afectado, (Sparling A.M 2000,OIE 2004,Radostis 2006). La piel, el aparato reproductor y los tejidos periorbitarios son localizaciones frecuentes de la enfermedad. En la forma cutánea se produce un engrosamiento intradérmico debido a la acumulación de linfocitos neoplásicos que persisten sin provocar rupturas del epitelio. (Sparling A.M 2000, Radostis 2006, García Cummins & Herrera Costabel , 2016).

En el 5 al 10% de los casos clínicos la evolución es peraguda y los animales afectados presentan muerte súbita, debido a una hemorragia aguda por ruptura de úlceras abomasales o de bazo, en el 75-90% de los casos de la forma tumoral se produce un aumento de tamaño de los ganglios linfáticos superficiales (OIE 2004, Radostis O.M 2006)

El aumento de tamaño de los ganglios linfáticos viscerales es frecuente, pero solo producen manifestaciones clínicas si comprimen un nervio u órganos aledaño y pueden ser palpables en la exploración rectal. (OIE 2004, Radostis O.M 2006)

Cerca del 30% de los animales infectados por VLB desarrollan linfocitosis persistente (Johnson 1991, Sparling A.M 2000, Chamizo 2005), que se define como el aumento del recuento absoluto en 3 o más desviaciones estándar sobre la media normal (Chamizo 2005, Radostis O.M 2002) Entre un 1 al 5% de los animales seropositivos desarrollan linfoma maligno, la forma fatal de la infección por VLB (Johnson R 1991) Según la OIE en 2004, el 30 al 70% de los animales infectados padece de linfocitosis persistente y 0,1 al 10% desarrolla la forma tumoral.

Juli arena en 2007, describió un método de clasificación para bovinos Holstein infectados con VLB en dos perfiles de infección basado en la carga proviral y la

respuesta humoral inmune a las proteínas estructurales de VLB. El primer perfil abarca los animales con alta carga proviral (HPL) y con altos títulos de anticuerpos lo que incluye los animales con linfocitosis persistente y cerca del 40% de bovinos sin linfocitosis. El segundo perfil es compuesto por animales con una baja carga proviral (LPL) que comprende el 60% de los animales sin linfocitosis y es caracterizado por un bajo número de linfocitos infectados en sangre periférica. Los animales con LPL no portan suficiente DNA proviral para facilitar su secuenciación (Esteban EN 2009).

TÉCNICAS DE DIAGNOSTICO

El virus puede detectarse por cultivo de linfocitos de sangre periférica y células tumorales, se presenta como provirus integrado al genoma celular. Se puede hallar en la fracción celular de las secreciones corporales como la saliva, la leche y los fluidos respiratorios (OIE 2004).

Los antígenos p24 y gp51 pueden detectarse en el sobrenadante de los cultivos mediante radioinmunoensayo (RIA), ensayo inmunoenzimático (ELISA), o por inmunodifusión en gel de agar (IGDA), y la presencia de partículas de virales y de provirus se puede demostrar por PCR (OIE 2004).

Los análisis serológicos para la detección de anticuerpos anti VLB son rápidos, económicos y fáciles de interpretar (Hernández DY 2011), pero para el diagnóstico serológico es importante la cronología de la seroconversión, ya que en animales sanos suele producirse de 3 a 4 meses después de que sean introducidos en un grupo infectado y la posibilidad de que las crías se infecten in útero y sean seropositivas al nacer es del 20%, y las que son negativas al nacer hacen seroconversión, tras la primera ingestión de calostro procedente de una vaca seropositiva. Haciendo difícil la detección precoz de los terneros infectados debido a la imposibilidad de diferenciar entre los anticuerpos calostrales y los desarrollados tras la infección natural, lo que obliga a recurrir a la PCR para detectar el virus (Radostis 2006, Furtado, et 2013).

La decisión de que prueba utilizar para el diagnóstico de VLB va a depender de factores técnicos y económicos, sin embargo hay que tener en cuenta que el uso de ELISA y PCR permite detectar un mayor número de animales infectados que el AGID (Felmer R 2006).

