

S7,
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"DETERMINACION DE ANTICUERPOS
ESPECIFICOS CONTRA EL VIRUS DE LA
LEUCOSIS EN BOVINOS DE LA F.E.S.C.
UNAM (RANCHO ALMARAZ) Y ESTABLOS
VECINOS UTILIZANDO LA PRUEBA DE
INMUNODIFUSION EN AGAR GEL"**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
JULIO CESAR PARRA FARFAN**

**ASESORES:
M.V.Z. RAFAEL CARBAJAL AGUILERA
M.V.Z. VICTOR MANUEL SUZAN M.**

0270151

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

SEPTIEMBRE 1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA EL
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR

DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe de: Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA EL VIRUS DE LA LEUCOSIS
EN BOVINOS DE LA F.E.S.C. U.N.A.M. (RANCHO ALMARAZ) Y ESTABLOS VECINOS -
UTILIZANDO LA PRUEBA DE INMUNODIFUSIÓN EN AGAR GEL".

que presenta EL pasante: JULIO CÉSAR PARRA FARFÁN
con número de cuenta: 8103568-7 para obtener el TITULO de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlan Izcalli, Edo. de Mex., a 01 de Octubre de 1997

PRESIDENTE MVZ. RAFAEL CARBAJAL AGUILERA
VOCAL MVZ. LUIS NAVARRO MORALES
SECRETARIO MVZ. RAFAEL ORDOÑEZ MEDINA
PRIMER SUPLENTE MVZ. HERIBERTO CONTRERAS ANGELES
SEGUNDO SUPLENTE MVZ. RAFAEL PÉREZ GONZÁLEZ

R. Carabajal
L. Navarro
R. Ordoñez
H. Contreras
R. Pérez

A MIS PADRES

Porque gracias a su sacrificio y esfuerzo, he logrado culminar una carrera, y que bien dice mi padre: esto no es una herencia, es una obligación de brindarte estudios, y por eso, he terminado una profesión, la profesión más bella.

Muchas Gracias.

A MI ASESOR M.V.Z. RAFAEL CARBAJAL A.

Le doy las gracias por su confianza, apoyo, por su gran paciencia, pero sobre todo por su amistad, pero una amistad con respeto, porque para mi, usted nunca va a ser el doctor, siempre sera mi maestro.

Muchas Gracias.

A MI ASESOR M.V.Z. VICTOR M. ZUZAN

Le agradezco infinitamente la donación del antígeno " Cuautitlán " para la realización de este trabajo sin recibir nada a cambio, y que además; se desprendio de todos sus conocimientos y transmitirlos a una persona como yo sin envidia alguna y con mucho gusto, de igual manera usted siempre sera mi maestro.

Muchas Gracias.

A LA S.A.G.A.R.

Gracias al Centro de Diagnóstico en Salud Animal en Tecamac, Estado de México, por haberme facilitado todo el material y la infraestructura del laboratorio y en especial, al Doctor Carlos González y la Doctora Margarita Hernández por su apoyo.

Gracias.

A LA SRA. LOURDES HERRERA

Quien fue la persona que con mucho gusto realizó el trabajo de mecanografía incondicionalmente.

Gracias.

A MIS AMIGOS

Porque de alguna manera todos apoyaron, moral y espiritualmente, espero siempre contar con estos amigos, y no doy nombres porque son innumerables y podría quedar alguno de ellos fuera de esta lista. a todos mis amigos les agradezco su valiosa ayuda para la culminación de este trabajo

Gracias.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

"DETERMINACION DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS CONTRA EL VIRUS DE LA LEUCOSIS EN BOVINOS DE LA F.E.S.C. U.N.A.M. (RANCHO ALMA-RAZ) Y ESTABLOS VECINOS UTILIZANDO LA PRUEBA DE INMUNODIFUSION EN AGAR GEL ".

PRESENTA: JULIO CESAR PARRA FARFAN

ASESORES: M.V.Z. RAFAEL CARBAJAL AGUILERA

M.V.Z. VICTOR MANUEL SUZAN MARTINEZ

I N D I C E

1.-	Resumen	1
2.-	Introducción	3
2.1	Epidemiología	
2.1.1	Etiología	
2.1.2	Transmisión	
2.1.3	Características del hato	
2.2	Patogenia	8
2.3	Inmunidad	10
2.4	Signología	12
2.5	Diagnóstico	15
2.6	Control y Prevención	20
2.7	Tratamiento	22
3.-	Justificación	23
4.-	Hipótesis	24
5.-	Objetivos	25
6.-	Material y Métodos	26
6.1.1	Material de Cristalería	
6.1.2	Material de Equipo Especializado	
6.1.3	Material Químico-Biológico	
6.1.4	Material Biológico	
6.1.5	Otros Materiales	
6.2	Preparación del Agar	29
6.3	Titulación del Antígeno	30
6.4	Sueros	34
7.-	Resultados	36
8.-	Discusión	76
9.-	Conclusión	79
10.-	Bibliografía	81

RESUMEN

La Leucosis Bovina (BLV) es una enfermedad que en México afecta a un gran número de hatos lecheros, de engorda y toros de Lidia ,causando frecuentemente neoplasias e inmuno - supresión . (*)

En muchas ocasiones, llega a ser frustrante el realizar un exámen clínico propedéutico y no lograr un diagnóstico presuntivo del BLV, considerando que las lesiones pueden o no manifestarse en un animal infectado .

Con dicho propósito se llevarón a cabo las pruebas de Inmunodifusión en Agar Gel.

Las pruebas se realizarón en el Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal de la S.A.G.A.R. en Tecamac, Edo. de Méx. (Bajo la dirección de : MVZ. Rafael Carbajal y MVZ. Victor Suzan).

Este estudio se realizó en 5 diferentes hatos, ubicados en el Municipio de Cuautitlán.

Las explotaciones fuerón localizadas en 3 zonas :

- 1) Oriente 2) Centro 3) Poniente

En la Zona Oriente se encuentran dos ranchos

- 1) Xaltipa y 2) Terremoto

Ambas son explotaciones intensivas, tecnificadas y con buen manejo zootécnico.

En la Zona Centro esta situado la FES-C (Rancho Almaraz).

En la Zona Poniente se seleccionaron dos explotaciones pequeñas (De traspatio) una con 39 animales y la otra con 55 animales.

Un total de 467 vacas se muestrearon, obteniéndose un promedio de 10.06 % positividad de anticuerpos específicos de la BLV. Esto significa que 47 animales son seropositivos a BLV. Obteniéndose un mayor porcentaje en la zona oriente con 41 animales positivos (8.77) sobre la zona centro con 3 animales seropositivos (.645) y poniente con la misma cantidad (.645).

Los resultados de la prueba confirman que IDGA es una técnica altamente confiable, segura, rápida, económica, de fácil realización e interpretación.

También se confirma claramente la alta confiabilidad del antígeno cepa "Cuautitlán" que reaccionó satisfactoriamente.

El gel utilizado fué precisamente el recomendado por dicho laboratorio.

Además, se confirma la infección de BLV en todos los hatos, presentándose más positividad en ranchos tecnificados que otros establos de explotaciones más rústicas.

(*) Comunicación personal del Centro Nacional de Servicio de Diagnóstico en Salud Animal de la S.A.G.A.R. en Tecamac, - Edo. de México.

INTRODUCCION

La Leucosis Bovina, también conocida como Leucosis, Linfosarcoma, Linfoma Maligno, Linfoblastoma, Linfadenosis, Linfomatosis y Leucemia del ganado (1, 3, 5, 10, 23, 25), es el problema neoplásico del sistema linforeticular más común e importante, debido a las pérdidas económicas que ocasiona (1, 3, 7, 24). En la mayoría de los países desarrollados (7) es frecuente el decomiso de carne debido a la mala calidad que presenta; además, se impide la comercialización de semen - provenientes de toros que sean seropositivos en algunos países como Nueva Zelanda, Canada, Estados Unidos, Japón y el Continente Europeo. (6, 12, 14).

La enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo (1, 6,12, 21). Han sido reportados casos en toda Europa y Nueva Zelanda (14,27). En Taiwan en 1986 se reportaron reactores positivos de 5.8 % (39).

En Canada en 1992 se detectó un 10 % de seropositividad siendo la zona central la más afectada y alcanzando un 60 a 90 % (Manitoba, Ontario y Quebec) (7, 17, 20).

En Estados Unidos, a partir de la década de los setentas se incremento el porcentaje siendo inicialmente de 6 % y aumentando a un 28 % en los últimos años (1992) encontrandose más seropositividad en los estados de Georgia, Pennsylvania, New-York, Texas y Wisconsin (7,18,19,20). Mientras que en California se demostró que la tasa de infección era de 37.8 % en el año de 1987 (7).

En algunos países de Sudamérica se ha determinado el 21% de seropositividad (24).

En México los primeros reportes de la enfermedad fueron realizados en 1967 por Shuneman y Aluja basándose únicamente en la sintomatología, aumentando considerablemente los posteriores 5 años. (1, 5, 24).

Jaramillo encontró cuarenta casos en el Valle de México durante 10 años (1966-1975), sin ser avalados por pruebas de laboratorio (24). En un estudio realizado por Suzan (37) en 1983, se analizaron 225 rebaños de 17 estados de la República Mexicana encontrando en promedio un 36.1 % de positividad en el ganado lechero y un 4.0 % en el ganado de carne, prevaleciendo más alto el porcentaje en los estados del centro (Estado de México, Michoacán, Guanajuato e Hidalgo). Cabe señalar que el Edo. de México presentó un porcentaje del 40.9 % .

Con respecto a IDGA, es una técnica cualitativa que comenzó a acreditarse en el año de 1962, teniendo por finalidad poner en evidencia, anticuerpos precipitantes en el suero sanguíneo provocando una línea de precipitación con el antígeno homólogo (22).

Actualmente se utiliza para diagnosticar un gran número de enfermedades virales, bacterianas y parasitarias, y además, existe una gran variedad y/o modificaciones de IDGA (9, 22).

2.1 EPIDEMIOLOGIA

La Epidemiología es la descripción de la infección ó de la enfermedad ya sea individual o por hato, teniendo en cuenta algunos aspectos como son, etiología, transmisión, características del ganado, localización geográfica y estación, tipo de producción y cría, tamaño del hato e historia.

2.1.1 ETIOLOGIA

La Leucosis Bovina es causada por un virus RNA oncogénico de la subfamilia de los oncovirus familia Retroviridae (1,2,4,5,7,23,24,25,27,28,39), posee la enzima transcriptasa reversa en su replicación, mide aproximadamente de 90 a 120 nm. de diámetro, contiene un nucleoide central de 60 a 90 nm. (6,11,21), rodeado de dos envolturas de glucoproteína que son de gran importancia para el diagnóstico serológico , encontrándose aquí los siguientes antígenos que son:

- P24 con un peso molecular de 24 Kilodaltons.
- gp51 con peso molecular de 51 Kilodaltons (3,25).
- gp60 con peso molecular de 60 Kilodaltons (28).

2.1.2 TRANSMISION

Los bovinos son los únicos animales que se infectan en forma natural (3), aunque experimentalmente se pueden infectar ovinos, caprinos (3, 12, 23), ratones (1,6,8,25), chimpance (28) y búfalos (35).

La enfermedad se transmite en forma vertical y horizontal (1,5,7). En la forma horizontal es provocada por insectos hematófagos como las moscas (Tabanus Macquart y Nigro vitta-tus) (1,5,6,7) así como la garrapata del género Boophilus microplus (5). Otra manera de transmisión es la iatrogénica, o sea, - con la participación del Médico, mediante técnicas quirúrgicas, esto es, utilizando el mismo instrumental sin desinfectar o esterilizar previamente, o bien; realizando métodos zootécnicos, como sería la prevención de la Brucella sp., mediante la vacunación sin utilizar agujas hipodérmicas desechables.

La forma vertical se debe a la infección intrauterina (2,3,4,6,7,12,18,23,34,38), y a través de la ingestión de calostro (1,2,3,4,7,13,18,19,38,39).

El virus de la Leucosis no se elimina por saliva ni por secreción nasal (38), algunas veces se llega a eliminar por orina, pero en el semen de toro si se ha encontrado con gran facilidad (3, 4, 7).

2.1.3 CARACTERISTICAS DEL HATO

La prevalencia de la infección del BLV, presenta un elevado porcentaje de seropositividad en el ganado productor de leche comparado con el ganado de carne.

Existe una seropositividad relativamente elevada en el ganado de Lidia, y no así en el ganado de engorda en México (Edo. Méx. Hidalgo y Queretaro) (*).

Varios son los factores que incrementan los porcentajes de seropositividad en ganado lechero. Se observa un elevado porcentaje de hatos que tienen una gran importación de becerras, vaquillas y vacas provenientes de Estados Unidos y Canada, así como la inseminación artificial con semen importado.

EDAD Y SEXO

En general no prevalece una diferenciación del sexo, sin embargo, en cuanto a la edad se demostró que el mayor porcentaje se presenta en vacas con una edad de 8 años o más, siendo que en Estados Unidos y Canada se observa en animales más jóvenes (3 - 5 años) (4,18,19,20,38).

LOCALIZACION

En México los índices marcan un elevado porcentaje de seropositividad al BLV sobre todo en el Estado de México, pero debemos mencionar que este Estado tiene 122 Municipios y un solo municipio (Cuautitlán) fué muestreado para la realización de este estudio.

(*) Comunicación personal del Centro de Diagnóstico en Salud Animal de la S.A.G.A.R. en Tecamac Estado de México.

2.2 PATOGENIA

La patogenia de BLV, indica que la vía de entrada del agente infeccioso puede ser durante el período fetal, al poco tiempo de haber nacido, ó quizas; cuando sea un animal joven (iatrogénico) (2,3,6,7,12) .

Después de un tiempo variado, que normalmente es largo (más de un año), el agente causal activa las células del sistema linforeticular y el animal entra en una fase de la enfermedad; caracterizada por linfocitosis, sin observarse manifestaciones clínicas, pudiendo durar años o el resto de su vida. Existen vacas que pueden ó no pasar por la fase de linfocitosis persistente pero que si presentan tumores malignos ó linfosarcomas de diferentes grados y en varios órganos (7,25,30,32) .

Debemos considerar algunos factores que caracterizan la dificultad de la patogenia del BLV:

- 1) Un largo período de latencia de varios meses hasta años.
- 2) Un solo signo puede aparecer durante mucho tiempo y concluir en la muerte.
- 3) La enfermedad se limita a una sola especie lo cual llega a dificultar el estudio de la patogenia.
- 4) Algunos animales por predisposición genética - adquieren más resistencia que otros (3,7,12,23).
- 5) Establecida la infección, estos animales son portadores de la enfermedad.

La patogenia se ha dividido en tres fases:

A) Fase Inicial.- Completamente subclínica, solamente detección de anticuerpos específicos por IDGA ó ELISA.

B) Fase de Preleucosis.- Presenta cambios hemáticos, subleucémicos o francamente leucémicos, careciendo de tumora- ciones y signos clínicos.

C) Fase de Estadío Temporal Leucémicos.- Manifestaciones clínicas obvias que invariablemente conducen a la muerte (5).

2.3 INMUNIDAD

Casi todos los bovinos infectados por BLV responden en grado suficiente a los antígenos de este virus para permitir respuestas inmunes que pueden descubrirse por varios métodos; en este caso se utilizó la prueba de IDGA. (25).

La infección viral puede producir la enfermedad por tres mecanismos:

- 1.- Puede cambiar la estructura de la célula huésped y limitar sus funciones.
- 2.- Puede desencadenar la transformación maligna de la célula.
- 3.- Puede producir la muerte de la célula que invade - (28,38).

La infección del BLV utiliza el punto 2, el virus sigue su replicación viral como se menciona adelante:

- 1) Adherencia ó Adsorción: Es dependiente de especificidad de sitios receptores, dado por un fenómeno electrostático.
- 2) Penetración : La envoltura o peplos se funde con la membrana de la célula huésped, liberando la nucleocápside directamente al citoplasma.
- 3) Denudación : Este término implica la liberación del ácido nucleico viral de la cápside que está dado por acción enzimática.

4) **Transcripción y Translación** : Ya liberado el RNA, se va al ribosoma e inmediatamente es reconocido como formador de proteínas, es decir, un RNA mensajero; de esta manera la célula infectada inicia la "fabricación" de proteínas virales correspondientes.

