

Prevalencia de la seropositividad a la leucosis bovina mediante la técnica diagnóstica de ELISA indirecta en hatos lecheros situados en Mesa de los Santos, Santander

Seroprevalence for bovine Leucosis by indirect Elisa technique in Clusters milkmen located in Mesa de los Santos, Santander

Recibido: 15 de noviembre de 2008 • Aceptado: 25 de noviembre de 2008

José Leonardo Carrero Rojas*

* MVZ. Estudiante Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, seccional Bucaramanga. Correo electrónico: cica01.mvz.bga@gmail.com

Francisco Arévalo Martínez**

** MVZ. Estudiante Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, seccional Bucaramanga. Correo electrónico: cica01.mvz.bga@gmail.com

Adalberto Tarazona Suárez***

*** MVZ, Esp. Profesional Sanidad Animal ICA. Docente Universidad Cooperativa de Colombia, seccional Bucaramanga. Correo electrónico: bucaramanga.atasu@hotmail.com

Boris Marcelo Cepeda****

**** MV. Profesional Diagnóstico ICA, seccional Bucaramanga. Correo electrónico: borismarcelo@yahoo.es

Resumen. La presente investigación se realizó en hatos ganaderos destinados a la producción de leche del municipio de Mesa de los Santos, Santander, con el objeto de establecer la presencia de leucosis viral bovina (LVB) en la región, debido a que esta enfermedad ha generado resultados de gran impacto en las ganaderías destinadas, en particular, a la producción láctea, lo que ha ocasionado grandes descensos en la producción y, por ende, enormes pérdidas económicas. Durante la realización del proyecto se manejaron varias fases: primera, selección de 75 predios en la zona que conforman las unidades primarias del muestreo; estas granjas se encuentran distribuidas en siete veredas correspondientes a La Esperanza, El Duende, Mesa Jeridas, La Navarra, Mesitas de San Javier, Carrizal y el Pílon. La segunda fase consistió en la selección aleatoria de los animales, sin importar la edad o el sexo; las muestras de sangre se tomaron de la vena coxígea utilizando aguja para vacutainer de calibre 20 sin anticoagulante. Dichas muestras de sangre se llevaron al laboratorio donde se obtuvo suero condensado por método estándar y la técnica diagnóstica utilizada fue de ELISA indirecta de anticuerpos. De las 360 muestras recolectadas en el municipio, 263 presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0,55, indicando seropositividad a la LVB, para una prevalencia total del 73%. El número de negativos fue de 94 muestras con títulos de anticuerpos menores de 0,45 para una negatividad del 27%.

Abstract. The present research was carried out in cattle herds destined to milk production in the municipality of Mesa de los Santos, Santander, in order to establish the presence of Viral Bovine Leucosis (VBL) in the region, due to the fact that this disease has manifested huge impact, particularly over farms destined to milk production, causing high drops in production and, consequently enormous economic losses. During the project development, several stages were implemented. In the first stage, there was a selection of 75 rural lands which constitute the primary units of sampling; these farms are distributed in seven zones such as follows: La Esperanza, El Duende, Mesa Jeridas, La Navarra, Mesitas de San Javier, Carrizal and El Pilon. The second stage consisted in the random selection of the animals, regardless of age or sex; The blood samples were taken from coccygeal vein, using 20 caliber needles for vacutainer without anticoagulant. This blood samples were taken to the laboratory where condensed serum was obtained by standard method and the diagnostic technique used was Indirect ELISA antibodies. From 360 samples collected within the municipality, 263 presented antibodies titles superior to 0,55, indicating seroprevalence for VBL, for a total 73% seroprevalence. Negatives quantity were 94 samples with antibodies titles minor to 0,45, showing a 27% of negativity.

En crías de 6 meses a 1 año se observó reactividad del 54%; en la edad de 1 a 2 años, fue del 62%; de 2 a 3 años, del 75% y para mayores de 3 años, del 87%, respectivamente. En los hatos evaluados se encontró reactividad en 74 de 75 hatos muestreados, lo que representa el 99% de la reactividad, si bien es cierto que con un animal reactivo el hato se considera como positivo.

Palabras clave: infección iatrogénica, inocuidad, patologías, riesgo, vector.

At 6 Month to 1 year babies 54% reactivity was observed; at the of 1 to 2 years, it was 62%; from 2 to 3 years 75% and in the case of the 3 years elders, 87% respectively. There were 74 from 75 herds sampled in which reactivity was found within the evaluated herds, which represents reactivity's 99%, although the herd is considered positive with one reactive animal.