AGID

Es una técnica muy económica, simple y comparativamente confiable para el diagnóstico de VLB (Gonzales ET 1999, Hernández Herrera DY 2010, Hernández DY 2011, OIE 2004), aunque no es suficientemente sensible para discriminar la infección de la inmunidad pasiva, en neonatos provenientes de animales seropositivos (Gonzales 1999, Hernández 2011)

Esta prueba presenta una especificidad calculada del 99,8% y sensibilidad de 98,5%, indicando que se trata de un método fiable y exacto para detectar la infección por VLB, aunque pueden producirse resultados falsos asociados a cierta variabilidad en el sistema inmunitario o a errores humanos (Radostis 2006).

Este test es menos sensible y específico que el ELISA, sin embargo el AGID se ha usado ampliamente debido a su simplicidad (Lim SI 2009) y es la prueba de referencia oficial de la OIE (Radostis OM 2002, Simard C 2000, Felmer R 2006) y de la comunidad europea, siendo aceptada por la mayoría de los países como prueba oficial (Radostis O.M 2002, Felmer R 2006).

Según la OIE en 2004, durante el período próximo al parto, las vacas pueden tener anticuerpos séricos que son indetectables por IGDA, debido al paso de los anticuerpos desde el sistema circulatorio de la vaca al calostro. Por tanto, cuando se obtiene un resultado negativo con suero tomado entre 2-6 semanas antes del parto y 1-2 semanas después del parto no es concluyente y la prueba debe repetirse. No obstante, la prueba IGDA se puede realizar en esta fase con el calostro. La prueba IGDA es específica, pero no muy sensible, para detectar anticuerpos en muestras de sueros individuales, sin embargo, debido a su escasa especificidad y sensibilidad no es adecuada para muestras de leche excepto en aquella proveniente del primer calostro (OIE 2004).

En un estudio realizado por Naif H en 1992 se encontró que AGID detectó solo 2 de 8 animales, 5 semanas después de la infección experimental y 8 semanas antes de que todos los animales fueran positivos para este análisis y según lo encontrado por Simard C en el 2000 el test AGID tiene la capacidad de detectar muestras positivas con una dilución 1/100 mientras que la prueba ELISA puede detectar muestras positivas con una dilución de 1/5000, esto se confirma con los estudios realizados por Felmer R en 2006 quien concluyó que por medio de PCR en sangre y el ELISA en suero y leche se detectó el 25% más animales positivos que mediante el AGID.

RIA

Su exactitud lo hace idóneo para el estudio de animales individuales, existen varias versiones siendo más usada la que utiliza el antígeno gp del virion (Johnson 1992). Es una de las pruebas más sensibles para la detección de anticuerpos anti VLB en vacas expuestas hasta 2 semanas antes en muestras de leche y en suero de parturientas (Radostis O.M. 2002).

ELISA

Es más sensible que los otros análisis serológicos y puede hacerse en leche (Johnson 1992) permitiendo detectar anticuerpos en hatos en los que la incidencia es menor al 1%, mientras que el AGID solo detecta el 50% de los hatos positivos por ELISA (Radostis O.M 2002). Es más sensible y menos costosa que la prueba de AGID (Gonzales et al 2001).

La OIE usa sueros liofilizados para la prueba de ELISA como sueros estándar, que son débilmente positivos y negativos, y están disponibles en el laboratorio de referencia de la OIE en Inglaterra y pueden emplearse para establecer la sensibilidad de las pruebas ELISA (OIE 2004).

La prueba de ELISA presenta algunas ventajas frente al test de AGID, pues además de presentar resultados objetivos, el tiempo requerido es más corto, los reactivos se presentan listos para su uso sin necesidad de placas de agar y se trata de una técnica sencilla y automatizada lo que reduce los costos de mano de obra (Simard C 2000, Oguma & otros 2017)

PCR

Es un método sensible y específico para el diagnóstico de la VLB en linfocitos de sangre periférica (Klintevall 1994), detectando directamente la presencia de ADN proviral (Gonzales ET 1999), permitiendo la detección precoz aun antes de que la detección de anticuerpos sea posible, aunque requiere grandes precauciones para evitar falsos positivos secundarios a contaminación de muestras con el producto de la PCR (Radostis O.M 2002, Gonzales ET 1999, Gonzáles et al 2001). Para obtener una mayor sensibilidad comúnmente es usada una PCR anidada o un southern blot para detectar los productos amplificados (Gonzales ET 1999).