Una proteína importante de este virus es la polimerasa - del RNA, la cual autoduplica el RNA sintetizado en "tiras" de RNA que integrán, por una parte el gen gag, que se encarga de sintetizar el ácido nucleico y proteínas de la nucleocapside para formar el virión.

El siguiente gen formado es pol, el cual es formador de la enzimas polímerasa y transcriptasa reversa.

Y finalmente, se forma el gen env dando origen a las glicoproteínas de la " envoltura " del virión (Gp51, Gp60 y P24).

5) **Replicación del RNA viral**: El RNA viral de cadena - única sirve de moldé para la transcripción simultánea de varias cadenas complementarias (RNAc). El RNAc de cadena única se desprenden y al final sirven como molde para síntesis de - RNA dependientes, codificadas por el virus (Replicasas).

Finalmente es ensamblado en citoplasma y madura "emergi-endo" a través de la membrana celular que ha sido modificada al ser sustituidas las proteínas celulares por proteínas vi - rales (25, 30 , 40).

2.4 SIGNOLOGIA

La presentación de BLV puede ser de dos tipos, la esporádica y la enzoótica. Dentro de la esporádica tenemos tres formas que son la tímica, juvenil y cutánea.

1.- La forma "tímica" se presenta en animales jóvenes de 6 a 24 meses de edad, presentando un rápido crecimiento de tumores a todo lo largo del cuello hasta la cavidad torácica y los signos son: agrandamiento de timo, dificultad respiratoria, baja de peso con pérdida de apetito y muerte (6,10, 12,- 33, 38).

2.- La forma "juvenil" es esporádica, afectando a becerros desde su nacimiento hasta animales de dos años y los signos son: decaimiento, apatía, debilidad y linfadenopatía generalizada (10, 23).

3.- La forma "cutánea" que es la menos frecuente, afecta a vacas de menos de 4 años de edad, empieza con la aparición de pequeños engrosamientos cutáneos a lo largo del cuello, tienden a crecer y se van uniendo entre si hasta llegar a formar tumores o placas grandes de aproximadamente 15-25 cm. y son sensibles a la palpación (6,10, 34).

4.- La forma " adulta " o enzoótica, es la que con más frecuencia se observa, la de mayor incidencia , la de mayores pérdidas y más interes veterinario. Se presenta en animales mayores de 3 años y se caracteriza por una linfocitosis per-

sistente, en algunas ocasiones aunada a signos clínicos, que pueden variar de acuerdo al número e importancia de órganos involucrados y la velocidad de crecimiento de la masa tumoral (3, 6, 34).

En la forma hiperaguda el animal muere sin signos clínicos previos en un lapso de 1 a 2 días.

El curso agudo dura aproximadamente una semana y el crónico varios meses, iniciando ambos con una pérdida de peso, pérdida de apetito, anemia y debilidad muscular, la temperatura es normalmente estable. (3, 6, 7, 8, 11).

Los signos del BLV son variables e inespecíficos pero se enlistan por sistema y aparatos.

Aparato Digestivo : ganglios faríngeos aumentados de tamaño , dificultad para deglutir, timpanismo crónico, en casos avanzados mala digestión, diarrea y a veces melena.

Ojo : Protusión ocular y exoftalmia uni ó bilateral.

Sistema Cardiovascular: Presenta insuficiencia cardiaca, arritmias por bloqueo, taquicardia por las infiltraciones -- linfocitarias en corazón.

Aparato Respiratorio: Se observa disnea, ronquido, enfisema pulmonar e insuficiencia respiratoria ya que se afectan -- ganglios torácicos y el diafragma.

Sistema Linfopoyetico: Los ganglios aumentados de tamaño de dos a tres veces de lo normal , son de consistencia dura y ligeramente movable.

Aparato Reprodutor: Presenta dificultad al parto o puede ocasionar abortos y parálisis ó paresia de miembros posteriores debido a la presencia de tumores dentro de el conducto medular que al crecer comprimen la médula espinal provocando la parálisis.

Aparato Urinario: Existe disuria, hematuria y opacidad de la orina.

Hígado : Hepatomegalia y dolor a la palpación.

Bazo : Esplenomegalia, puede haber ruptura del órgano y siempre se observa dolor a la palpación.

Sistema Muscular : Los músculos más afectados son los del cuello, hombro y pared abdominal manifestando dolor a la palpación (10).

2.5 DIAGNOSTICO

El diagnóstico presuntivo de BLV sin lugar a dudas es en base a una buena historia clínica, es decir, antecedentes del animal, como sería: el lugar de procedencia, zona geográfica, finalidad zootécnica, la historia de los padres, enfermedades que ha padecido con anterioridad y tratamientos que ha recibido, y control de vectores (6,10).

Aunado a esto, debemos realizar un examen clínico propeúutico minucioso para lograr observar algunos hallazgos que nos den la pauta para establecer un diagnóstico presuntivo de BLV.

Tomando en consideración lo anterior, paralelamente se realizan exámenes serológicos, así como histopatológicos y hematología para establecer un diagnóstico integral.

HISTOPATOLOGIA

Se observan algunos linfoblastos neoplásicos con células largas con un núcleo poliformo, con el citoplasma basófilo, e infiltración perivascular de pequeños linfocitos, neutrofilos, eosinofilos y macrófagos en los órganos más involucrados como ganglios linfáticos, hígado, bazo, riñón, pulmón y piel (8,27,28,29).

HEMATOLOGIA

Por medio de la biometría hemática ó hemograma se puede realizar el conteo de la fórmula blanca.

Esta prueba es rápida, económica, pero poco sensible ó específica, ya que muchas enfermedades infecciosas pueden alterar la cuenta leucocitaria (Leucosis).

Los resultados del laboratorio se deben comparar con la pechoso ó positivo como se observa en las tablas uno y dos .

TABLA 1

CUADRO DE BENDIXEN

Linfocitos por milímetro cúbico

EDAD EN AÑOS	NORMAL	SOSPECHOSOS	POSITIVO
0 - 1	10,000	10-12,000	> DE 12,000
1 - 2	9,000	9-11,000	> 11,000
2 - 3	7,500	7,5-9,500	> 9,500
3 - 4	6,500	6-8,000	> 8,500
Más de 4	5,000	5-7,000	> 7,000

(3, 5, 8)

TABLA 2

Valores linfocitarios de la Comunidad Europea
para la Leucósis Bovina

E D A D	HEMATOLOGIA NEGATIVA	RANGO	HEMATOLOGIA POSITIVA
MENOS DE 1 AÑO	< 11,000	11 - 13,000	> 13,000
1 - 2 AÑOS	< 10,000	10 - 12,000	> 12,000
2 - 3 AÑOS	8,500	8,500-10,500	> 10,500
3 - 4 AÑOS	7,500	7,500- 9,500	> 9,500
4 - 5 AÑOS	6,500	6,500- 8,500	> 8,500
5 - 6 AÑOS	6,000	6,000- 8,000	> 8,000
MAS DE 6 AÑOS	5,500	5,500- 7,500	> 7,500

(23, 31, 32)

SEROLOGIA

1.- **Inmunofluorescencia** : En los métodos directos ó indirectos, el virus puede ser propagado en los cultivos celulares , su sensibilidad es variable y se haría de rutina comparado con IDGA (34).

2.- **Inmunoperoxidasa** : Esta técnica emplea a la peroxidasa - que es obtenida del rábano, tiene la ventaja de ser observado como un portador oculto en el microscopio a trasluz (34).

3.- **Quimiluminencia** : Se utiliza agua destilada y alfatocofe-rol se mezcla con sangre completa llegando a formar una línea suplementaria en el plasma. Normalmente la intensidad es tenue o muy suave, pero se incrementa la tonalidad de esta línea en sangre proveniente de animales con BLV (32).

4.- **Suero Neutralización, Hemoaglutinación Indirecta, Inmunoeletroforesis, Reacción en Cadena de la Polimerasa, Factor Inhibitorio del Factor Tumor Necrosante, Fijación del Complemento y Radio Inmunoensayo** : Son siete técnicas que al igual que las tres anteriores estan completamente fuera de nuestro alcance. Se requiere de un laboratorio altamente tec- nificado, asi como Médicos con mucha experiencia y capacidad para realizar estas técnicas, además de que su costo es muy elevado (2, 7, 8, 14, 15, 34, 38).

5.- **ELISA (Enzyme Linked Inmunosorbent Assay)**: Es más sencible que IDGA, se puede detectar más anticuerpos tempramente, pero es más costosa (1, 16, 17, 33, 34). Es de reciente ingreso a México, y además ; se practica muy poco. (*)

6.- IDGA (Inmunodifusión en agar gel):Definitivamente es la técnica standar aceptada internacionalmente para la detección de anticuerpos contra BLV, que consiste en una inmunoprecipitación en un medio semisólido, donde el antígeno y los anticuerpos se difunden a través de los pozos correspondientes con una velocidad inversamente proporcional a sus pesos moleculares.

Es altamente sensible, económica y rápida. No requiere de equipo especializado ni tampoco técnicos ó Médicos capacitados (1,2,3,6,7,9,13,18,19,20,22,24,25,26,30,32,39).

Otros métodos como:

7.- Microscopio Electrónico : Observación directa del virus.

8.- Inoculación del virus a otros animales: (borrego ó rata).

(*) Comunicación personal del Centro de Diagnóstico Salud Animal de la S.A.G.A.R. en Tecamac Estado de México.

2.6 CONTROL Y PREVENCIÓN

El verdadero control es el desarrollo de una vacuna y se puede utilizar para erradicar más rápidamente la BLV.

La prevención de la infección depende de la vacuna. En general, existen 3 tipos de antígenos usados para la vacunación que son : 1) La Glicoproteína viral, 2) virus inactivado y 3) línea de células linfoides.

Algunos países desarrollados como Alemania (unida), la ex-Unión Soviética, Rumania y los Estados Unidos ya están trabajando con estas vacunas, aunque con resultados muy variables, pero la mayoría satisfactorios sobre todo los del tipo virus inactivado. (4,7,12).

Desafortunadamente en México estamos muy lejos de ésta realidad, sin embargo, se pueden realizar otras medidas de control de acuerdo a nuestro nivel, pero debemos tener presente que con estas medidas nunca erradicaríamos la enfermedad solo disminuye el índice.

I - Pruebas y Matanza: Todos los animales que resulten seropositivos en IDGA serán enviados al sacrificio. La desventaja es que se sufre gradualmente una crisis económica, pero se eliminan rápidamente los animales seropositivos. La prueba de IDGA se debe realizar cada 4 meses.

II- Pruebas y Separación : Las vacas seropositivas se envían al rastro, sus hijas y las vaquillas seropositivas son separadas de las demás vaquillas y becerros libres de BLV.

Las desventajas son que la prevalencia y distribución puede tomar varios años para la eliminación, requiere de un monitoreo más continuo con IDGA y requiere de más espacios para la separación de animales, la ventaja es que puede seleccionar prematuramente su ganado.

III- Pruebas e Implementos en corrección de manejo:

- 1.- Promover la prevención iatrogénica.
- 2.- Implementar un programa de control contra los insectos.
- 3.- No introducir animales de reemplazo sin monitoreo previo .
- 4.-Animales adultos, realizar la prueba de IDGA antes de entrar a la explotación (4, 7) .

EN ANIMALES JOVENES:

A) Separar los seropositivos de los animales libres de BLV.

B) Dar calostro ó leche Pasteurizada y Congelada.

Sus desventajas son que requieren de más monitoreo en el ganado, más tiempo y organización.

2.7 TRATAMIENTO

La posibilidad de influir terapéuticamente sobre las leucosis se limita a detener pasajeramente la proliferación de leucocitos mediante:

- 1- Mostaza Nitrogenada (Mecloretamina y Ciclofosfamida) en dosis de 30 a 40 mg./diario durante 5 días consecutivos (1, 6).
- 2- Trietilenemelamine 2 mg./kg oral por tiempo indefinido.
- 3- Irradiación: En veterinaria se ha usado muy poco, sobre todo en pequeñas especies.
- 4- Otros Antineoplasicos: Su costo es muy elevado y no son especificos para la Leucosis.
 - a) Metrotexato 2.5 mg/m² 1 vez por semana.
 - b) Vincristina 0.020 mg/m² 1 vez por semana.
- 5- Inmunoterapia:
 - a) Levamisol 7.5 mg/kg. (Ripercol)
 - b) Glicofosfopeptical 10 mg./Kg/día (Inmunoferon)
 - c) Acido Yatrénico con caseína (Yatren Caseín)
 - d) Timomodolina 1 mg./Kg. (Leucotrofina)
- 6- Quimioterapia antiviral
 - a) Azidotimidina (Retrovir (AZT)).
 - b) Ganciclovir
 - c) Aciclovir

3. JUSTIFICACION

A través de este estudio inmunoserológico se determinó que el antígeno utilizado (Cepa "Cuautitlan") respondió satisfactoriamente comparandolo con el antígeno comercial - (Pitman - More), además ; el gel que fué seleccionado nos mostró todas sus bondades observandose con más claridad las líneas de precipitación en las pruebas.

También es justificable el hecho de que en todos los --
hatos muestreados existe la presencia de animales con anti -
cuerpos específicos contra el BLV, con este fin, se pueden
recomendar y sugerir el uso de IDGA y el virus cepa "Cuauti -
tlan", y también una amplia gama de recomendaciones en el
control y prevención de la enfermedad.

4. HIPOTESIS

1. Si en los animales muestreados que han presentado sig-nología de crecimientos tumorales y/o ganglionares, ó, que contrariamente no existe ningún signo clínico y se encuentran seropositivos al BLV mediante la prueba de IDGA, entonces se puede presumir la presencia del antígeno viral en los hatos muestreados.

2. Si en los diferentes geles utilizados, se observa una - línea de identidad o precipitación en diferentes grados y ve-locidad, utilizando el mismo suero , el mismo antígeno y el mismo procedimiento, entonces se considera que un gel presen-ta moléculas más pequeñas que los geles restantes.

5. OBJETIVOS

GENERAL

Determinar anticuerpos específicos al virus de la Leucosis Bovina en ganado lechero (hatos tecnificados y de traspas-
tio) mediante la prueba de Inmunodifusión en Agar Gel.

PARTICULARES

- 1.- Comprobar la eficacia de un antígeno comercial con el antígeno elaborado hace 10 años y conservado a 4° C durante ese lapso.
- 2.- Determinar la prevalencia de la Leucosis Bovina en la zona de Cuautitlán.
- 3.- Determinar la prevalencia de la Leucosis Bovina en los diferentes hatos de cada una de las zonas de Cuautitlán.
- 4.- Sugerir medidas de control, prevención y tratamiento de la enfermedad.
- 5.- Determinar la eficacia de diferentes Geles.
- 6.- Determinar la eficacia de diferentes solventes.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1.1. MATERIAL DE CRISTALERIA

- 1- Pipetas reciclables varios volúmenes
- 2- Vaso de precipitados varios volúmenes
- 3- Matraz varios volúmenes
- 4- Probeta varios volúmenes
- 5- Portaobjetos
- 6- Tubos (vacutainer)

6.1.2. MATERIAL DE EQUIPO ESPECIALIZADO

- 1- Refrigerador doméstico.
- 2- Lector (fuente de luz)
- 3- Centrífuga
- 4- Balanza mecánica y electrónica
- 5- Autoclave a Presión
- 6- Cámara húmeda
- 7- Multipipeta con puntas "para"
- 8- Bomba de vacío

6.1.3 MATERIAL QUIMICO-BIOLÓGICO

- 1- (S.S.F) Solución Salina Fisiológica 0.85 †
- 2- Agarosa
- 3- Agar Noble
- 4- (NaCl) Cloruro de Sodio
- 5- (PBS) Solución boopher de Phosphatos
- 6- (H2O) bidestilada

6.1.4 MATERIAL BIOLÓGICO

- 1- Sueros problemas (467)
- 2- Virus de BLV cepa "Cuautitlán"
- 3- Suero control positivo
- 4- Suero control negativo

6.1.5 MATERIAL VARIOS

- 1- Mechero
- 2- Gradillas
- 3- Magneto
- 4- Dado sacabocado para 6 perforaciones periféricas y una central.

6.2 PREPARACION DEL AGAR

Antes de la elaboración del agar, se sugirió trabajar con 4 diferentes fórmulas y poder observar cuál de ellos se comportaba mejor; más adelante mencionamos sus componentes.