Keywords: innocuousness, iatrogenic infection, pathology, risk, vector.

INTRODUCCIÓN

Hace ya varios años que los médicos veterinarios entienden la importancia de las enfermedades transmitidas por vectores artrópodos (garrapatas y mosquitos hematófagos), su incidencia dentro de la población tanto de seres humanos como de especies animales, así como sus implicaciones e importancia epidemiológica en estos grupos poblacionales. Dentro de las enfermedades transmitidas por garrapatas encontramos la leucosis enzootica bovina, considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) una enfermedad emergente.

En las áreas destinadas a llevar a cabo producciones de origen animal para consumo humano, empresas como las lecherías carecen de un buen manejo de sus animales y es ahí donde, con mucha frecuencia, se han venido presentado problemas sanitarios de diversa índole, ocasionados la mayoría de las veces por la deficiente sanidad tanto de los equipos de ordeño como de los animales que se encuentran en producción; en varias ocasiones se ha pasado por alto la presencia de ciertas enfermedades en estos animales, siendo un caso reiterativo el de la leucosis viral bovina. Éste es un factor que ocasiona disminución en la producción y alteración en la calidad de la leche, y conlleva a problemas de índole sanitario para el consumidor. Por otro lado, la leucosis viral bovina es una causa importante de pérdidas económicas, puesto que se producen elevados descensos en la producción, e induce alteraciones y daños en el sistema inmune del animal, lo que puede influir en la salud de éste si llega a provocar inmunosupresión, abriendo

muchas puertas a otras enfermedades oportunistas que también afectarán al animal y, por ende, la producción (1). La Mesa de los Santos hoy en día se encuentra en el tercer lugar de producción láctea en Santander, lo cual quiere decir que es una región de acopio lechero muy importante para el departamento; de ahí la importancia de la calidad del producto que será destinado para consumo humano.

Por las anteriores razones la presente investigación está dirigida a determinar la presencia de leucosis enzootica en bovinos con manifestación clínica compatible con la enfermedad y animales en riesgo de contraerla; por medio de la técnica diagnóstica de ELISA indirecta mediante la detección de anticuerpos, en hatos lecheros ubicadas en los municipios de Mesa de los Santos y Bucaramanga. En este sentido, y dado el grado de afectación en las vacas productoras de leche, es necesaria la implementación de programas de prevención y control con base en un diagnóstico clínico integral.

METODOLOGÍA

Selección de predios

Se realizó en la zona de un determinado número de predios que conforman las unidades primarias del muestreo, escogidos mediante informes suministrados por Fedegasan, y en los cuales se encuentran las granjas cuyo principal propósito es la producción láctea; estas se encuentran distribuidas en siete veredas, a saber: La Esperanza, El Duende, Mesa Jeridas, La Navarra, Mesitas de San Javier, Carrizal y el Pílon.

Selección de los animales

La selección de los animales se realizó al azar, sin importar la edad, ni el sexo. La muestra se conforma por fijación proporcional, es decir que cada predio objeto del estudio contribuye a la conformación de la muestra (360 animales) en el mismo porcentaje con que contribuye al tamaño de la población (5352 animales), a la cual se le determinará la prevalencia de leucosis bovina de 358 animales los cuales son el 6,7% de la población de la región que tiene un total de 5352.

Población objeto del muestreo

Está compuesta por bovinos de cualquier edad, sin importar el sexo del animal, ni la línea productiva.

Preparación del material

El material requerido para la sangría (tubos sin anticoagulante) se preparó con anticipación, teniendo en cuenta el número de animales a sangrar y los predios a visitar.

Identificación de los animales

Los animales de la muestra debieron estar identificados con un número (grande y visible), que fue registrado en el rótulo del tubo de vacutainer y en el formulario de recolección de muestras; no deben existir frascos con numeración repetida.

Inspección clínica

Durante la selección de los animales que fueron escogidos para el muestreo se realizó una inspección de éstos con el fin de determinar la carga de ectoparásitos que presentaban; se concluyó que en el 92% había ectoparásitos como la garrapata *Boophilus microplus*. En la mayoría de los animales se encontró, entre otros, la presencia de dípteros como la mosca *Stomoxys calcitrans*.

Presangría

El material utilizado para el muestreo (agujas y tubos vacutainer) fue previamente desinfectado; se dispuso de overoles, botas limpias y desinfectadas.