Experimentalmente Se ha detectado DNA proviral dos semanas postinoculación usando la PCR anidada (nPCR) (Gonzales ET 1999) y puede ser usada en la identificación de terneros infectados por VLB independientemente de cual sea su nivel de anticuerpos, permitiendo su retirada del foco infeccioso (Radostis O.M 2002). Una de las ventajas de la PCR es su capacidad de detectar el virus en terneros infectados que han recibido calostro de madres seropositivas (Felmer R 2006).

La PCR ha sido usada con un éxito limitado para la detección de VLB debido a que el genoma RNA es altamente mutable (Hernández 2011). Según Kuckleburg 2003 la PCR puede ser lo suficientemente sensible como para detectar incluso un bajo número de células B infectadas por VLB en leche.

Kuckleburg en 2003 además encontró una mayor sensibilidad en una dilución seriada de nPCR comparada con una PCR en tiempo real, lo que concuerda con Felmer R en 2006 quien afirma que la PCR anidada aumenta la sensibilidad y especificidad del método.

La PCR puede ser útil en la detección de animales seronegativos y puede contribuir a la detección temprana de VLB y para confirmación de muestras de sangre y leche (Kuckleburg 2003). Felmer R 2006 confirmo la posibilidad de detectar el VLB de muestras de tanque de leche mediante PCR

Se han construido primers para las regiones env, pol y gag del genoma, el método más descrito se basa en primers del gen env debido a que es una región muy conservada y por tanto esta región como su antígeno están presentes habitualmente a lo largo de todas las fases de la infección (OIE 2004). La PCR del gen gag también puede ser usado como una herramienta diagnóstica (Dus santos 2007).

Según la OIE 2004 La elevada sensibilidad de la PCR anidada puede causar problemas de muestras falsas positivas, debido a la contaminación entre las muestras Y recomienda el uso de cabinas de flujo laminar, el empleo de locales separados para las distintas fases del proceso, el uso de guantes nuevos en cada caso y el uso de tubos de apertura especial para cada ensayo individual así como controles negativos (agua).

La presencia en algunas muestras de sustancias inhibidoras de la Taq polimerasa como lo son los residuos de hemoglobina pueden originar resultados falsos negativos. Para detectar esto se utiliza en cada ensayo, por lo menos, un control positivo. (OIE 2004, Panaccio y Lew 1991)

IMPORTANCIA ECONOMICA

Las pérdidas económicas aunque son inciertas parecen deberse principalmente al sacrificio de animales con linfosarcoma, la reducción de la esperanza de vida, la pérdida potencial de producción y las limitaciones de exportación de animales y semen (Gonzales ET1999, Radostis O.M. 2006, Bautista R. 2013, Abdalla & otros 2016).

En algunos estudios se observó que la esperanza de vida en las vacas seropositivas para el VLB es menor que la de las seronegativas, la tasa de sacrificio fue mayor y la producción de leche fue inferior en los hatos infectados por VLB, que en los hatos libres de la infección (Radostis O.M 2002, Meza Barreto, Sanjuanelo Corredor, & Gallego Marín, 2016, Abdalla & otros 2016).

Según la OIE 2004 algunos estudios han demostrado que los hatos infectados con VLB presentan una reducción en la producción del 2,5 al 3%, así como una mayor susceptibilidad a otras enfermedades de etiología infecciosa como mastitis, neumonía y diarrea. (Abdalla & otros 2016).

Además de la afectación de la eficiencia de la producción y la disminución del estado inmunológico, el impacto sanitario y económico de la infección por VLB está asociado a interferencia con el movimiento internacional de animales y germoplasma debido a las restricciones sanitarias impuestas por países que han trabajado en el control y erradicación del VLB (Dus Santos 2007, Bautista R. 2013, Abdalla & otros 2016).

Las exportaciones internacionales de semen típicamente requieren que no solo el animal sino también el hato entero este seronegativo por algunos meses antes y después de las fechas de la recolección del semen, aunque el MERCOSUR recientemente ha aceptado el movimiento de semen que resulte negativo por PCR (Dus Santos 2007, Furtado et 2013).