La preparación del agar, es similar para todos los geles y a continuación se describe:

- Pesar en la balanza electrónica el NaCl (8.5 gr) y la agarosa (.9 y 1 gr).
- Esterilización de agua destilada
- Dejar reposar a temperatura ambiente
- En un vaso de precipitados de 200 ml., depositamos los componentes de la fórmula previamente pesados.
- Posteriormente se deposita el agua c.b.p. 100 ml.
- Calentar el compuesto en el mechero hasta que presente una tonalidad cristalina o transparente ya que su color original es blanco opaco.
- Una vez hecha la mezcla se depositan de 3 a 4 ml. en un portaobjetos y se deja solidificar solo durante 20 minutos a temperatura ambiente.
- Por último se utiliza el dado sacabocado para realizar los pozos y desprenderlos con la bomba de vacío.

A continuación se mencionan los 4 diferentes agares.

PREPARACION DEL AGAR

- Agar 1: 8.5 gr. de NaCl
.9 gr. de Agarosa (S.A.G.A.R.)
c.b.p. 100 ml.

- Agar 2: 8.5 gr. de NaCl
.9 gr. de Agar Noble (Pitmman-More).
c.b.p. 100 ml.

- Agar 3: 1 gr. de Agar Noble (Laboratorio Argentino)
c.b.p. 100 ml.

- Agar 4: 1 gr. de Agarosa (Personal)
c.b.p. 100 ml.

6.3 TITULACION DEL ANTIGENO

- La primera duda que surgió con respecto al virus, fué si realmente era confiable su viabilidad, y lo comento porque este virus tenia aproximadamente 13 años de haberse obtenido, aunque es mucho tiempo, siempre estuvo bien manejado en refrigeración (1° a 4°C).

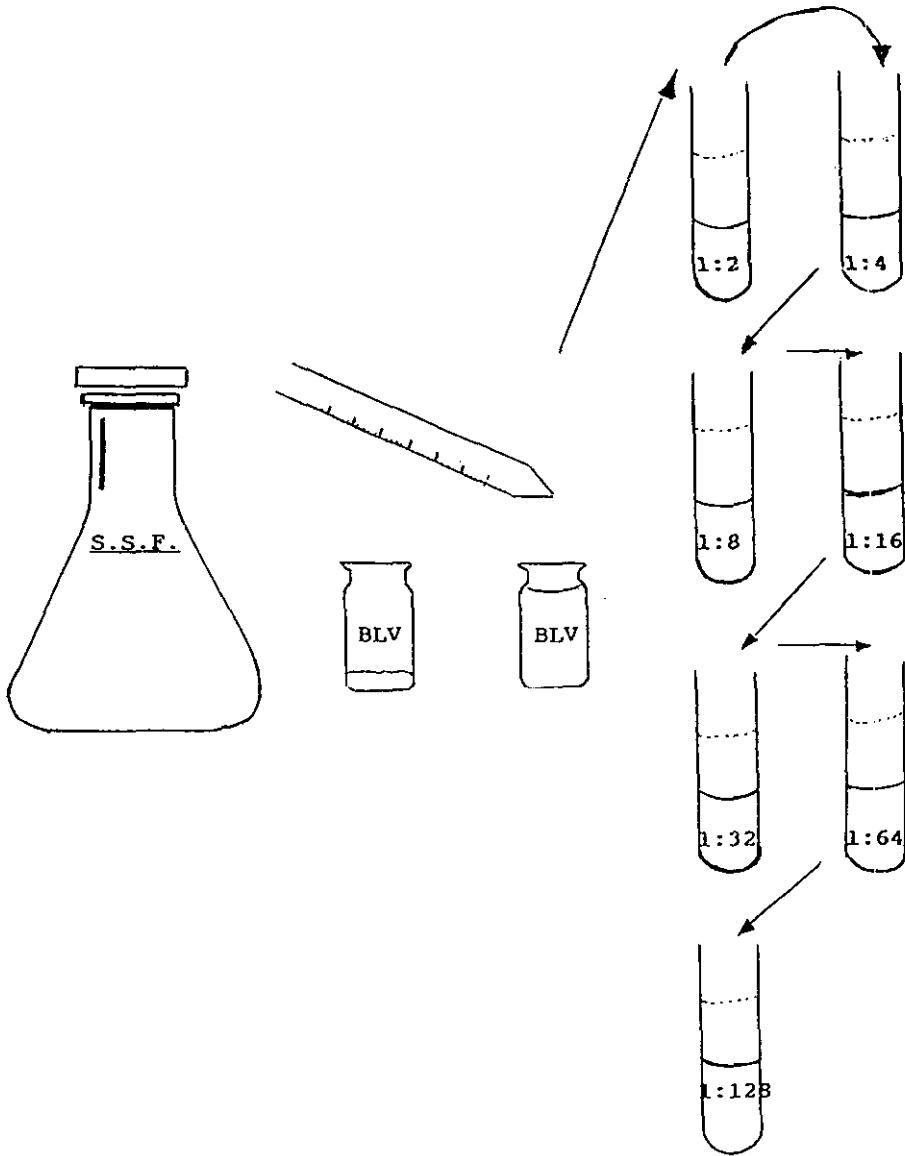
La responsabilidad de manejarlo bien y no desperdiciar nada nos conducia a una doble responsiva ya que era un único vial liofilizado del virus de BLV.

Teniendo en cuenta estos dos aspéctos se procedió a trabajar el virus de BLV cepa " Cuautitlán."

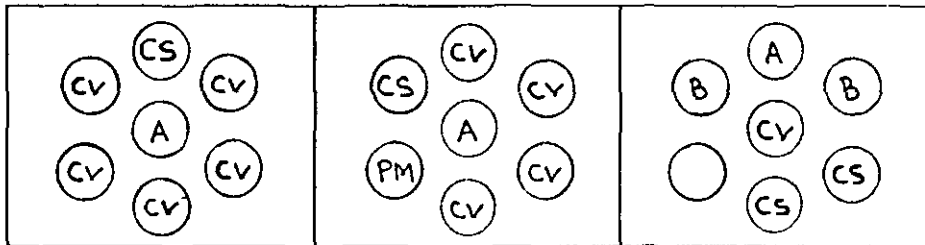
El liofilizado se manejo siempre en una cubeta llena de hielo, así como sus diluciones (baño de hielo).

- Se le aplicó 1 ml. de S.S.F. esteril al liofilizado y 1 ml. a cada tubo de ensaye.

- Posteriormente se realizarón diluciones dobles como se muestra en el sig. esquema.



- Ya obtenidas las diluciones se procede a depositar una dilución en cada uno de los pozos siguiendo un orden y en forma creciente como se ejemplifica a continuación.



A: Suero de toro llamado Maniqui, seropositivo a BLV en ELISA

B: Suero de toro llamado Colorado, Sospechoso a BLV en ELISA
Ambos eran controles positivos.

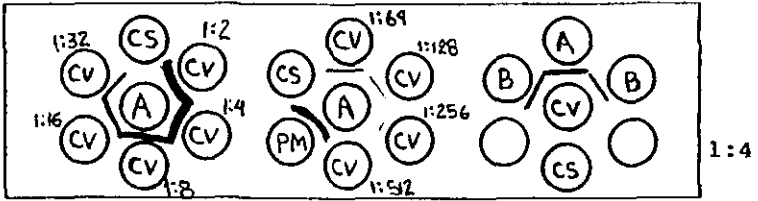
CS: Suero canino, es el control negativo.

PM: Antígeno gp 51 y p24 del "kit" comercial Pitmman-More.

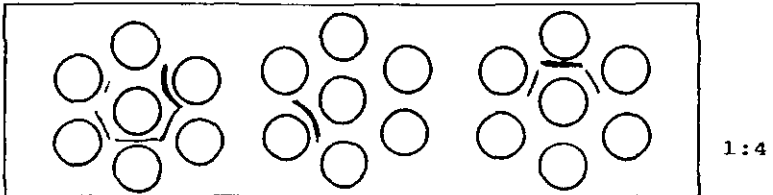
CV: Virus de BLV cepa "Cuautitlán. En diluciones de 1:2 a 1:512, realizando diluciones dobles.

La lectura se llevó a cabo a las 24, 48, y 72 hrs. sometiendo a las placas en cámara húmeda a temperatura ambiente que promedia 24°C, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

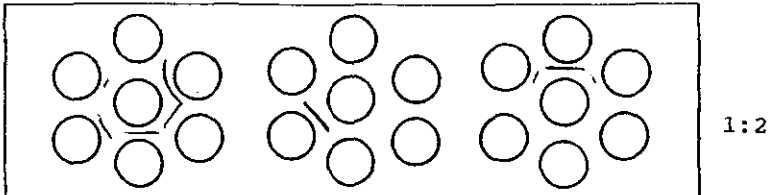
AGAR 1



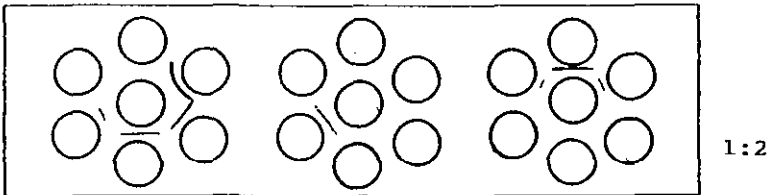
AGAR 2



AGAR 3



AGAR 4



Notese como se observa la línea de identidad en diferentes grados.

6.4 SUEROS

Se colectarán 467 muestras de sangre sin anticoagulante (5-10 ml.) de vacas Holsteín Friesian en estabulación intensiva (Excepto zona Poniente), variando la edad de 4 a 10 años.

En la zona centro y poniente se muestreo el hato completo, mientras que la zona oriente fuerón colectados 100 sueros al azar, y un último grupo de 100 sueros que habían reportado con problemas reproductivos (Repetición de calores y abortos).

Los animales que se estudiaron para fines de este trabajo se organizarón de acuerdo al lugar de procedencia ó localización.

En el siguiente cuadro se menciona el número de animales muestreados:

DISTRIBUCION DE HATOS MUESTREADOS

EXPLOTACION	ZONA	ANIMALES MUESTREADOS
Rancho Xaltipa	Oriente	200
Rancho Terremoto	Oriente	101
Rancho Almaraz	Centro	72
Rancho " X "	Poniente	39
Rancho " Y "	Poniente	55

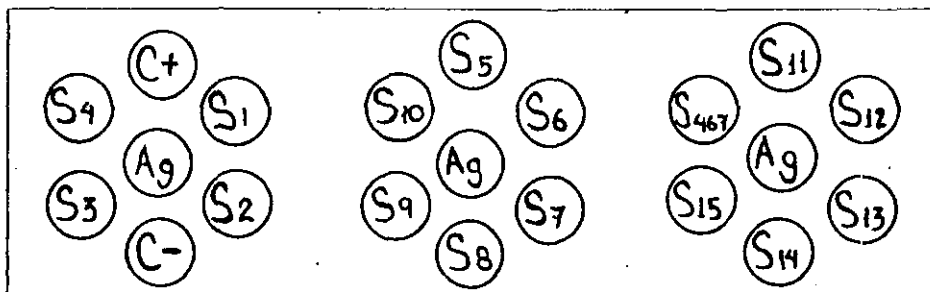
T O T A L

467

El procesamiento del suero comienza desde la colección de sangre, es decir; en tubos vacutainer previamente identificados se obtuvo de la vena yugular, coccígea ó mamaria (7-10 ml). Obtenida la muestra se mantuvo en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente en forma inclinada permitiendo la retracción inicial del coágulo, posteriormente se refrigeró (4 a 10° C) durante 24 horas e inactivándose a 50° C durante 30 minutos en baño María. En caso necesario se clarifican por centrifugación a 2000 RPM 5 minutos, obteniéndose el suero por decantación en tubos estériles que se mantuvieron a 20° C hasta el momento de la prueba.

El preparado de la laminilla y el título del antígeno ya se mencionaron anteriormente.

La siguiente ilustración nos detalla mejor el proceso:



Ag.1:8 : BLV Cepa " Cuautitlán "

C + : Control Positivo

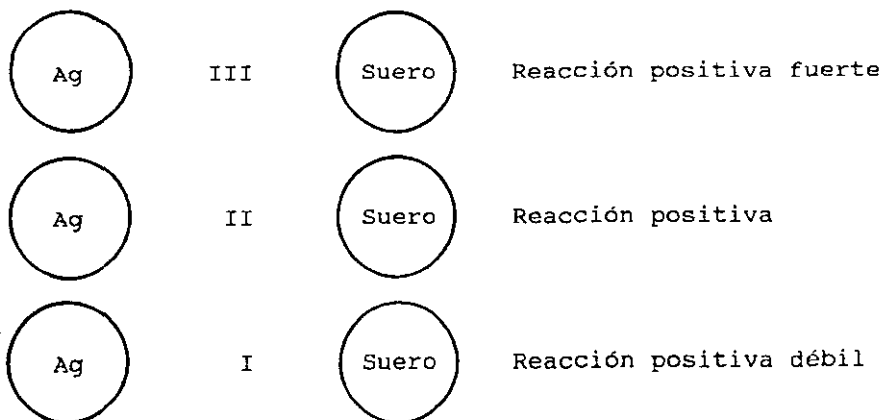
C - : Control Negativo

S1, S2.....S467: Sueros Problema:

7. RESULTADOS

Para mejores métodos didácticos, la línea de identidad se dividió en 3 diferentes tipos de reacciones.

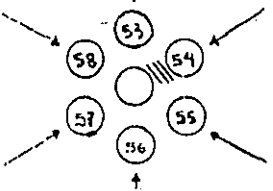
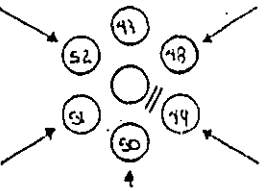
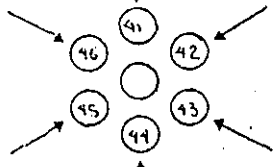
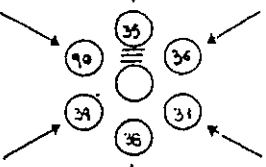
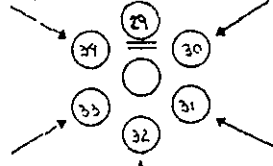
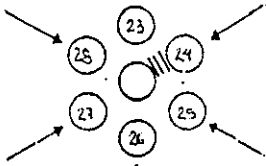
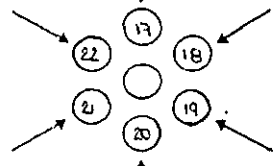
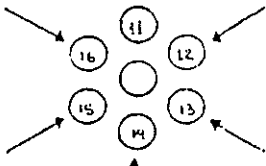
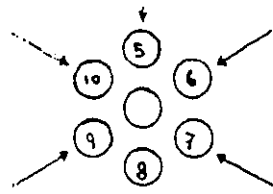
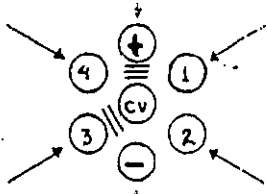
Observandose de la siguiente manera:



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

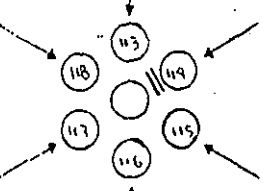
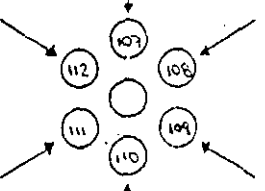
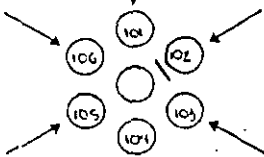
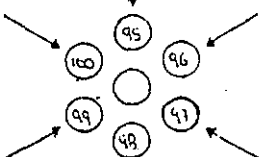
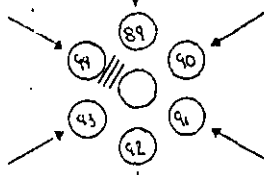
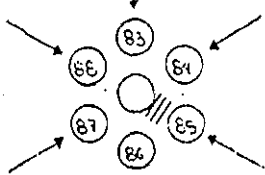
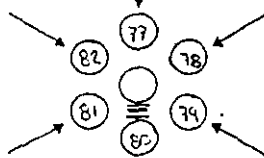
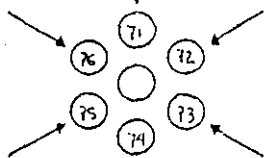
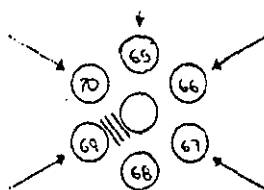
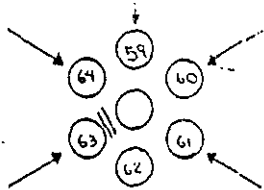
Fecha de Lectura: Post. 24 hrs. Nombre de la Explotación: Xaltipa

