

PREVALENCIA DE TAMBOS INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA (BLV) MEDIANTE DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS EN LECHE POR EL ELISA 108

MARIÑO, B.¹, NOGUES, M.¹, IGUZQUIZA, I.¹, GUTIERREZ, S.²,

RODRIGUEZ, N.², ESTEBAN, E.² & OCCHI, H.¹

RESUMEN

La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una enfermedad infecciosa y contagiosa producida por un retrovirus tipo C, que afecta especialmente a los rodeos lecheros. El objetivo del trabajo fue ampliar los estudios sobre la diseminación del LEB en la zona de influencia de la ciudad de Esperanza, situada a 40Km de la ciudad de Santa Fe, Argentina. El muestreo fue realizado en el período comprendido entre Agosto-97 a Septiembre-98; en el cual se tomaron muestras de leche de animales en producción, de 26 rodeos tomados al azar que pertenecen al circuito central de control lechero de la Sociedad Rural de las Colonias, Esperanza; haciendo un total de 2324 muestras de leches individuales más las mezclas de leche de cada establecimiento. Las muestras fueron procesadas por medio del test de ELISA de bloqueo 108 en leche.

De los datos obtenidos surgen los siguientes resultados, de los 26 establecimientos muestreados, el 84% fueron positivos, incluyendo las mezclas de leche.

Este trabajo demuestra el alto porcentaje de vacas lecheras infectadas en el área de estudio, y la necesidad de incrementar programas de control a través de la identificación de animales positivos por técnicas confiables y económicas para evitar un impacto sanitario y económico en la región.

Palabras clave: leucosis enzoótica bovina, anticuerpos en leche, test de ELISA.

SUMMARY

Prevalence of dairy herds infected with Bovine Leukosis virus (BLV) by means of the determination of milk antibodies by Elisa 108.

The Enzootic Bovine Leukosis (LEB) is a disease caused by a type-C retrovirus that specially affects to milking farms. The goal of this study was to contribute to the knowledge about the dissemination of this LEB virus into the influence zone in the city of Esperanza, 40 km from Santa

1.- Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL. Kreder 2805. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe. Tel: (03496) 420639.

2.- Laboratorio de Virología, Departamento SAMP. Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA). Pinto 399. (7000) Tandil, provincia de Buenos Aires.

Manuscrito recibido el 12 de febrero de 2003 y aceptado para su publicación el 2 de marzo de 2004.

Fe, Argentina. Fieldwork was conducted between Ago-97 and Sep-98, in the central circuit of milk control (Sociedad Rural de las Colonias) of Esperanza. Samples of milk were taken at random from 26 farms giving a total of 2324 individual samples. Data were analyzed by Eliza test 108 in milk (m 108) FCV-UCPBA. 22 farms (86% from the total) were positive including the pools of milk. Since this represents a high degree of infection, new programs of control are required in order to prevent the occurrence of any sanitary or economical impact in this region.

Key words: Enzootic Bovine Leukosis, antibodies in milk, Elisa test.

INTRODUCCIÓN

El virus de la leucosis enzoótica bovina (LBE) es un retrovirus, que dada la homología en su plantilla genética forma junto al virus humano de la leucemia linfóide (HTLV-1 y 2) un género distinto dentro de la familia Retroviridae. El LBE se distribuye mundialmente, siendo su incidencia mayor en los sistemas de producción lechera. Por esta razón los países desarrollados o con interés en la exportación de lácteos, como Australia y Nueva Zelanda, tienen programas para su control y erradicación.

El virus infecta los linfocitos de los bovinos, produciendo la integración al genoma induciendo a la presentación en hasta un 10% de los animales infectados de procesos neoplásicos que involucra linfonódulos, abomaso, útero, corazón, entre otros órganos tras un largo período de incubación. (Ferrer J, 1980).

La LBE está incluida en la lista B de la OIE, ya que se considera importante desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario por las «repercusiones» que ocasiona en el comercio internacional de animales en pie y productos de origen animal, como lácteos, semen, embriones, etc.

La Facultad de Ciencias Veterinarias de Esperanza comenzó sus estudios sobre LBE, a partir de 1974, diagnosticando 4 casos por estudios histopatológicos y clasificando otros 7 casos como presuntivos por estudios

clínicos y de laboratorio.

En diferentes lugares del país, incluida la provincia de Santa Fe (Sans *et al.*, 1987), fueron confirmados por serología una prevalencia de 35% en rodeos lecheros con antecedentes clínicos de enfermedad.