CONTROL, MANEJO Y ERRADICACIÓN

No hay vacunas, ni tratamientos comercialmente disponibles por lo que el control y erradicación es exclusivamente basado en el diagnóstico temprano y la segregación de animales; por lo que la especificidad y sensibilidad de las pruebas diagnósticas se convierte en un punto crítico (OIE 2004, Dus Santos 2007, Abdalla & otros 2016).

La enfermedad puede ser erradicada o controlada en un hato o en un país, dependiendo de la prevalencia de la infección y el valor económico de los animales, la aparición de nuevos brotes de leucosis generalmente se deben a la introducción de animales infectados con VLB en granjas o áreas previamente libres de infección (Radostis 2006, Esteban EN 2007).

El diagnóstico temprano es importante para la implementación de medidas de control, generalmente se emplea la detección de anticuerpos circulantes contra la proteína de envoltura viral gp51 (Gonzales ET 199, Abdalla & otros 2016).

VLB EN EL MUNDO

Se considera que el VLB tiene una distribución mundial (Lim 2009, Hernández 2010). Dinamarca mantiene un programa nacional para el control de la enfermedad desde 1959 (Radostis 2006, Oguma & otros 2017)

Suecia introdujo un programa de control en 1990 con el objeto de erradicar por completo la VLB en la población bovina sueca (Kintevall 1994); En Canadá está prohibido que los toros con seropositividad para VLB entren en las unidades de inseminación artificial (Radostis 2002);

Hoy en día los casos de linfosarcoma son raros en la mayoría de las ciudades europeas, sin embargo se pueden encontrar focos de VLB en algunas de ellas (Blicka L 2002)

La infección por VLB es endémica en Argentina especialmente en bovinos de leche de las áreas central y norte (Gonzales ET 1999). En Argentina la prevalencia individual de anticuerpos es de 32,85% y usando el criterio para definir un hato positivo el de poseer uno o más animales positivos se encontró que la prevalencia en los hatos del país fue de 84% (Dus Santos 2007). En Uruguay un estudio hecho en el 2013 realizado en tres departamentos, la técnica usada fue Inmunodifusión en gel agar y los resultados revelaron un porcentaje de positividad serológica del 10,4% (Furtado, et 2013).

VLB EN COLOMBIA

Los estudios sobre la presencia del VLB en Colombia son variables, dependiendo de la región de muestreo de los animales y de la técnica serológica utilizada. En el Nororiente del país el porcentaje de presencia varía entre el 3,9 y el 14,64% utilizando la técnica de inmunodifusión en gel de agar (IGDA) (Aguilar et al., 1989; Trujillo, 1989; Ruiz, 1995). Ramírez et al, (2002) reportan una presencia del 37,5% en novillas y un 71,9% en vacas. En el departamento de Córdoba se encontró un 21.5% de positivos utilizando la técnica de ELISA (Betancour y Rodas, 2008). En la sabana de Bogotá (una de las principales zonas lecheras de Colombia) se reportó una presencia del 45.28% (Alfonso et al., 1998). Griffithset al, (1982) encontraron prevalencias en ganado de leche de 24.9 % para la región Andina, 14.4 % para la región Caribe y 15.3 % para el piedemonte Llanero.

Hernandez en el 2011 encontró 23% de presencia del VLB en el ganado Harton del valle, porcentaje menor que el reportado por Hernández, (2010) para el conjunto del ganado criollo colombiano (26,7 %) y para el mismo grupo racial (83,3 %). Bautista R. en el 2013 encontró un 15% positividad en la prueba de ELISA para LBE, y un 85% de negatividad, el estudio fue realizado en Casanare, Colombia la muestras se tomo de un grupo de 100 hembras bovinas. Meza Barreto, Sanjuanelo Corredor, & Gallego Marín en el 2016 evaluaron 230 animales en zona del centro del país de los cuales el 22.6% fueron positivos.