Antígeno: Cepa "Cuautitlán" Sueros Positivos: 3-24-29-35-49-54



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Posti-26 hrs Nombre de la Explotación: Xaltipa
 Antígeno: Cepa "Cuautitlán" Sueros Positivos: 63-69-80-85-94-102-114

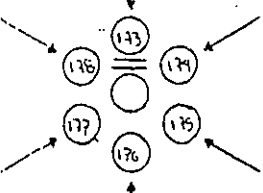
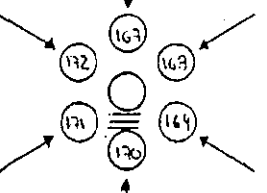
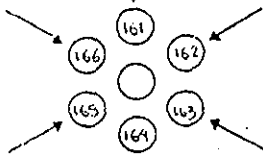
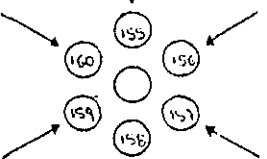
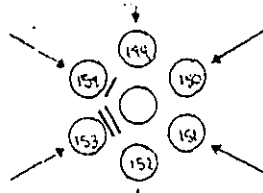
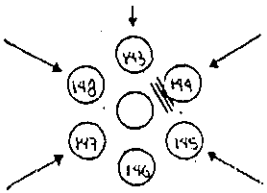
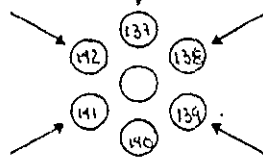
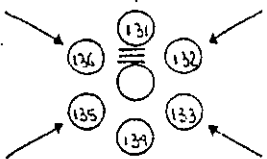
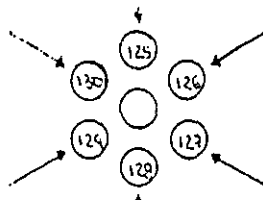
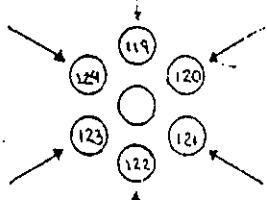


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post-24 hrs. Nombre de la Explotación: Naltipa

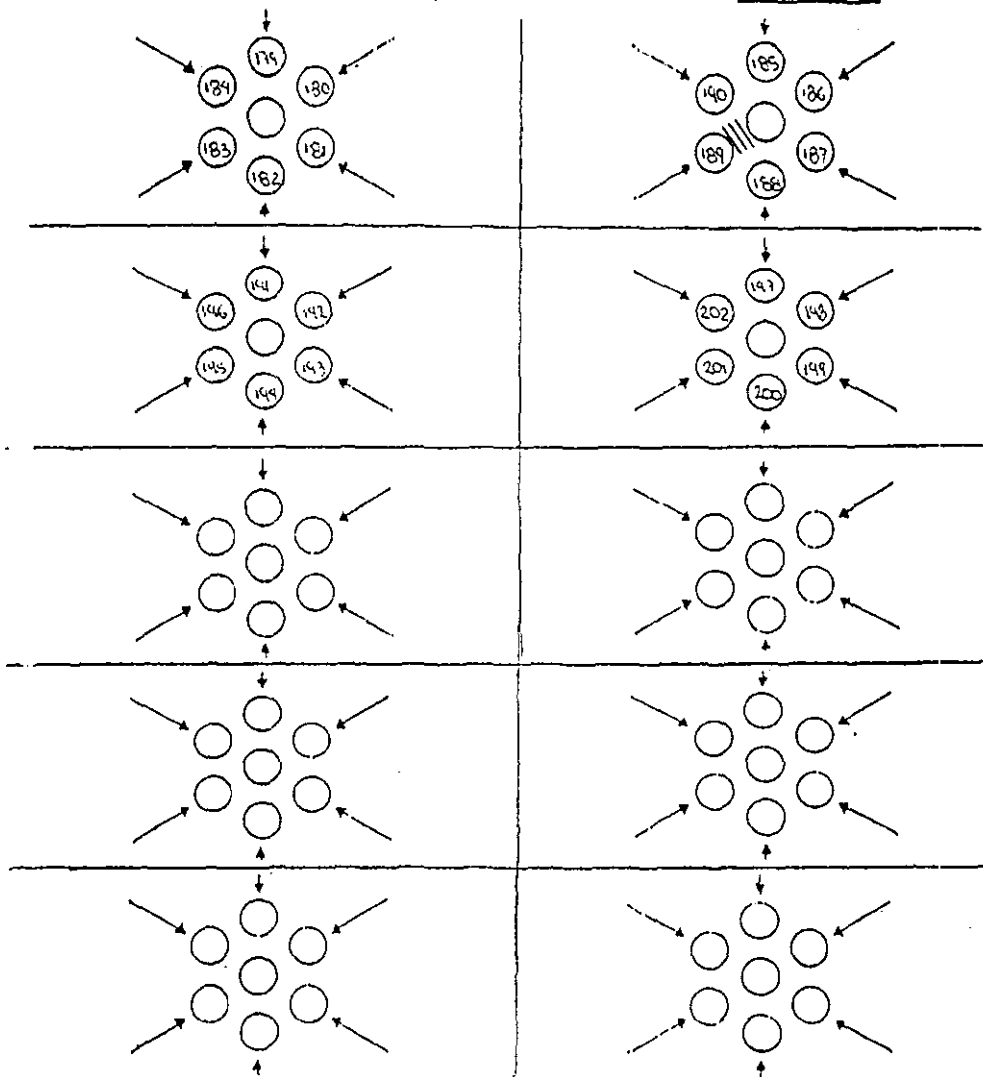
Antígeno: Cena " Cuautitlán "

Sueros Positivos: 131-144-153-154-170-173



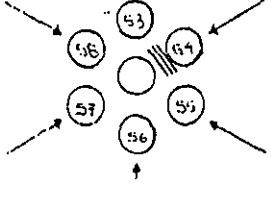
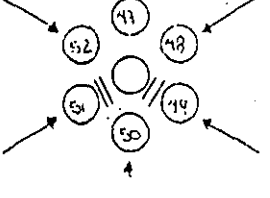
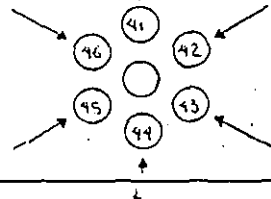
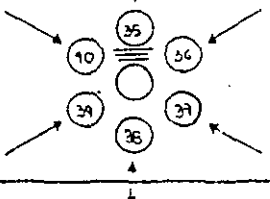
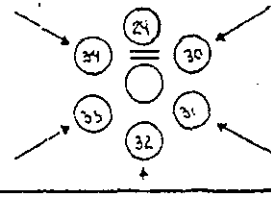
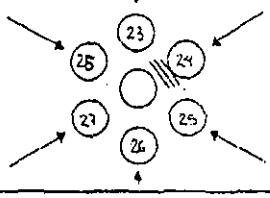
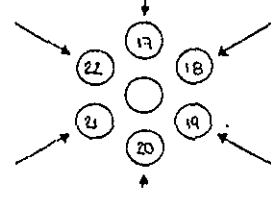
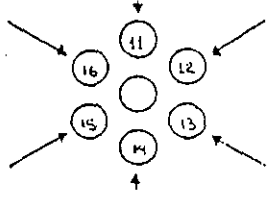
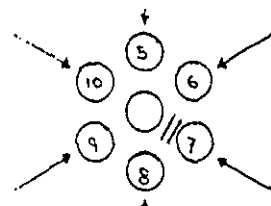
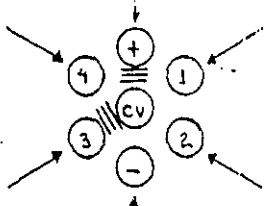
Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 24 hrs. Nombre de la Explotación: Xaltipa
 Antígeno: Cepa "Chautitlán" Sueros Positivos: 189



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 48 hrs. Nombre de la Exploración: Xaltipa
 Antígeno: Lepra "Cautilán" Sueros Positivos: 3-7-24-29-35-49-51-54

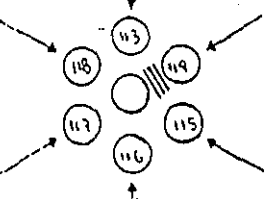
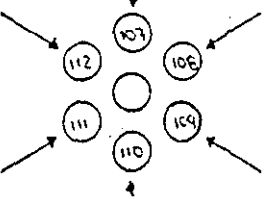
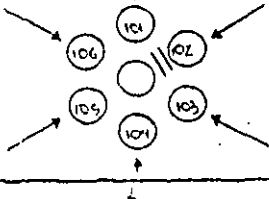
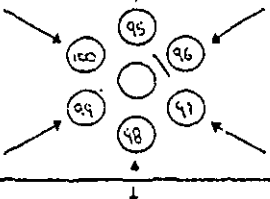
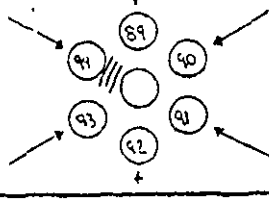
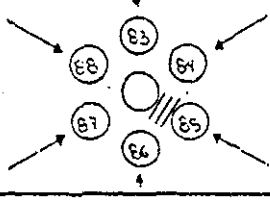
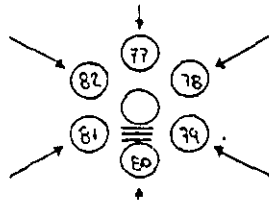
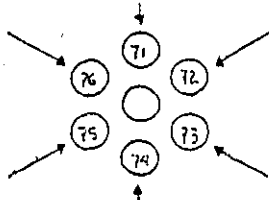
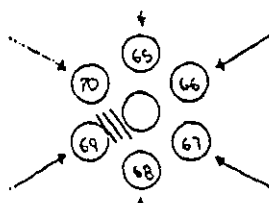
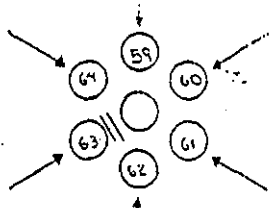


Formato de Diagnóstico IDGA para B.V

Fecha de Lectura: Post -48 hrs. Nombre de la Explotación: Xaltipa

Antígenos: Cena "Chautitlán"

Sueros Positivos: 67-69-80-85-94-96-102-114

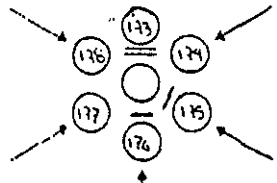
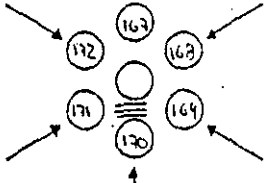
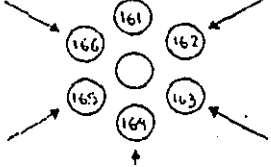
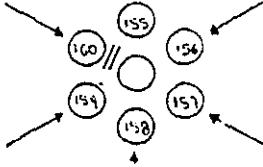
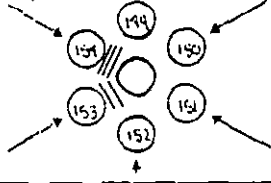
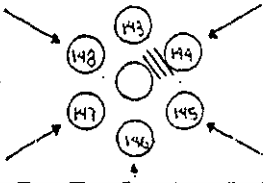
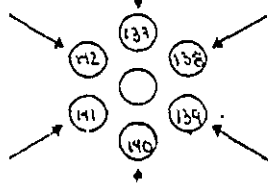
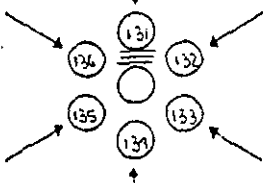
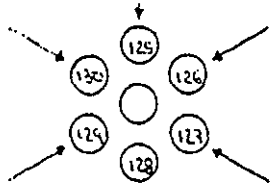
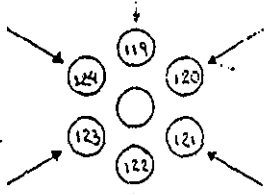


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 48 hrs. Nombre de la Explotación: Xaltipa

Antígenos: Ceja "Cuautitlan"

Sueros Positivos: 131-144-153-154-160-170-173-175-176

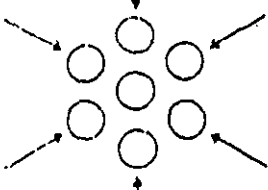
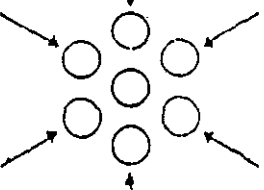
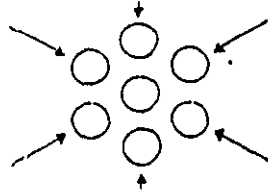
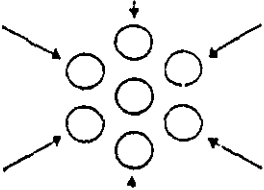
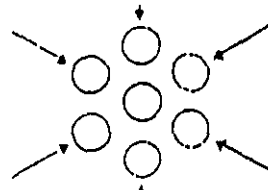
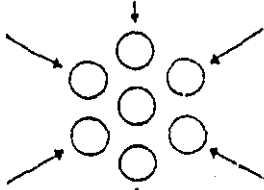
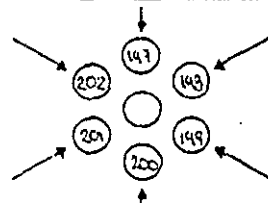
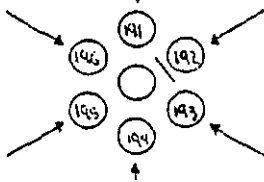
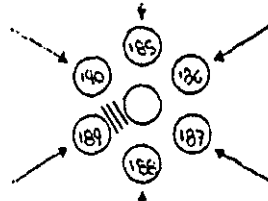
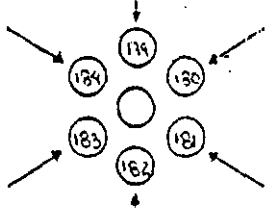


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post -48 hrs. Nombre de la Explotación: Xaltipa

Antígeno: Ceja "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 185-192

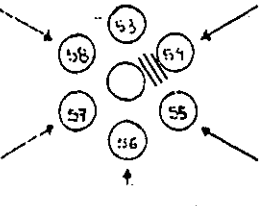
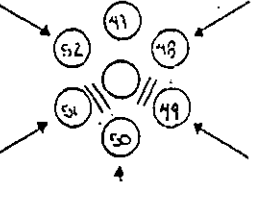
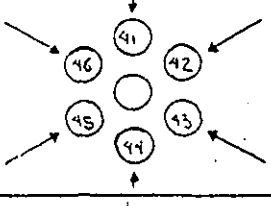
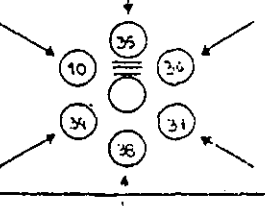
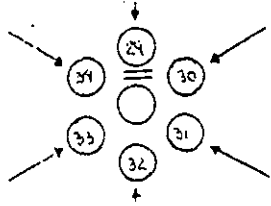
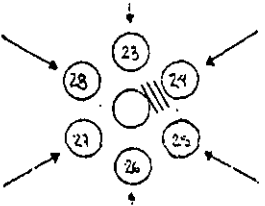
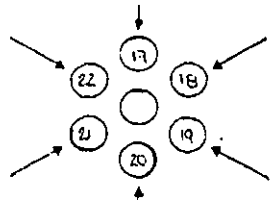
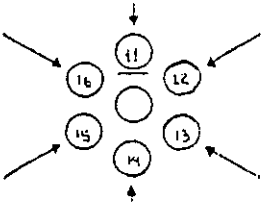
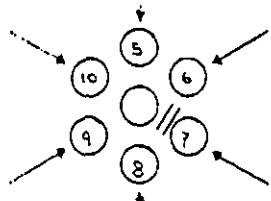
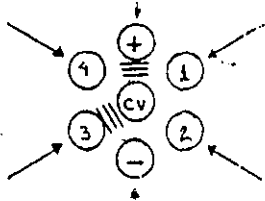