Procedimiento de sangría

Se obtuvo el doble de sangre respecto a la cantidad de suero requerido. La sangre fue tomada de acuerdo al

sistema de tubos al vacío, con sus respectivas agujas, a través de la arteria coxígea. Se utilizaron una aguja y un tubo vacutainer para cada animal, permitiendo que la sangre se deslizara por las paredes de éste; el plasma fue colectado en tubos sin anticoagulante. Después de la sangría los tubos fueron ubicados en gradillas y en termos apropiados para remitir al laboratorio.

Toma de la muestra

Las muestras de sangre se tomaron de la vena coxígea de 360 bovinos, se hizo uso de la aguja para vacutainer de calibre 20, el tubo vacutainer que se utilizó fue sin anticoagulante (tapa roja). Las muestras de sangre se llevaron al laboratorio donde se obtuvo suero condensado por método estándar. Estos sueros se guardaron en viales con su respectiva identificación y se almacenaron en un congelador a una temperatura de 10 °C. Terminada la recolección de todas las muestras se realizó la técnica diagnóstica de ELISA indirecta de anticuerpos.

Finalmente, se dejaron los tubos a temperatura ambiente durante media hora y se separó el coágulo de las paredes del tubo con un palito de madera; después se centrifugó a 3000 revoluciones por minuto durante cinco minutos, se transfirió el sobrenadante a un frasco eppendorf o vial, previamente identificado con el mismo número del tubo vacutainer de origen, y se congeló lo más rápido posible. La identificación se realizó con cinta de enmascarar pegada al tubo, con bolígrafo de punta fina y tinta indeleble.

Transporte al laboratorio

Las muestras y los formularios de recolección fueron llevados al laboratorio, asegurando que las muestras de suero, recolectadas en la mañana, se mantuvieran congeladas hasta el momento de ser entregadas en la tarde.

Descarte del material

Las agujas para los tubos vacutainer fueron descartadas en un guardián con solución desinfectante. Todo el material utilizado en la sangría fue desinfectado, empaquetado en una bolsa plástica roja y llevado al laboratorio del ICA, con el fin de que fuera descartado de acuerdo a normas de bioseguridad vigentes.

Capacitación a los productores de cada vereda

Es importante anotar que en los predios donde se llevó a cabo el muestreo se suministró un folleto en el cual se ilustraban todas las manifestaciones y características de la leucosis viral bovina para que los productores pudieran identificarla y evitar su diseminación. Asimismo, se realizó un taller de capacitación, en todas las veredas, en el que se tuvo como prioridad concientizar a la población de los perjuicios sobre las causas de esta enfermedad. El procedimiento utilizado para la convocatoria del personal fue por medio de avisos y carteles distribuidos en los sitios más frecuentados por los campesinos de cada vereda.

Resultados

Los resultados fueron tabulados en el paquete estadístico Excel, mediante tablas y gráficas.

Al aplicar la técnica de ELISA se estableció una reactividad serológica por grupos etarios diferentes. El análisis de los resultados se realizó de forma descriptiva y se concluyó que para un total de 360 muestras recolectadas en el municipio de Mesa de los Santos, 264 muestras arrojaron una lectura por encima de 0,55 D.O, lo que se traduce en una seroreactividad del 73,3%. El mayor porcentaje de reactividad corresponde a los animales de más de 3 años, con el 87%, y el menor, a las crías de 6 meses hasta 1 año, con el 54% de reactividad; sin embargo, dos animales, pertenecientes al grupo de 1 a 2 años, mostraron lecturas de 0,54 D.O.

De las 360 muestras recolectadas en el municipio, 263 presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0,55, para una prevalencia total del 73%. El número de negativos fue de 94 muestras con títulos de anticuerpos menores de 0,45, para una negatividad de 27%. Se determinó la reactividad en la población de bovinos clasificándolos en diferentes grupos etáreos: en el caso de crías de 6 meses a 1 año se observó una reactividad del 54%; en la edad de 1 a 2 años, fue del 62%; en la edad de 2 a 3 años fue del 75%; y para mayores de 3 años, fue del 87%.

El 13% de los animales objeto de estudio en la presente investigación comprende ejemplares jóvenes, con edades que oscilan entre los 6 meses y 1 año de edad; se encuentra también un 10% de animales que tienen entre uno y dos años. Además, es importante la

considerable presencia de animales de dos a tres años que, para el caso, alcanzan el 27% de la muestra, y los mayores de tres años, con un 51%, siendo éstos los de mayor cantidad puesto que se encuentran en una etapa productiva, razón primordial de su abundancia.