Hernández encontró por genotipificación las siguientes distribuciones genotípicas y frecuencias alélicas para el ganado Harton del valle: RR (19%), SS(1%), NN 43%, NR 32% y los NS 5%; No se encontraron genotipo RS. Los alelos *1101 y *20012, asociados con resistencia al VLB, representan el 32% de las frecuencias alélicas, por lo que concluyo que el ganado criollo Hartón del Valle tiene baja presencia del VLB y una alta diversidad del gen BoLADRB3.2

Según el informe de la OIE en Colombia durante el 2010 se presentó 47 focos de la enfermedad, con 279 casos clínicos y para el período julio-diciembre de 2011 se presentaron 43 nuevos focos de la enfermedad con 189 casos clínicos. En Colombia los estudios sobre VLB son variables y dependen de la región y la técnica de muestreo.

Se realizo un estudio de la genética Animal de la Universidad Nacional de Colombia

donde se tomaron 30 muestras de ADN de cada una de las razas criollas más utilizadas, y de las foráneas más usadas como la Holstein y brahmán. (Hernández, et al 2014)

Usuga Monroy y otros en el 2015 realizaron un análisis en el municipio de Antioquia donde las vacas muestreadas presentaron una prevalencia molecular de BLV varió entre 16 y 88%; la presencia del virus fue significativamente diferente en los municipios evaluados, por otra parte también se encontró asociación altamente significativa entre la presencia de la enfermedad y la subregión de procedencia encontró la mayor prevalencia en Oriente (70%), seguido de la subregión Norte (45%) y por último la menor prevalencia fue para la región del Valle de Aburra (31%).

BIBLIOGRAFIA

Aguilar, L; Giraldo, C; Velez, R. (1989). Prevalencia serológica de Leucosis Enzootica Bovina en hatos lecheros del Municipio de San Pedro – Antioquia. Trabajo de grado (Médico Veterinario). Universidad de Antioquia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Medellín, 61 p.

Bicka L., Kuźmak J., Rola M. y Beier D. (2002) Detection of genetic diversity among bovine leukemia virus population by single-strand conformational polymorphism analysis bull. vet. inst. pulawy 46, , 205-212

Bradford P Smith; large animal internal medicin; tercerqa edición, mosby inc 2002; pag 1067-1070

Camargos M. F., Stancek D., Rocha M. A., Lessa L. M., Reis J. K. y Leite R. C. (2002). Partial sequencing of env gene of bovine leukaemia virus from Brazilian samples and phylogenetic analysis. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 49, 325–331.

Camargos M. F., Pereda A., Stancek D., Rocha M. A., dos Reis J. K., Greiser-Wilke I. y Leite, R. C. (2007). Molecular characterization of the env gene from Brazilian field isolates of bovine leukemia virus. Virus Genes 34, 343–350.

Chamizo E.G. 2005. Leucosis Bovina Enzootica: Revisión. REDVET, Vol 6 No 7

Coffin J. M., Hughes S. H. y Varmus H. E. (1997). Retroviruses. New York,USA: Cold Spring Harbor Laboratoty Press. p. 843

Coulston J., Naif H., Brandon R., Kumar S., Khan S., Daniel R. C. y Lavin M. F.

(1990). Molecular cloning and sequencing of an Australian isolate of proviral bovine leukaemia virus DNA: comparison with other isolates. *J Gen Virol* 71, 1737–1746.

Dimmock, C.K., Chung Y.S. y Mackenzie A.R., (1991). Factors affecting the natural transmission of bovine leukaemia virus infection in Queensland dairy herds. *Aust. Vet. J.*, 68: 230-233

Dus Santos M.J. , Trono K., Lager I., Wigdorovitz A.,(2007); Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples, *Veterinary Microbiology* 119 (2007) 10–18

González E.T., Norimine J., Valera A. R., Travería G., Oliva G. A. y Etcheverrigaray M. E.(1999); A rapid and sensitive diagnosis of bovine leukaemia virus infection using the nested shuttle polymerase chain reaction, *Pesq. Vet. Bras.* 19(2), abr/jun. 1999, 63-67.

Divers TJ, Bartholomew, Galligan DT y Littel C.(1995) Evidence for transmission of bovine leukemia virus by rectal palpation in a commercial dairy herd. *Prev Vet Med* 23 133-141

Doménech A, Govache J, Llames I, Paya M, Suárez G y Gómez-Lucía E. (2000). In vitro infection of cells of the monocytic macrophage lineage with bovine leukaemia virus. *J Gen Virol* 81, 109-118.