Formato de Diagnóstico IDCA para b1V

Fecha de Lectura: Post- 72 hrs. Nombre de la Explotación: Xaltipa

Antígenos: Cepa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 3-7-11-24-29-35-43-51-54

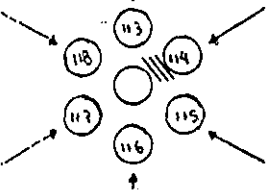
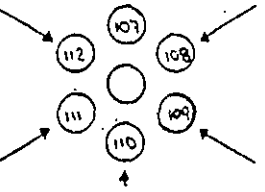
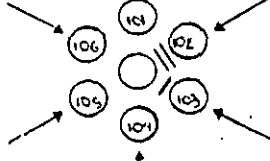
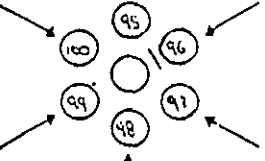
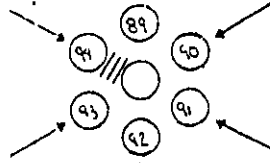
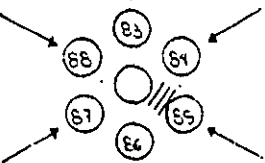
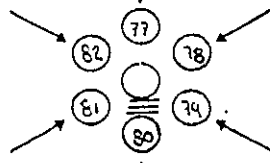
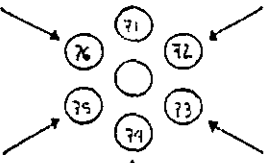
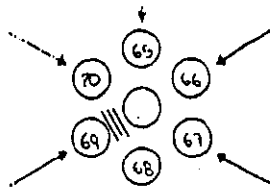
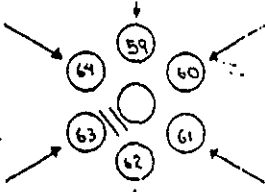


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 72 hrs. Nombre de la Explotación: Naltipa

Antígeno: Ceja "Cua" 53a"

Sueros Positivos: 63-69-81-85-94-96-102-103-114

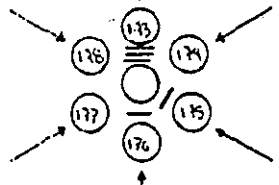
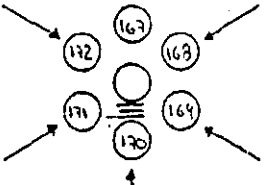
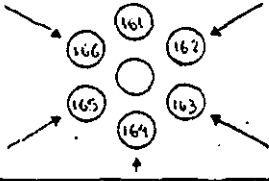
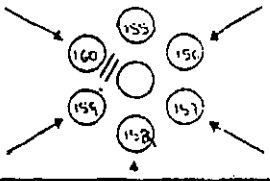
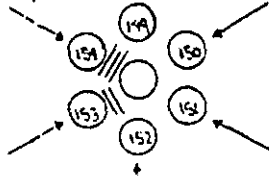
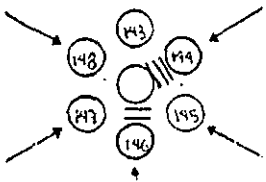
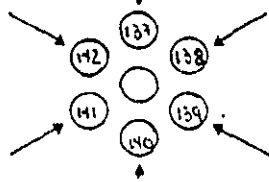
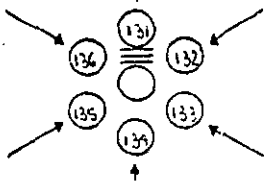
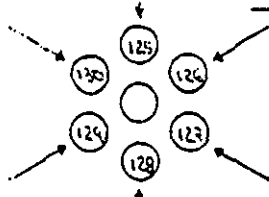
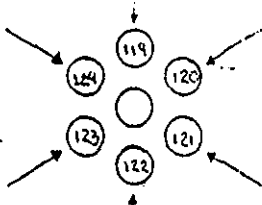


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 72 hrs. Nombre de la Exploración: Múltipla

Antígeno: Copa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 131-144-145-153-154-160-171-172-175-176

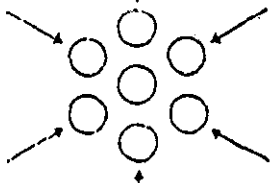
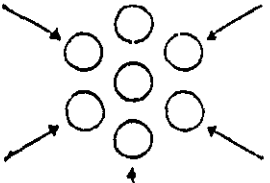
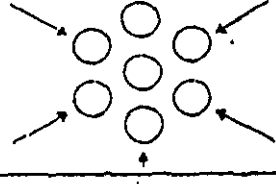
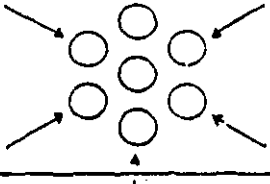
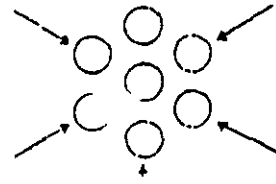
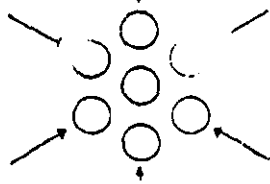
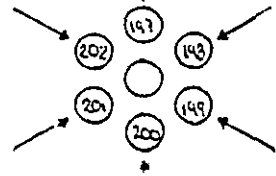
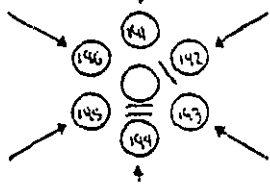
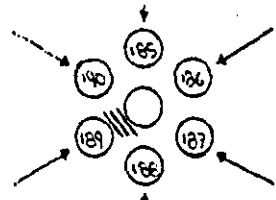
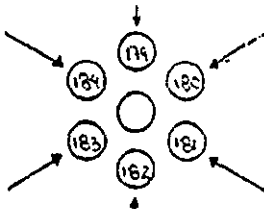


Formato de Diagnóstico IDGA para ELV

Fecha de Lectura: Post -72 hrs. Nombre de la Explotación: Kaltipa

Antígenos: Cena "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 189-192-194

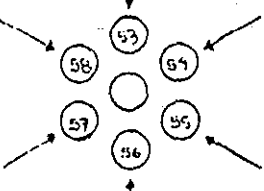
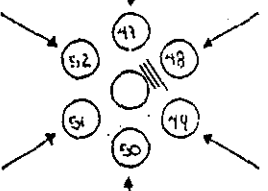
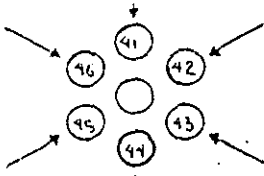
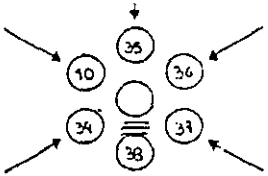
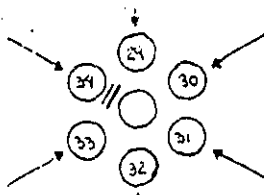
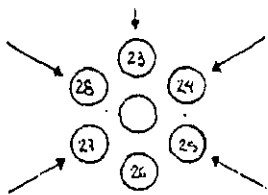
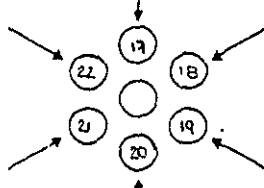
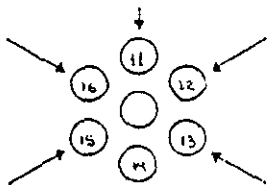
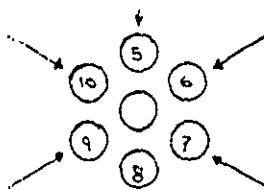
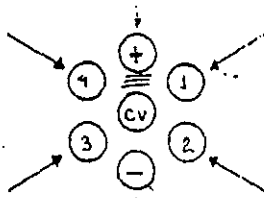


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 24hrs. Nombre de la Explotación: Terremoto

Antígeno: Cepa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 34-38-48

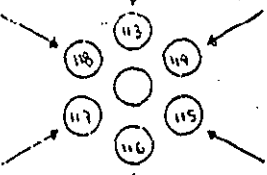
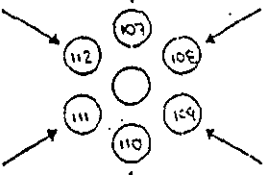
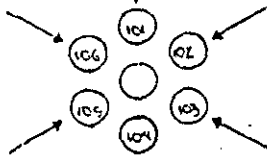
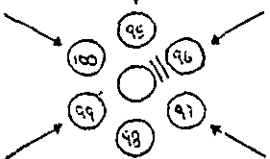
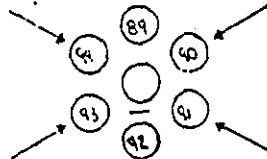
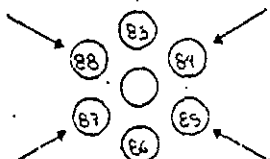
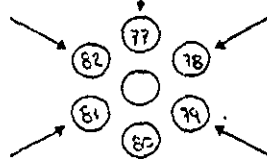
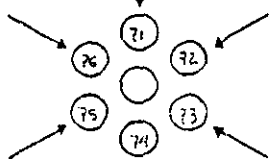
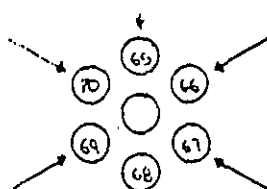
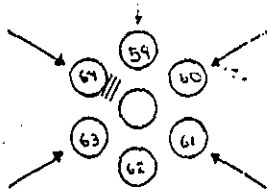


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 24 hrs. Nombre de la Explotación: Terrenoto

Antígeno: Copa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 64-92-96



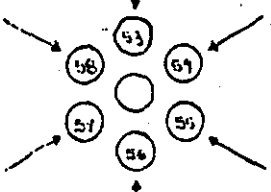
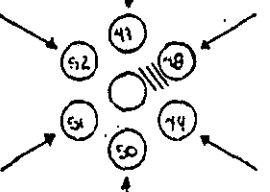
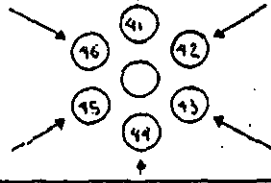
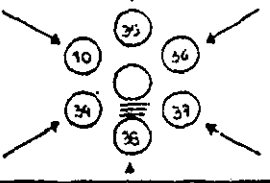
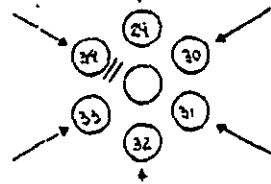
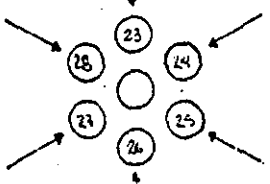
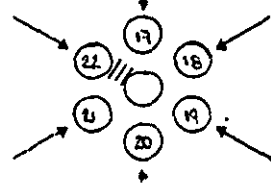
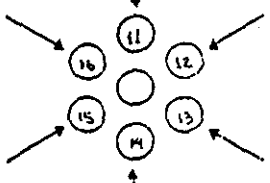
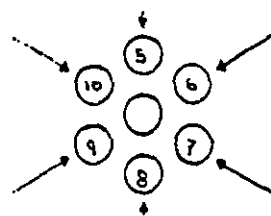
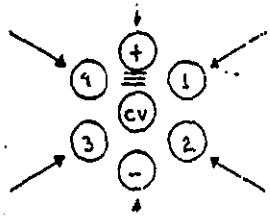
Formato de Diagnóstico IDGA para BIV

Fecha de Lectura: Post- 48 hrs

Nombre de la Explotación: Terremoro

Antígeno: Cepa "Cuautitlán"

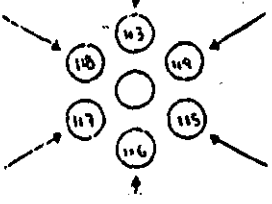
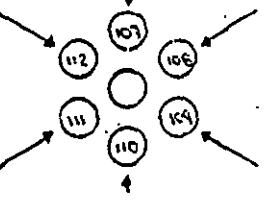
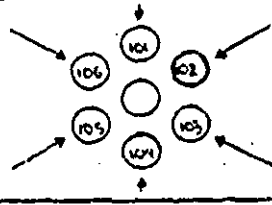
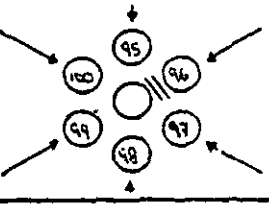
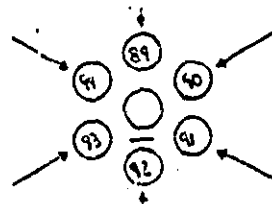
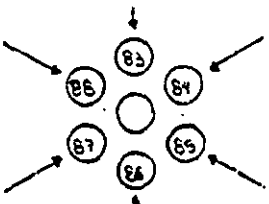
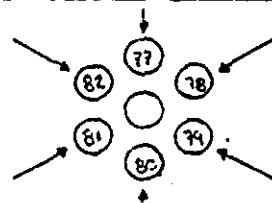
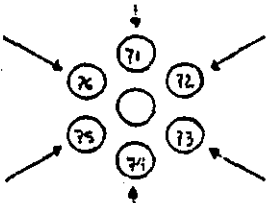
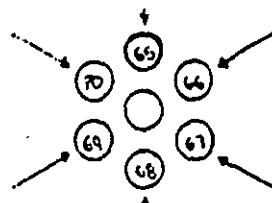
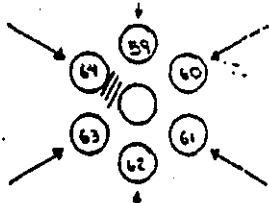
Sueros Positivos: 22-34-38-48



Formato de Diagnóstico IDGx para BLV

Fecha de Lectura: Post- 48 hrs. Nombre de la Explotación: Terrenoto

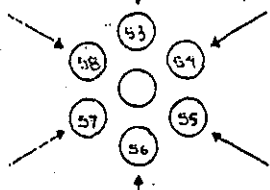
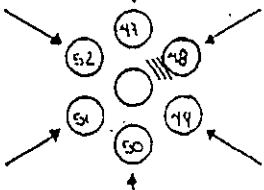
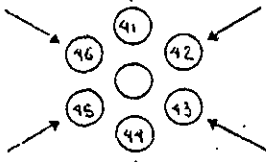
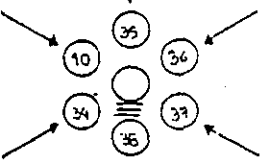
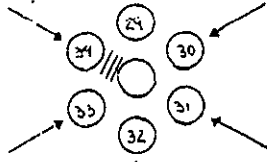
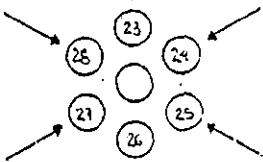
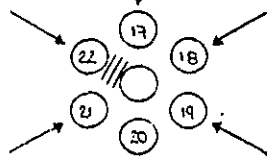
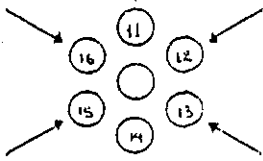
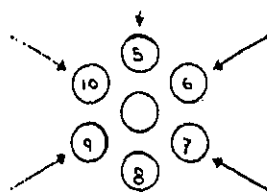
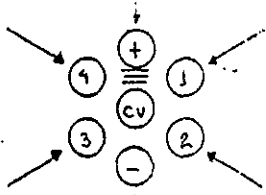
Antígenos: Cepa "Cuautitlán" Sueros Positivos: 64-92-96



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post -72 hrs. Nombre de la Explotación: Terremoto