Estudios realizados por (Brenner *et al.*, 1989) revelan que la disminución en la producción que presentan las vacas infectadas con el LEB no es altamente significativa, ocurriendo algo similar con los parámetros reproductivos.

Trabajos realizados por (Emanuelson *et al.*, 1992) «encontraron» que los rodeos infectados tienen una producción lechera entre el 2,5 y 3% más baja que si no lo estuvieran, y también demostraron una tasa de descarte más elevada, además de una mayor susceptibilidad a enfermedades de origen infeccioso como mastitis, diarrea y neumonía. Por otra parte, (Pelzer & Sprecher 1993) publicaron que cuando se manifiesta clínicamente la enfermedad por el LEB influye en la producción lechera. Otros trabajos, por el contrario, destacan la mayor producción de leche en vacas infectadas con BLV, (Flores Gelves, 2001) lo que puede estar relacionado con una combinación de otros factores a tener en cuenta como la edad, presión de selección o susceptibilidad genética relacionada con la producción de leche.

Las principales pruebas para el diagnóstico de leucosis son la prueba de inmuno-

difusión en agar gel (IDAG) (Miller & Van der Maaten, 1977) en donde se utiliza la proteína interna p24 y p54 del virus. Esta prueba se caracteriza por un alto nivel de sensibilidad 98,5% y especificidad 99,8%, pero no se presta para pruebas a gran escala y no puede ser aplicada para muestras en leche. Otra técnica es el radioinmunoensayo, (RIA) (McDonald & Ferrer, 1976) que utiliza los antígenos gp24 y gp51, pero requiere equipos de laboratorio costosos y personal experto.

El test de ELISA, prueba inmunoabsorbente ligada a enzimas (Nguyen *et al.*, 1993) permite trabajar automatizadamente, por lo que se aplica a gran escala, es más sensitiva que la IDGA, y además permite analizar muestras de leche con una sensibilidad parecida a las que se obtienen con suero.

La prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una prueba que presenta inconvenientes en los laboratorios de diagnóstico, debido al costo y a lo laborioso.

El objetivo del trabajo fue ampliar los estudios sobre la diseminación del BLV en el área de Esperanza, (Santa Fe, Argentina), utilizando el ELISA de bloqueo 108, (Gutiérrez SE & Dolcini GL, 2001) para detectar anti-cuerpos específicos en leche y mezclas de leches de 26 establecimientos lecheros correspondientes al circuito central de control lechero de Las Colonias.

MATERIALES Y MÉTODOS

El período de muestreo abarcó Agosto-1997 a Septiembre - 1998. Se trabajó con 26 rodeos lecheros tomados al azar que pertenecen al Circuito Central de Control Lechero de la Sociedad Rural las Colonias, Esperanza (provincia de Santa Fe, Argentina), que está integrado por 70 tambos con un total de 7.000 vacas Holando Argentino en

producción y un promedio de 112.000 litros de leche por día. Las muestras consistieron en mezclas de leche de cada establecimiento y 2324 muestras de leches individuales. Las mismas fueron conservadas con bicromato de potasio e identificadas, congeladas y almacenadas a -20C hasta su procesamiento. El test de ELISA 108, se basa en el bloqueo por parte de los anticuerpos presentes en las muestras de leche del epitope conformacional G de la glicoproteína de 51kda (gp51) de la envoltura del BLV.

RESULTADOS

De los datos obtenidos se observa que de los 26 establecimientos muestreados, el 84% de los tambos fueron positivos, incluyendo las mezclas de leche.

En algunos casos se obtuvieron 2 mezclas de leche por establecimiento, uno del ordeño matutino y otro del ordeño vespertino, no hallándose diferencias de resultados entre ellos. Los 4 establecimientos restantes fueron negativos, incluyendo las mezclas de leche (Cuadro 1 y Fig. 1).

CONCLUSIONES

La aplicación de una técnica de alta sensibilidad como ELISA adaptada a muestras de leche cuya obtención y conservación en esta región es sencilla y económica, permitió obtener resultados que demuestran la amplia y creciente prevalencia del virus BLV en los rodeos lecheros estudiados. En virtud de la importancia que reviste esta enfermedad que podría afectar la producción y que concretamente impide la comercialización de animales en pie creemos necesario incrementar el interés en apoyar programas de

Cuadro 1: Cantidad de establecimientos estudiados, N° de muestras por establecimientos analizados y porcentaje de reaccionantes de cada uno.