Esteban EN, Poli M, Poiesz B, Ceriani C, Dube S, Guterrez S, Dolcini G, Perez S, Lützel Schwab C, Juliarena MA.; (2009) Bovine leukemia virus (BLV) proposed control and eradication programs by marker assisted breeding of genetically resistant cattle. In “Animal Genetics” Edited by: Rechi L. Nova, Hauppauge, NY; 2009

Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff J., Desselberger U. y Ball L. A. (2005). *Virus Taxonomy*, VIIIth Report of the ICTV. London: Elsevier/Academic Press.

Fechner H, Blankenstein P, Looman A, Elwert J, Geue L, Albrecht C, Kurg A, Beier D, Marquardt O y Ebner D. (1997). Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle. *Virology* 237, 261-9.

Felmer R., Zúñiga 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 *Arch. Med. Vet.* 38, N° 2, 2006

Felmer R., Zúñiga J., Recabal M., Chávez R.,(2006) Diagnóstico y tipificación del virus de la leucosis bovina mediante una prueba de PCR-RFLP a partir de ADN extraído desde células somáticas de la leche. Arch. Med. Vet. 38, N° 3, 2006

Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., Balon H., Bouzar A. B., Defoiche J. et al (2007). Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. Retrovirology 4, 18.

González E.T, Oliva G.A, Varela A, Bonzo E, Licursi M y Etcheverrigaray M.E. (2001). Leucosis enzootica bovina: evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, ELISA, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente. Analecta Veterinaria, 21,2:12-20

Hernández Herrera D.Y.(2010); Asociación del locus bola-drb3.2 con el virus de la leucosis bovina en razas criollas colombianas trabajo de grado para optar el título de magister en ciencias agrarias línea de investigación producción animal tropical universidad nacional de colombia facultad de ciencias agropecuarias coordinación general de posgrados palmira 2010

Hernández-Herrera D.Y., Posso-Terranova A. M., Benavides J. A., Muñoz-Flórez J. E., Giovambattista G y Álvarez-Franco L. Á.(2011); Detección del virus de la leucosis bovina en ganado criollo colombiano mediante PCR-anidado ACTA AGRONOMICA. 60 (4) 2011, p 312-318

Hernández-Herrera D.Y., Posso-Terranova A. M., Muñoz-Flórez J. E., Giovambattista G y Álvarez-Franco L. Á (2011) , Evaluación de la resistencia genética del ganado criollo hartón del valle al virus de la leucosis bovina, Actas iberoamericanas de conservación animal (AICA) 1 (2011) 169-172

Hopkins S.G. y DiGiacomo R.F. (1997). Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract., 13: 107-128.

Johnson R, Kaneene J.B. (1992). Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. Vet. Bull., 62, 287-312.

Juliarena M; Gutierrez E y Ceriani C. (2007). Determination of proviral load in bovine leukemia virus-infected cattle with and without lymphocytosis. Am J Vet Res ; 68: 1220-1225.

Klintevall K, Ballagi Pordány A, Näslund K y Belák S.(1994) Bovine Leukaemia Virus: Rapid detection of proviral DNA by nested PCR in blood and organs of experimentally infected calves. *Vet Microbiol.* 42:191-204.

Kucerova L., Altanero V., Altaner C., y Boris-lawrie K.,(1999), Bovine leukemia virus structural gene vectors are immunogenic and lack pathogenicity in a rabbit model, *journal of virology*, oct. 1999, p. 8160–8166 vol. 73, no. 10

Kuckleburg C.J., Chase C. C., Nelson E.A., Marras S. A., Dammen M. A. y Christopher-Hennings J. (2003); Detection of bovine leukemia virus in blood and milk by nested and real-time polymerase chain reactions *J Vet Diagn Invest* 15:72–76 (2003)

Licursi M., Inoshima Y., Wu D., Yokoyama T., Gonzalez E. T. y Sentsui H.(2002); Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotypes and its relation to humoral responses in hosts, *Virus Research* 86 (2002) 101–110

Merimi M., Klener P., Szynal M., Cleuter Y., Bagnis C., Kerkhofs P., Burny A., Martiat P. y Van den Broeke A. (2007) Complete suppression of viral gene expression is associated with the onset and progression of lymphoid malignancy: observations in Bovine Leukemia Virus-infected sheep; *Retrovirology* 2007, 4:51 23 July 2007.