Antígeno: Cera "Caucelán " Sueros Positivos: 22-34-38-48

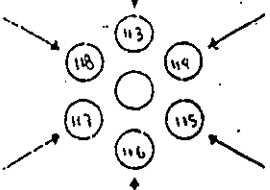
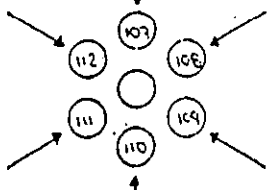
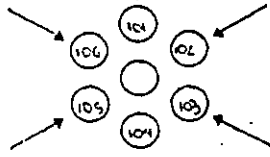
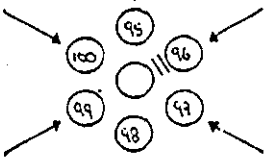
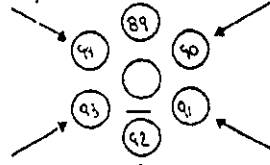
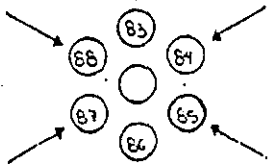
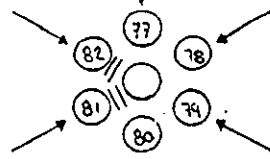
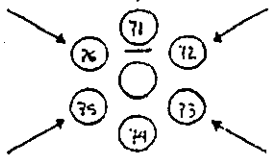
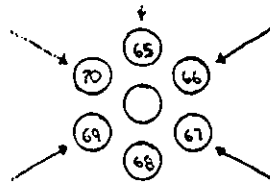
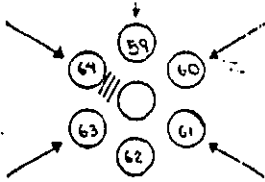


Formato de Diagnóstico IDGA para B-V

Fecha de Lectura: Post -72 hrs. Nombre de la Explotación: Terremoto

Antígeno: Cepa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 64-71-81-82-92-96

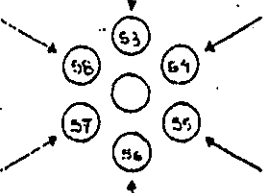
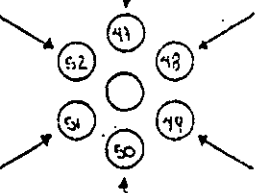
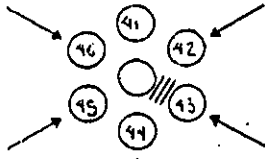
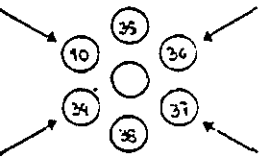
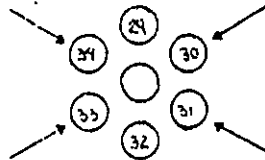
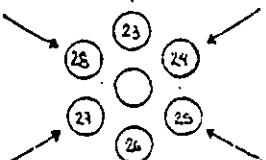
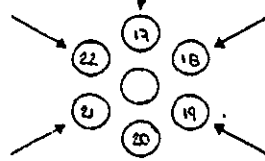
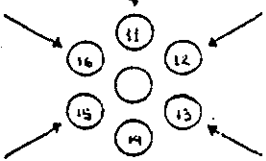
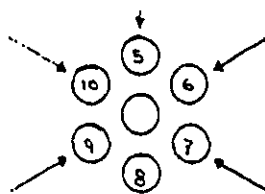
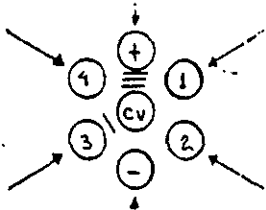


Formato de Diagnóstico IDGA para B.V

Fecha de Lectura: Post- 24 hrs. Nombre de la Explotación: Almaraz

Antígenos: Cepa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 3-43

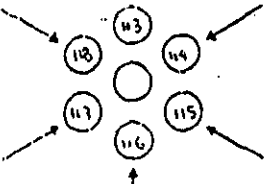
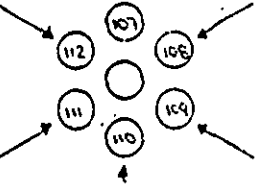
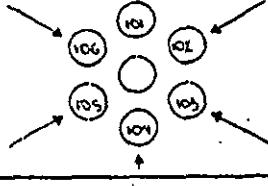
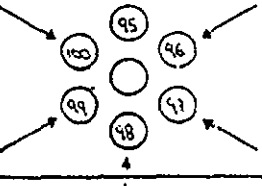
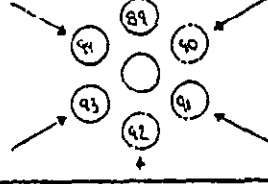
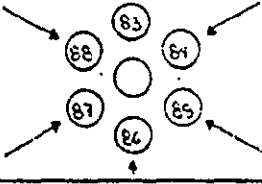
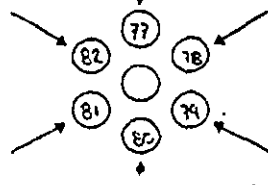
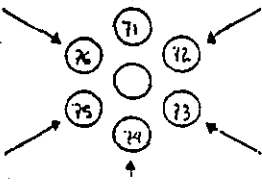
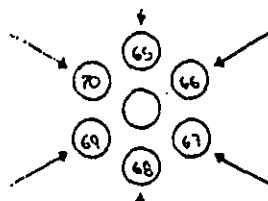
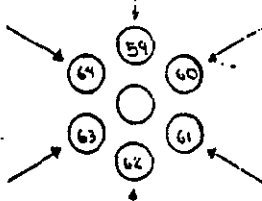


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post-24 hrs. Nombre de la Explotación: Almaraz

Antígeno: Cepa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: _____

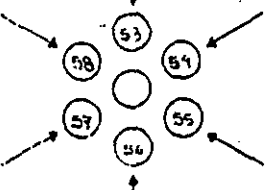
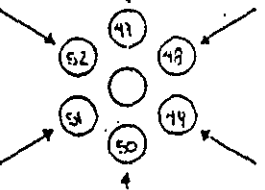
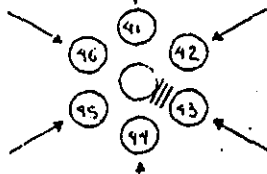
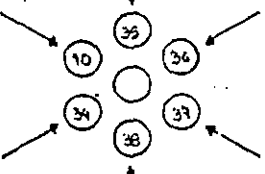
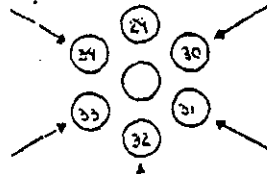
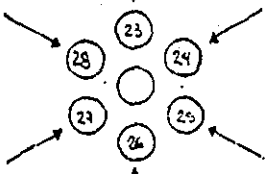
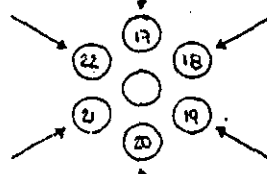
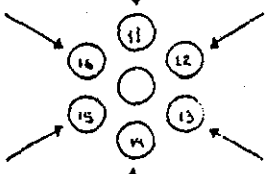
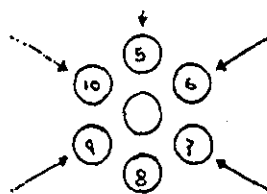
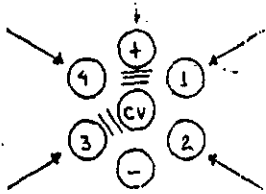


Formato de Diagnóstico IDGA para M.V

Fecha de Lectura: Post- 48 hrs. Nombre de la Explotación: Almaraz

Antígeno: Cepa "Cunutilián"

Sueros Positivos: 3-43

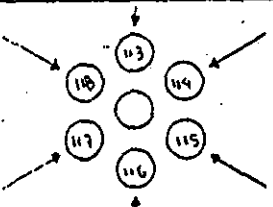
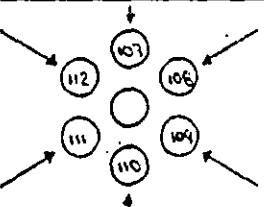
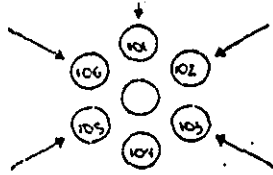
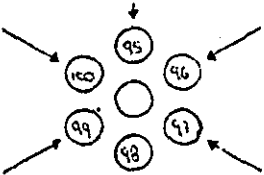
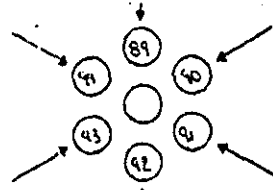
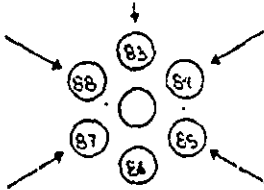
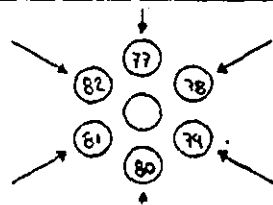
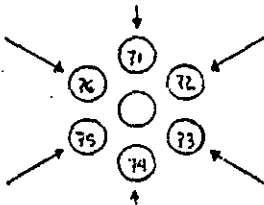
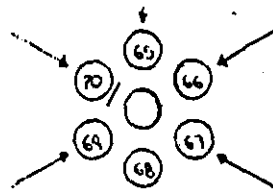
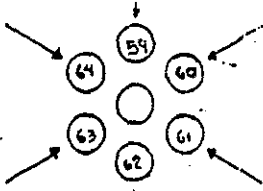


Formato de Diagnóstico IDGA para ELV

Fecha de Lectura: Post -48 hrs Nombre de la Explotación: Albaraz

Antígeno: Cepa "Cuautitlán"

Sueros Positivos: 70



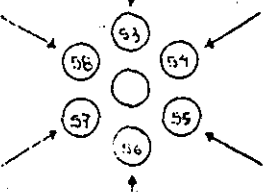
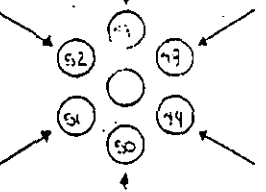
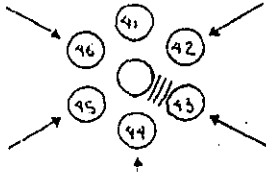
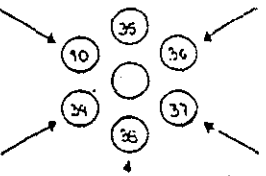
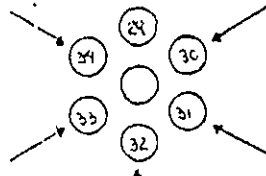
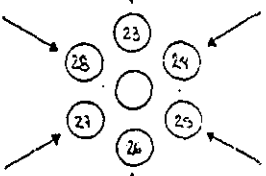
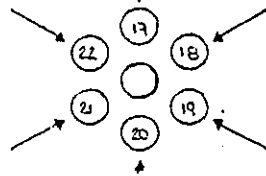
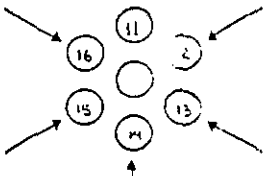
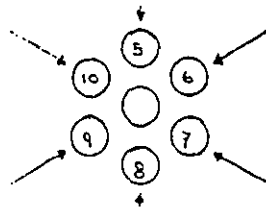
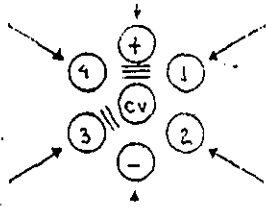
Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 22 hrs

Fecha de la Explotación: Almaraz

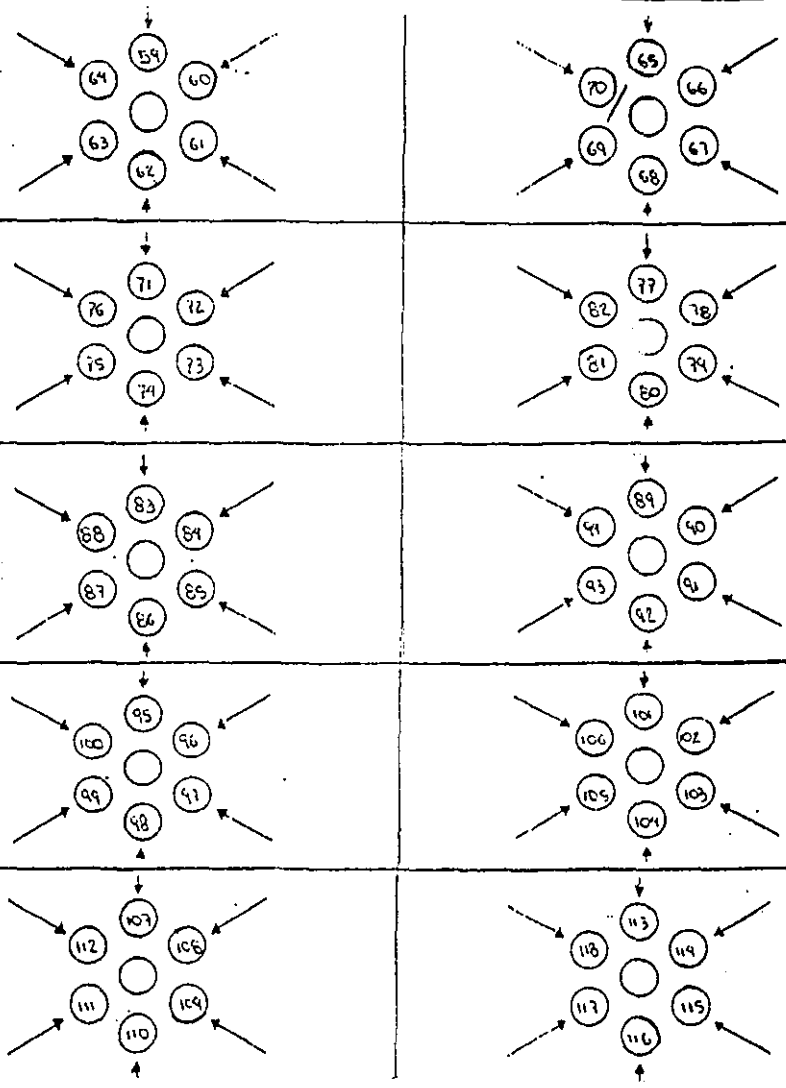
Antígeno: Ceja "Castellón"

Sueros Positivos: 3-43



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

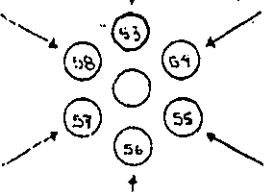
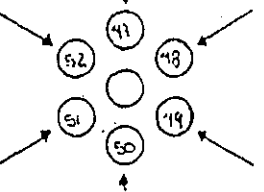
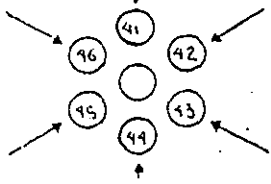
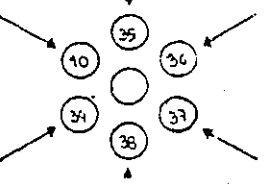
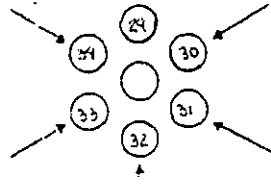
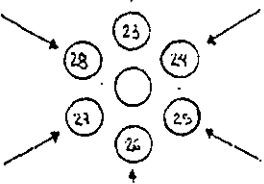
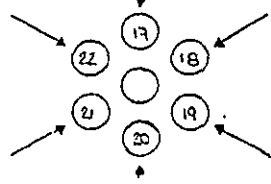
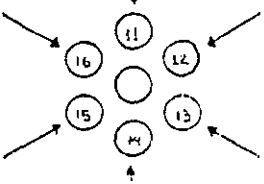
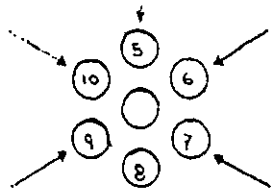
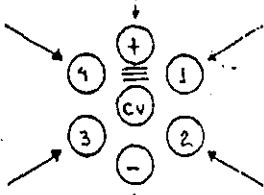
Fecha de Lectura: Post 72 hrs Número de la Explotación: Almaraz
 Antígeno: Cepa "Caution" Sueros Positivos: 70



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 24 hrs Nombre de la Explotación: Rancho "X"