Discusión

La presente investigación está dirigida a establecer la presencia de leucosis viral bovina en el municipio Mesa de los Santos, cuya causa proviene de vectores biológicos (garrapatas); también pretende aliviar la falta de conciencia de los productores y el deficiente control sanitario que aún se tiene en ciertas explotaciones pecuarias. Estos factores hacen que exista una alta probabilidad de que la enfermedad esté afectando las ganaderías del país, razón por la cual se deben implementar medidas de control, que tengan en consideración aspectos tales como las instalaciones físicas, medidas higiénico sanitarias (plan sanitario), capacitación al personal encargado de la producción animal en el abastecimiento de agua, manipulación de residuos y de la mortalidad, limpieza y desinfección, y el control de plagas.

La precipitación o cantidad de lluvia presente en una región determina en gran parte la presencia de insectos o plagas que ponen en peligro la salud animal, pero si se registra la fecha y naturaleza de los hechos relacionados con este aspecto, tanto los eventos de carácter preventivo como los curativos, la información que arrojen dichos datos se pueden relacionar con los demás parámetros de la explotación (productivos y reproductivos) para dictaminar diagnósticos tentativos, determinar el impacto de patologías sobre la producción bovina y evaluar la efectividad de las medidas tomadas para prevenir, controlar o eliminar problemas sanitarios presentes en la producción animal. Lo anterior se debe a que la leucosis es considerada endémica en ovinos y caprinos; dado que no existen inspecciones fitosanitarias necesarias para el control de este tipo de enfermedades en bovinos, la leucosis puede constituirse en el huésped a partir del cual se podría afectar toda la producción animal (2).

Según los resultados serológicos obtenidos aplicando la técnica de ELISA (KIT IDEXX) en bovinos de ambos sexos, con edades superiores a seis meses de edad, en el municipio de Mesa de los Santos, Santander,

se encontró una seroreactividad del 74%. La reactividad del 74% de los bovinos es alta al compararla con otros estudios realizados en Nariño y Boyacá, donde se muestra una prevalencia del 38% de reactividad.

Estudios realizados en el departamento de Córdoba arrojaron resultados del 32%, y de 51,7% en la región del Caribe. Además, otros acercamientos a este problema, realizados por el ICA y la Universidad Nacional de Colombia en diferentes departamentos, durante los periodos comprendidos entre 1974 y 1977, reportaron prevalencias que oscilan de 0,7% hasta 67,6%. Con los datos de estos estudios queda demostrado que la reactividad serológica de la LVB es alta en la región de Mesa de los Santos y, probablemente, tienda a incrementarse en virtud de las prácticas culturales y del manejo de los ganaderos de la región.

La reactividad serológica al HVB tipo 1 del 54% en crías (machos y hembras) de seis a doce meses indica una exposición de estos animales a corta edad. Aunque la inmunidad materna explicaría que la tasa de mortalidad de las crías sea baja, este fenómeno también puede ser efecto de cepas de baja patogenicidad. De tal forma, si bien es cierto que la presencia de anticuerpos contra VHI-1 indica que los animales entraron en contacto con el agente patógeno y que la reactividad más alta se encontró en hembras mayores de tres años, con una prevalencia del 88%, también es cierto que sólo se observó linfadenitis en un bajo porcentaje de los animales: esto puede tomarse como manifestación clínica asociada a varias enfermedades como IBR, DVB y otras, pero también es posible explicarse porque la sintomatología de enfermedades como LVB se puede asociar al estado inmunológico del animal en el momento de la infección, al estrés medioambiental, a la edad del hospedero, y a que estos animales han estado en contacto con estos virus por mucho tiempo y, probablemente, han adquirido cierta resistencia a dichos agentes.

Si se tiene en cuenta que la reactividad en machos mayores de tres años fue del 75% y que existe la posibilidad de excretar el virus a través del semen, a partir del día diez de estar en contacto con el virus, se podría estar hablando de que la probabilidad de diseminación de la enfermedad a todas las hembras adultas es elevada ya que la vía reproductiva puede ser una forma primaria y directa de la transmisión de este virus (3).

Aunque no se observaron manifestaciones clínicas en la edad de dos a tres años, se determinó una prevalencia del 75% en machos y hembras; estos resultados indican que esta enfermedad se presenta en gran medida de forma subclínica y, más aún, si le sumamos la falta de registros productivos en donde se llevan parámetros para determinar la disminución de la producción y establecer realmente las pérdidas económicas.