Estab.	Muestras	positivos
1	62	95%
2	72	87%
3	65	86%
4	74	86%
5	104	82%
6	109	81%
7	57	72%
8	82	72%
9	153	77%
10	116	71%
11	60	63%
12	70	60%
13	63	58%
14	69	55%
15	142	45%
16	83	37%
17	69	37%
18	129	31%
19	58	25%
20	80	23%
21	89	5%
22	80	1%
23	82	negativo
24	51	negativo
25	82	negativo
26	82	negativo

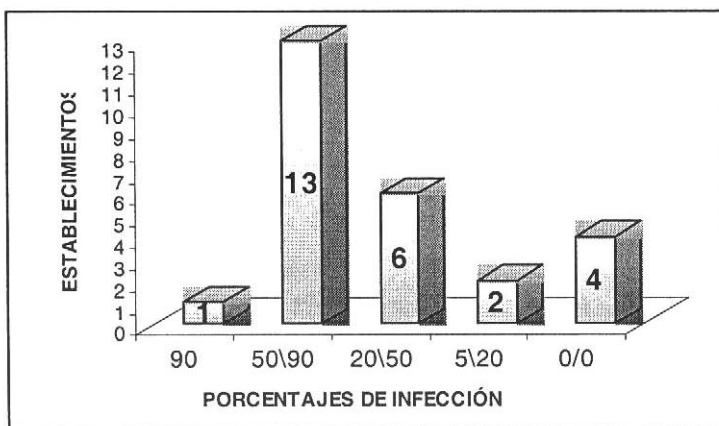


Fig. 1: Relación entre establecimientos y porcentajes de infección.

control a través de la identificación de los animales positivos.

Este estudio intenta además demostrar la habilidad y practicidad del ELISA 108 para investigar anticuerpos en leche y mezclas de leches a diferencia de otras técnicas. Es de destacar la rapidez de la utilización de muestras de mezclas de leches para la determinación rápida de rodeos libres.

BIBLIOGRAFÍA

- EMANUELSON, U.; SCHERLING, K. & PETERSON.** 1992. Relationships between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction disease incidence and productivity in Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 12: 121-131.
- FERRER, J. F.** 1980. Bovine Lymphosarcoma. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 24: 1-68.
- FLOREZ GELVEZ, J.** 2001 Evaluación de parámetros productivos y de eficiencia reproductiva en vacas lecheras infectadas en forma subclínica con el virus de la leucosis bovina. Maestría en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. Diciembre de 2001.
- LANGSTON, A.; FERDINAND, A.; RUPPANNER, R.; THEILEN, G. H.; DRLICA, S. & BEHYMER, D.** 1978. Comparison of production variables of bovine leukemia virus antibody- negative and antibody- positive cows in two California dairy herds. *American Journal of Veterinary Research*. 7: 1093-1098.
- MCDONAL, H. C. & FERRER, J. F.** 1976. Detection, quantitation, and characterization of the major internal antigen of the bovine leukemia virus antibodies. *Eur J Cancer Inst.* 57, 875-882.
- MILLER, J. M. & VAN DER MAATEN, M. J.** 1977. Use of a glycoprotein antigen in the immuno-diffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Eur J Cancer*. 13, 1369-1375
- NGUYEN, V. K. & MAES, R. F.** 1993. Evaluation of an enzymelinked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine leukemia virus in serum and milk. *Journal of Clinical Microbiology* 4: 979-981.
- KLINTEVALL, K.; NASLUND, K.; SVEDLUND, G.; HAUJU, L.; LINDE, N. & KLINGEBORN, B.** 1991. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukemia virus in milk and serum. *J Virol Methods*. 33: 3, 319-333.
- PELZER, K. & SPRECHER, D.** 1993. Controlling BLV infection on dairy operations. *Vet. Med.* March 1993, 275-281.
- ROMERO CARLOS, CRUZ GERALDO & CHERYL ROWE.** Unidade de Pesquisa de Patologia Animal. Rio de Janeiro. Brazil. Transmission of Bovine Leukemia Virus in milk.
- SANS M.; OCCHI H.; M GHEZZI.; ISLAS S. & ESTEBAN E.** 1987. Detección serológica y directadel virus de la Leucosis Bovina (BLV) en varios rodeos con casos clínicos de linfosarcomas. *Revista de medicina Veterinaria*. vol. XVIII. N6 250-253
- WU, M. C.; SHANKS, R. D. & LEWIN, H. A.** 1989. Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. *Proceedings of the National Academy of the National Academy of Sciences of the United States*. Vol. 86: 993-996.