Antígeno: Cepa "Cincinnati" Sueros Positivos: _____

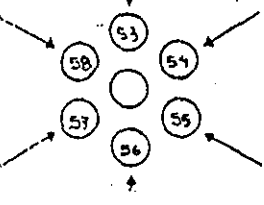
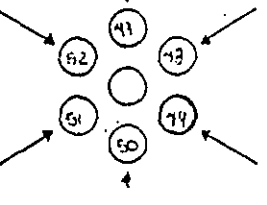
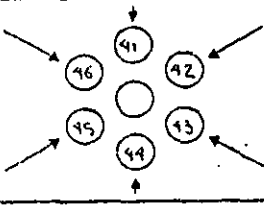
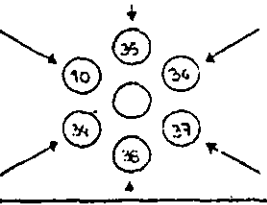
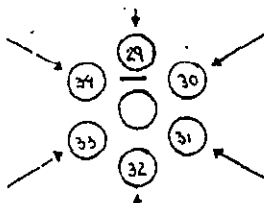
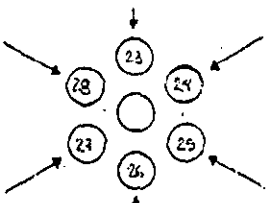
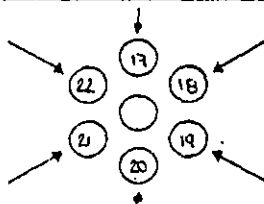
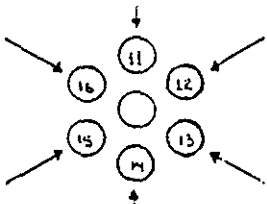
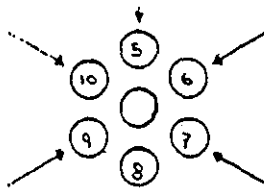
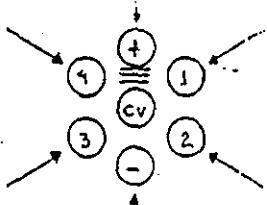


Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post - 48 hrs. Nombre de la Explotación: Rancho "X"

Antígeno: Cepa "Cuautillán"

Sueros Positivos: 29

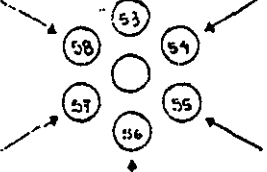
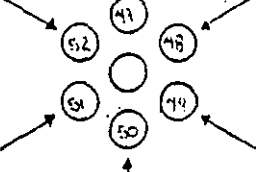
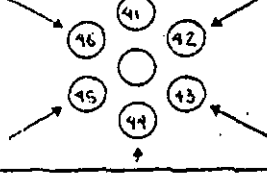
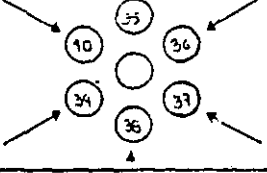
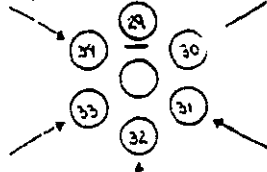
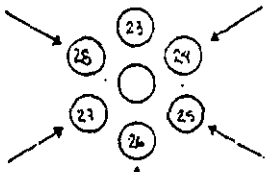
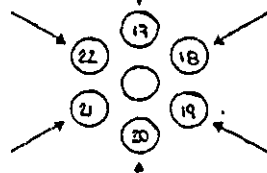
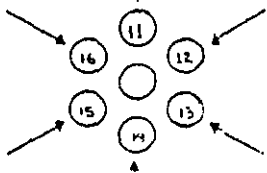
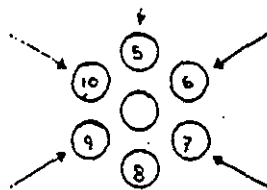
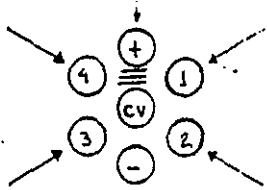


Formato de Diagnóstico IDCA Para SIV

Fecha de Lectura: Post- 72 hrs. Nombre de la Explotación: Rancho "X"

Antigeno: Cepa "Cuautilán"

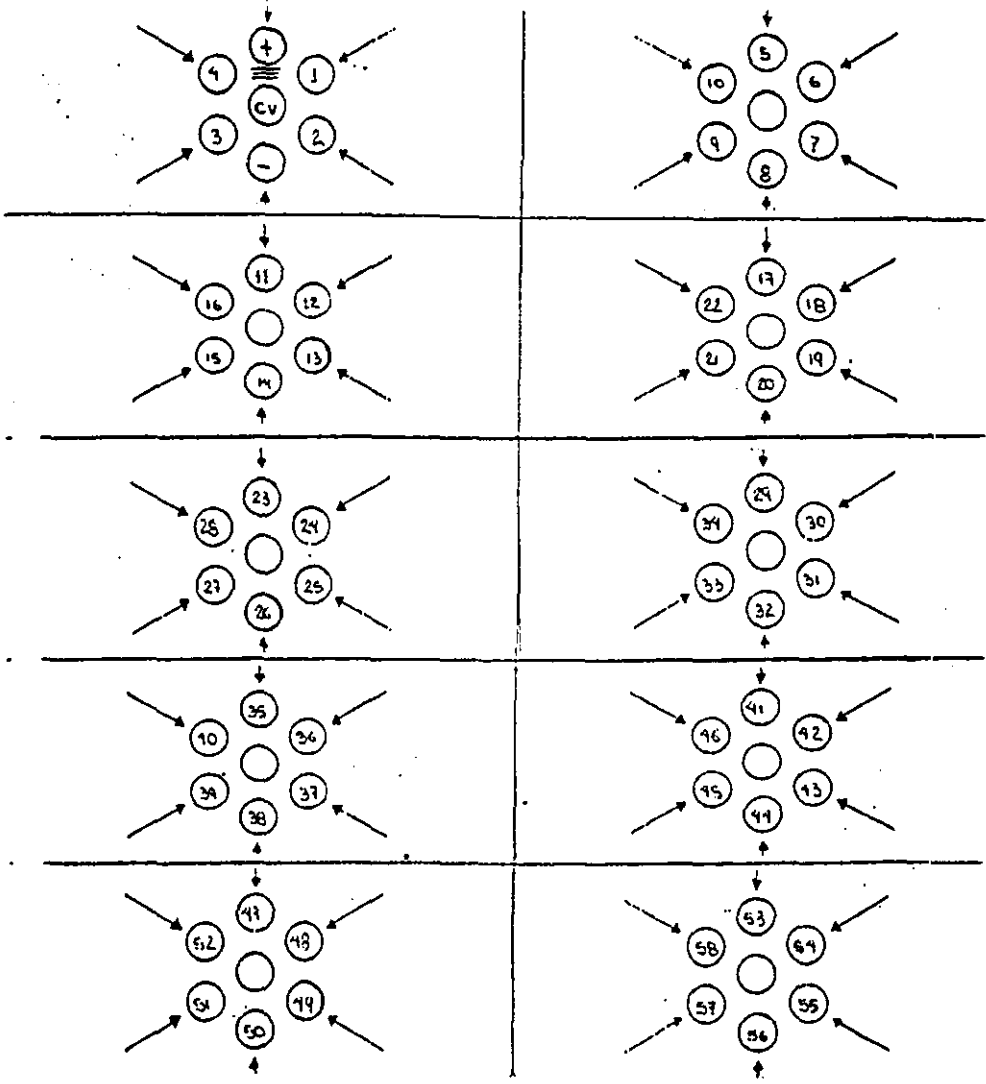
Sueros Positivos: 29



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 24 hrs. Nombre de la Explotación: Rancho "y"

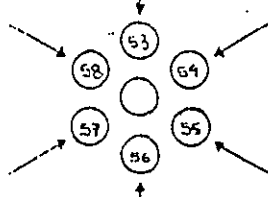
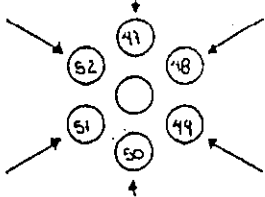
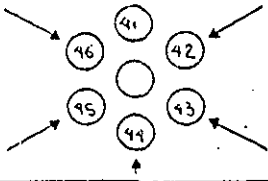
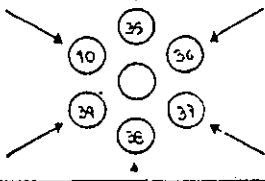
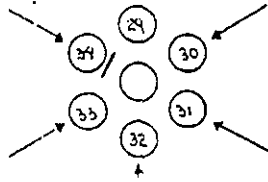
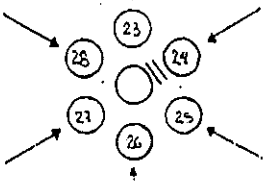
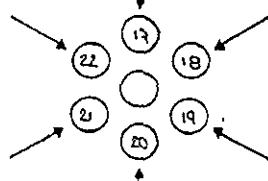
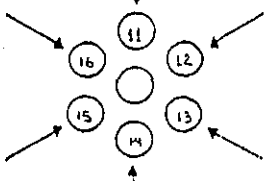
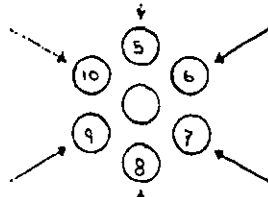
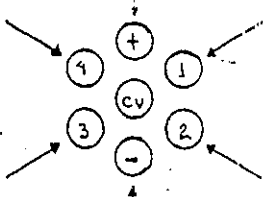
Antígeno: Cepa "Cuantitativa" Sueros Positivos: _____



Formato de Diagnóstico IDGA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 48 hrs. Nombre de la Explotación: Rancho "Y"

Antígeno: Ceja "Cuantificación" Sueros Positivos: 24-34

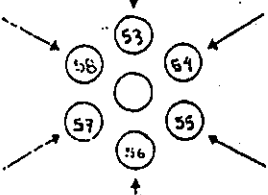
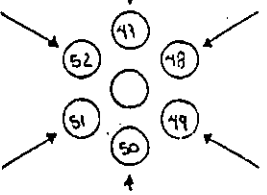
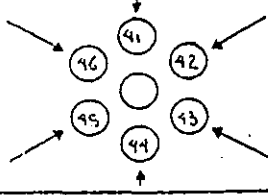
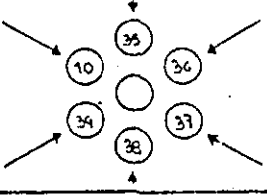
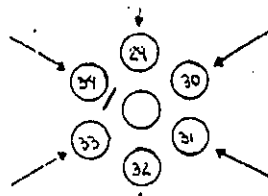
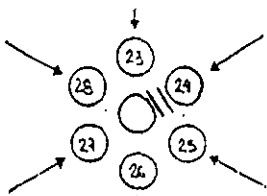
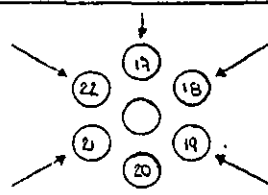
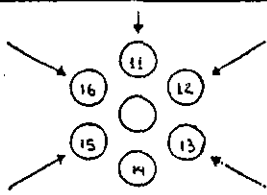
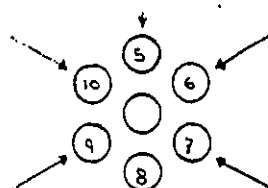
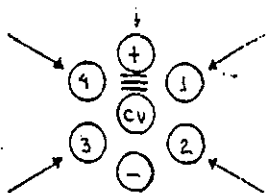


Formato de Diagnóstico IDCA para BLV

Fecha de Lectura: Post- 72 hrs. Nombre de la Explotación: Rancho "y"

Antígeno: Cepra "Cautitlán"

Sueros Positivos: 24-34



CUADRO 3-- A

PORCENTAJE EN ANIMALES A BLV GENERAL.

ENTIDAD	ZONA	NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS.	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD. (%)	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD ACUMULADO.	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD GENERAL
XALTIPA	ORIENTE	200	31	6.6381	6.6381	10.06
TERREMOTO		101	10	2.1413	8.7794	
ALMARAZ	CENTRO	72	3	.6423	9.4218	
RANCHO "X"	PONIENTE	39	1	.2141	9.6359	
RANCHO "Y"		55	2	.4282	10.06	
TOTAL		467	47	10.05		

CUADRO 3--B

PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS A BLV POR ZONA.

ENTIDAD	ZONA	NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS.	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD. A BLV	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD POR ZONA.	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD TOTAL.
XALTIPA	ORIENTE	200	31	15.5	12.7	6.6
TERREMOTO		101	10	9.9		
ALMARAZ	CENTRO	72	3	4.1	4.1	
RANCHO "X"	PONIENTE	39	1	2.5	3.05	
RANCHO "Y"		55	2	3.6		
TOTAL		467	47	10.05		

CUADRO 3--C
PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS A BLV EN HORAS.

ENTIDAD	ZONA	NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS A BLV.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS. A BLV A LAS 24 HRS.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS. A BLV A LAS 48 HRS.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS. A BLV A LAS 72 HRS.
XALTIPA	ORIENTE	200	31	20	25	31
TERREMOTO		101	10	6	(1) 7	(3) 10
ALMARAZ	CENTRO	72	3	2	(1) 3	-
RANCHO "X"	PONIENTE	39	1	-	1	-
RANCHO "Y"		55	2	-	2	-
TOTAL		467	47	28	40	47
PORCENTAJE		100	10.6	5.99	8.6	10.06

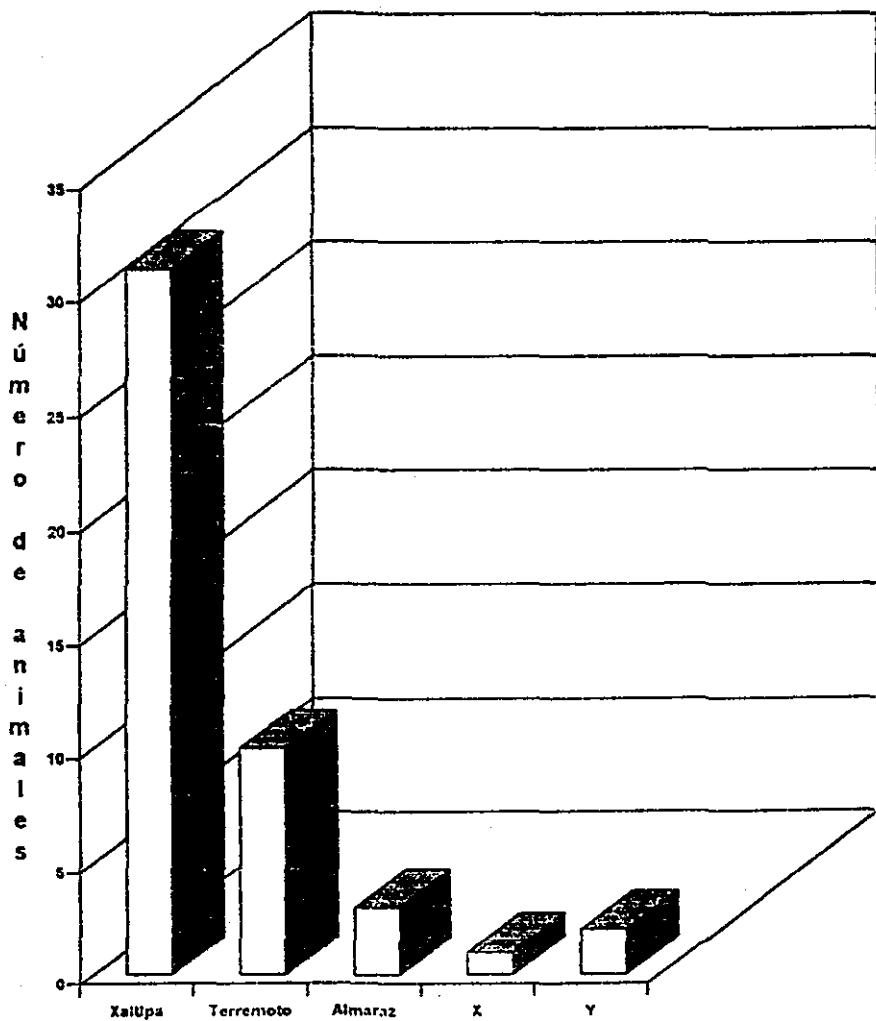
CUADRO 3-- D
PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS A BLV POR EDADES.