Naif H.M., Daniel R.C., Cogle W.G., y Lavin M.F.(1992) Early detection of bovine leukemia virus by using an enzyme- linked assay for polymerase chain reaction-amplified proviral DNA in experimentally infected cattle; *journal of clinical microbiology*, mar. 1992, p. 675-679 vol. 30, no. 3

Panaccio M y Lew A. (1991). PCR based diagnosis in the presence of 8% (v/v) blood. *Nucleic Acids Res* 19, 1151.

Radostis O.M; gay clive C; blood D.D; hinchcliff K.W; medicina veterinaria tratado de las enfermedades del ganado bovino, porcino, caprino y equino; Mc Graw Hill; novena edición; 2002

Rodriguez S.M., Golemba M.D., Campos R.H., Trono K. y Jones LR (2009); Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes: evidence for the existence of two novel clades. *Journal of General Virology* (2009), 90, 2788–2797.

Lim SI, Jeong W, Tark DS, Yang DK y Kweon CH (2009); Agar gel immunodiffusion analysis using baculovirus-expressed recombinant bovine leukemia virus envelope

glycoprotein (gp51/gp30T-) J. Vet. Sci. (2009), 10(4), 331-336.

Simard C., Richardson S., Dixon P., Belanger C y Maxwell P.(2000); Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine leukosis: comparison with the agar gel immunodiffusion test approved by the Canadian Food Inspection Agency; The Canadian Journal of Veterinary Research 2000; 64:101-106.

Tajima S., Ikawa Y., y Aida Y.(1998) complete bovine leukemia virus (blv) provirus is conserved in blv-infected cattle throughout the course of b-cell lymphosarcoma development journal of virology, sept. 1998, p. 7569–7576 vol. 72, no. 9

Schwartz I, Bensard A, Polack B, Perrin B, Bertheley M y Stott J. (1994). In vivo leukocyte tropism of bovine leukaemia virus in sheep and cattle. J Virol 68, 4589-4596.

Shigeru T., Ikawa Y. y Aida, Y. (1998). Complete Bovine Leukemia Virus (BLV) Provirus Is Conserved in BLV-Infected Cattle throughout the Course of B-Cell Lymphosarcoma Development. Journal of virology, 72(9), 7569-7576.

Sparling A. M.(2000) An unusual presentation of enzootic bovine leukosis; Can Vet J 2000;41:315-316

Stott M, Thurmond M, Dunn S, Osburn B y Stott J. (1991). Integrated bovine leukosis proviral DNA in T helper and T cytotoxic/suppressor lymphocytes. J Gen Virol 72, 307-15

Trujillo, L. 1989. Estudio serológico de la Leucosis Bovina en el hato Paysandú. Trabajo de investigación. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Medellín, 1989. 50p.

organización mundial de sanidad animal manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos, aves y abejas) volumen i office international des epizooties, 2004

Wentink GH, Van Oirschot JT, Pelgrim W, Wensing T y Gruys E (1993) Experimental transmission of bovine leukosis virus by rectal palpation Veterinary Record ;132:6 135-136doi:10.1136/vr.132.6.135

Willems, L., Burny A., Collete D., Dangoisse O., Dequiedt F., Gatot J.S., Kerkhofs P., Lefèbvre L., Merezak C., Peremans T., Portetelle D., Twizere J. C. y Kettmann R. (2000). Genetic determinants of bovine leukemia pathogenesis. AIDS research and

human retroviruses, 16, 1787-1795. Review

Úsuga Monroy, C., Echeverrin Zuluaga, J., & López Herrera, A. (2018). Detección molecular y serológica del virus de la leucosis bovina en una población de vacas Holstein, de Colombia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9(2). doi:<https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i2.4232>

Willems L, Thienpont E, Kerkhofs P, Burny A, Mammerrickx M, Kettmann R. (1993). Bovine leukemia virus, an animal model for the study of intrastrain variability. *J Virol* 67, 1086-9.

Wu M., Shanks R. D., y Lewin H. A. (1989). Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:993-996.