El municipio Mesa de los Santos cuenta con aproximadamente 5342 cabezas de bovino (Fedegasan, Santander, primer semestre de 2008), lo que representa un considerable porcentaje para el desarrollo de la ganadería del departamento de Santander y, debido a la gran comercialización de leche en esta zona y al transporte de ganado, sirve como fuente de diseminación de enfermedades por toda la región. Por tanto, se espera que los resultados de esta investigación sirvan de base para determinar el rol del virus LVB en los animales bovinos, y contribuyan a mejorar el estado sanitario de esta importante población de ganado (4).

Estudios anteriores en los que se ha tratado de observar alguna resistencia natural al LVB por parte del ganado criollo, más exactamente del Blanco Orejinegro (BON), han arrojado resultados negativos frente a esta posibilidad. Haciendo una comparación de los datos que arroja este estudio sobre los grupos etareos evaluados, se observa que el mayor porcentaje de seropositividad es del 87% para bovinos mayores de tres años (machos y hembras); mientras que al comparar bovinos de los dos sexos, la mayor diferencia en la reactividad existe en terneros machos con un 62% y en terneras hembras con un 44%, respectivamente. De acuerdo con las edades que van de uno a dos años, los machos presentan un 59%, y las hembras, un 65%; en las edades de dos a tres años, los machos muestran un 83% y las hembras, un 73%; en la edad de más de tres años, los machos tienen un porcentaje del 83% de reactividad. Lo anterior demuestra que a medida que aumenta la edad se incrementa la seroreactividad, ello podría deberse a que los animales adultos han tenido más contacto con el retrovirus bovino tipo 1, y que, por tanto, han obtenido una inmunidad natural por estar en contacto con este virus. Sin embargo, no se debe olvidar que estos animales siguen eliminando el virus y, en cualquier momento, podría presentarse un aumento de las manifestaciones

clínicas: los animales con bajas producciones lácteas e inmunosuprimidos pueden causar grandes pérdidas económicas (5, 6).

El 99% de prevalencia en los hatos evaluados indica una alta diseminación viral, hecho que se puede explicar por la movilización a la que son sometidos los animales y por importación: éstas serían algunas de las principales formas de propagar y diseminar la enfermedad. Además de lo anteriormente expuesto, Mesa de los Santos es un corredor comercial en donde transita mucho ganado, tipo leche, sobre todo en la época de feria (septiembre), y aunque existen controles en la movilización de ganado para las enfermedades de aftosa y brucelosis, para el LVB no existe, claramente, esta situación puede ser una de las formas de difundir la enfermedad en esta región (7).

En el resultado de los hatos evaluados, se puede observar que para un total de 75 hatos estudiados, de siete veredas del municipio, el número de positivos fue de 74, lo que representa el 99% de la reactividad; es importante aclarar que con un animal que resulte reactivo, el hato se considera como positivo (8).

REFERENCIAS

1. González CG. Informe final del proyecto de vigilancia pecuaria, periodo 1989-1996. Servicio Agrícola y Ganadero. 1996; 10-13.
2. Grover YP, Guillemain B. An immunoblotting procedure for detection of antibodies against Bovine Leukemia Virus in cattle. *J Vet Med B.* 1992; 39: 48-52.
3. Lopes HE. Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire leucosis bovine 2002. Maaten, M., van der Miller JM. Appraisal of control measures for bovine leucosis *Am.vet. med Assoc.* 1979; 175: 1287.
4. Scarpulla M, Caristo ME, Macri G, Lillini E. Equine ehrlichiosis in Italy, Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma, Italia. *New York Academy of Sciences Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 990: 259-263.
5. Cripe W, Rudolph W, Hird D, Rusch K, Letonja T, Soffia A. Estudio hematológico de la leucosis enzoótica bovina (Leucemia linfática) en lecherías de la provincia de Santiago. *Arch. Med. Vet.* 1971; 3(2): 40-45.
6. Aguayo O. Prospección de leucosis enzoótica bovina en lecherías de Coihueco (Ñuble) [tesis Medicina Veterinaria]. Chillán: Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción; 1978.
7. Islas A, López J, Montes G, Bórquez F, Torres C. Detección de anticuerpos antiviral leucosis enzoótica bovina en terneros de lechería alimentados con calostro de vacas seropositivas en los primeros meses de vida. *Av. Cs. Vet.* 1992; 7(1): 51-55.
8. Montes P, Villouta G, Berríos P, Celedón M, Cornejo M. Detección del virus de la leucosis enzoótica bovina. *Av. Cs. Vet.* 1988; 3(1): 57-59.