ENTIDAD	ZONA	NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS.	NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS A BLV.	AÑOS DE EDAD							
				- DE 5	5	6	7	8	9	10	<10
XALTIPA	ORIENTE	200	31	1	2	6	4	6	7	3	2
TERREMOTO		101	10	-	1	1	4	2	2	-	-
ALMARAZ	CENTRO	72	3	-	-	-	-	2	1	-	-
RANCHO "X"	PONIENTE	39	1	-	-	-	-	-	1	-	-
RANCHO "Y"		55	2	-	-	-	-	1	-	1	-
TOTAL		467	47	1	3	7	8	11	11	4	2
PORCENTAJE TOTAL		100	10.06	.21	.64	1.49	1.71	2.35	2.35	.85	.42
			100	2.12	6.38	14.8	17	23.4	23.4	8.51	4.25

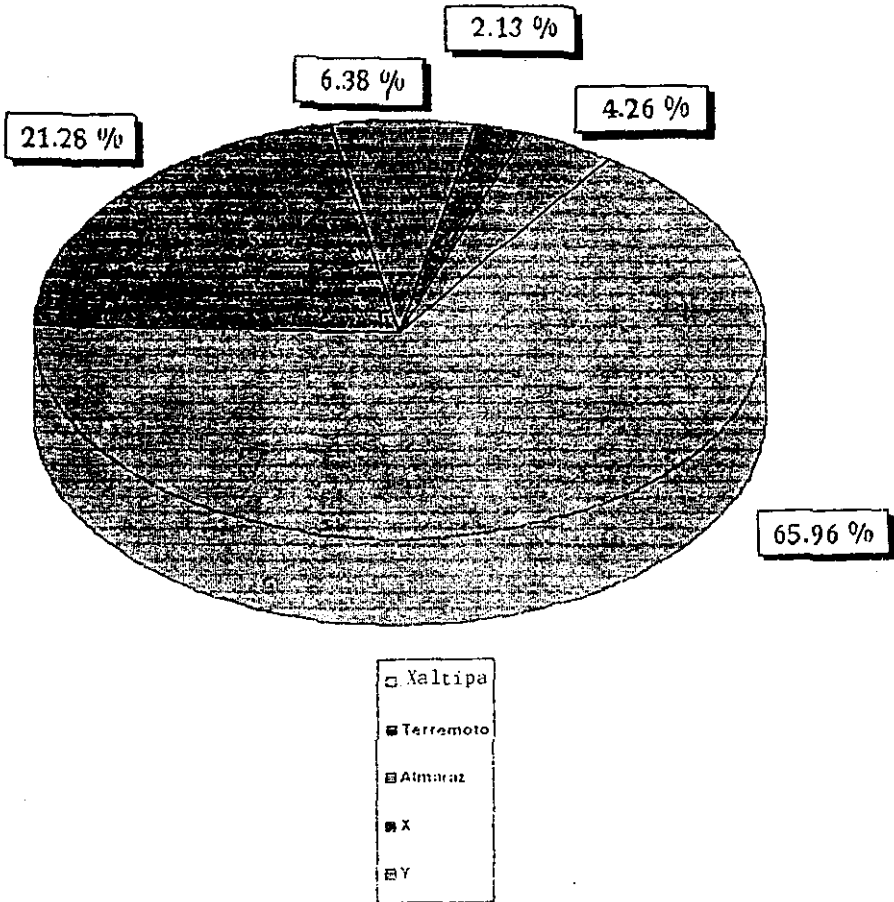
CUADRO 3-- E
PORCENTAJE DE POSITIVIDAD A BLV POR EL GRADO
DE REACCION, POR HORAS Y POR ENTIDAD.

REACCION	← REACCION EN HORAS (24, 48 y 72) →					TOTAL		
	24 - 48 - 72					24	48	72
○ ○	15 (11-14-15)	5 (3-4--5)	1 (1 1 1)	0	0	15	19	21
○ ○	10 (7--9--10)	3 (2--2--3)	1 (0 1 1)	0	1 (0-1 -1)	9	13	15
○ ○	6 (2-4--6)	2 (1-1 2)	1 (1 1 1)	1 (0 -1 -1)	1 (0 -1 -1)	4	8	11
ENTIDAD	XALTIPA	TERREMOTO	ALMARAZ	RANCHO "X"	RANCHO "Y"	28	40	47
	20-27-31	6-7-10	2-3-3	1-1	2-2			

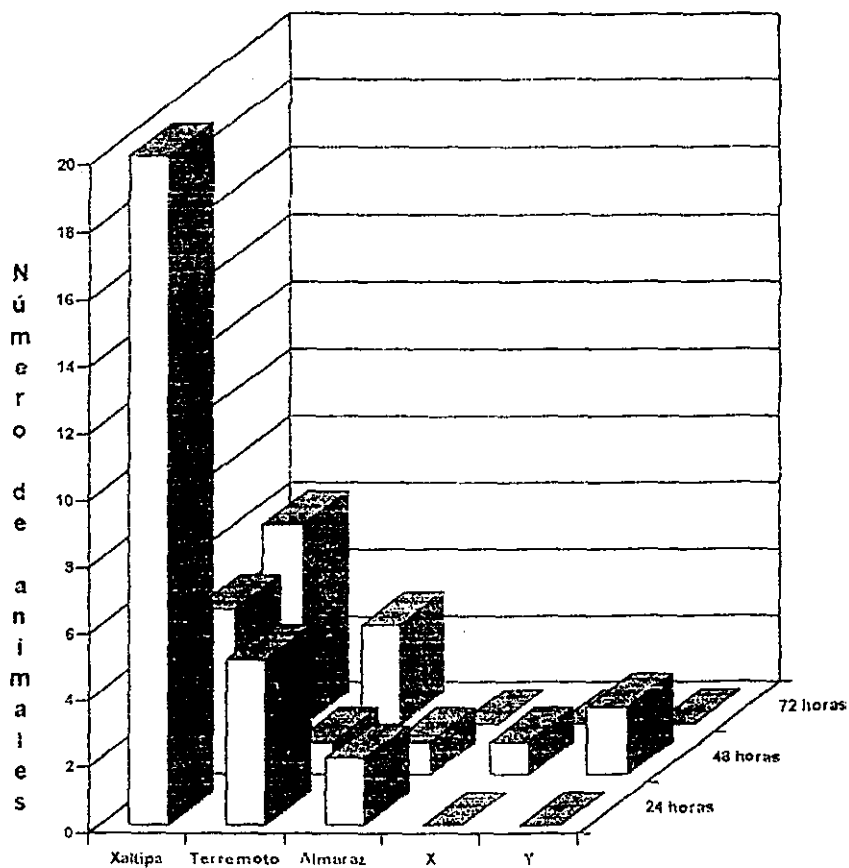
Cuadro 4a: Número de animales positivos a BLV por establo



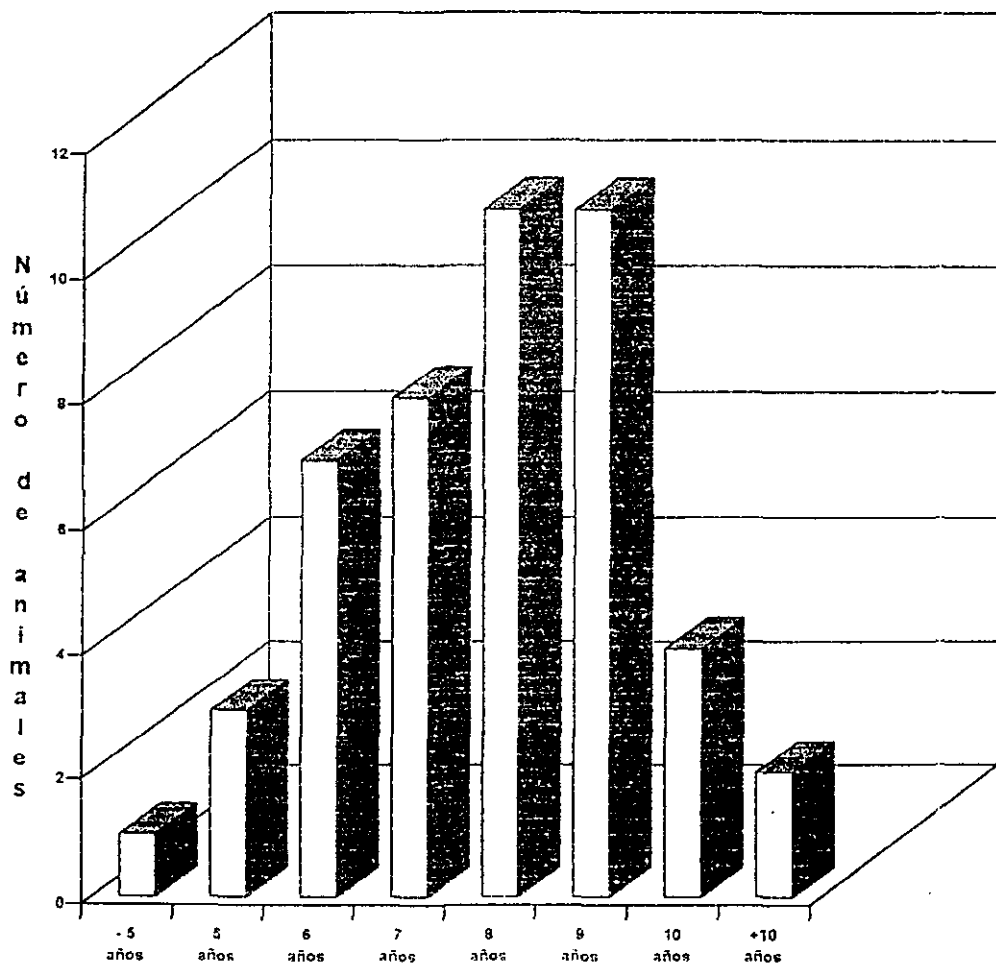
Cuadro 4b: Porcentaje de animales positivos a BLV por establo



Cuadro 4 c: Número de animales positivos a BLV en horas



Cuadro 4d: Positividad de animales a BLV por edades



8.- DISCUSION

Considero pertinente, mencionar en primera instancia el antígeno del BLV cepa "Cautitlán", el cual comprobó ser un verdadero sinodal hacia el antígeno comercial (Pitman-More), demostrando su alta capacidad de precipitación hacia los sueros que presentan anticuerpos específicos contra BLV, aunado a la buena técnica y excelente elección del gel utilizado, ya que debemos mencionar que su durabilidad hacia la observación visual duró aproximadamente una semana con resultados muy confiables. Con todas sus ventajas y desventajas de IDGA comparada con ELISA, en todos los aspectos, resulta ser la ideal, más práctica y económica, además, es el método estándar aceptado internacionalmente para la detección de anticuerpos contra el BLV (14, 24, 39).

Los resultados obtenidos fueron muy variados, que van desde la precipitación de una línea de identidad francamente notable (a simple vista) hasta aquella línea que se nota muy sutilmente y con ayuda del lector; además, algunas líneas de precipitación se observaron en escasas 3 horas posteriores a la realización de la técnica que a la postre, fueron las que presentaron la línea de precipitación más marcada.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observó una franca diferencia con otros estudios confiables y documentados como el de Suzan en 1983 (37) que detectó un promedio de 40% de seropositividad en el Estado de México, sin embargo,

en otros trabajos que se realizaron en dicho estado por Aluja y Jaramillo (1, 5, 24), los resultados que obtuvieron fueron mucho menor al 5%, resultados que son muy fidedignos ya que no lograron realizar las pruebas de laboratorio para establecer el diagnóstico definitivo de BLV.

En el presente estudio el máximo porcentaje de positividad de BLV para una explotación fué de 15.5 % en promedio y el menor fué de 2.5 % y el promedio general de las 5 explotaciones obtenidas es del 10.06 % , que realmente está muy lejos de los últimos datos obtenidos en la realización de un estudio para BLV en el Estado de México. Se hace referencia al estado ya que el autor jamás encontró trabajos de BLV - realizados en el municipio de Cuautitlán.

Debo señalar que la mitad de los sueros (100), que en total fueron 200 muestras en la explotación Xaltipa, tenían como antecedente algún problema reproductivo (Repetición de calores ó abortos). Estos sueros, en conjunto se realizaron las pruebas de sueroneutralización para Diarrea Viral Bovina y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, obteniendo como resultado una marcada deficiencia en los títulos de anticuerpos hacia las enfermedades mencionadas, que a la postre, fué el grupo que presentó el índice más alto de seropositividad a BLV.

Considero pertinente, mencionar en primera instancia el antígeno del BLV cepa "Cautitlán", el cual comprobó ser un verdadero sinodal hacia el antígeno comercial (Pitman-More),

demostrando su alta capacidad de precipitación hacia los sueros que presentan anticuerpos específicos contra BLV, aunado a la buena técnica y excelente elección del gel utilizado, ya que debemos mencionar que su durabilidad hacia la observación visual duro aproximadamente una semana con resultados muy confiables. Con todas sus ventajas y desventajas de IDGA comparada con ELISA, en todos los aspectos, resulta ser la ideal, más práctica y económica, además, es el método standar aceptado internacionalmente para la detección de anticuerpos contra el BLV (14, 24, 39).

Los resultados obtenidos fueron muy variados, que van desde la precipitación de una línea de identidad francamente notable (a simple vista) hasta aquella línea que se nota muy sutilmente y con ayuda del lector, además, algunas líneas de precipitación se observaron en escasas 3 horas posteriores a la realización de la técnica que a la postre, fueron las que presentaron la línea de precipitación más marcada.

9.- CONCLUSION

ESTA TERCERA NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Sin lugar a dudas, quedo comprobado que IDGA es la técnica ideal y que se recomienda ampliamente para la detección de anticuerpos específicos para BLV. Cuando se realizó la lectura de IDGA a las 24 hrs. se observo más del 50 % de sero positividad, es decir 28 sueros de 47 sueros totales positivos, esto significa que es muy confiable.

El estudio realizado de BLV demostró tener un índice más alto de positividad en establos con mayor número de importaciones de vacas y semen provenientes de Estados Unidos y Canadá sobre los establos que se mantienen con su propia recria, siendo estos ejemplares de mucho menor calidad (Ganado Criollo).

En conclusión el virus de BLV cepa " Cuautitlán "comprobo ser muy efectivo aunado al gel que fué seleccionado para la realización de la técnica de IDGA, dicho lo anterior, se puede tener en mente la idea de manejar un "Kit" de manufactura mexicana común para BLV, buscando abaratar y reduciendo tiempos para alcanzar el diagnóstico, nos ayudaría a un mejor manejo de pacientes positivos a BLV, evitando una diseminación mayor de la enfermedad y de alguna manera contribuir como Médico responsable.

Se considera necesario lograr el aislamiento del virus en nuestro país y manejar la posibilidad de futuros estudios

epidemiológicos, así como manufacturar vacunas y pruebas de laboratorio en México.

El BLV está presente en los hatos con más desarrollo -- zotécnico en un porcentaje de positividad más elevado comparado con establos más discretos, el BLV causa muchos y variados problemas en el paciente bovino, provocando inmunosupresión, facilitando la entrada de otros microorganismos patógenos (inclusive virus).

Por lo tanto, considero pertinente la realización de muestreos en forma general del hato para BLV utilizando la prueba de IDGA cada 4 a 6 meses.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Aranda, S.A.: determinación de anticuerpos específicos contra el virus de la leucosis en bovinos Holstein utilizando las pruebas de inmunodifusión y Elisa. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1991.
- 2.- Bartha, A., Baumann, G., Becker, C., Ben, J., Bendndorf E., Bergmann, W., Eisengraten, H., Fuchs, H., Hannefeld, H., Heinig, A., Heinrich, H., Kohler, B., C., Leopoldt, D., Liebermann, H., Matthias, D., Meszaros, J., Pitzschke, H., Richter, W., Schimmel, D., Schmidt, D., Schwidt U., Schulze, P., Seffner, W., Spieckermann, L., Urbaneek, D., Vogel, K., Wehr, J., Wittmann, W., and Zimmermann, H.: Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos Tomo I. 1a. Reimpresión Editorial Acribia. España 1987.
- 3.- Blood, D.C. Rodostits, O. M., Henderson, J.A., Arundel J.H. y Gray C.C.: Medicina Veterinaria. 6a. Edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México 1987.
- 4.- Brandon, R.B., Naif, H. and Lavín, M.F.: Early detection of bovine leukosis virus DNA in infected sheep using the polymerase chain Res. Vet. Sci 50:89-94 (1991).
- 5.- Choreno, T.J.R: análisis entre manifestaciones clínicas lesiones a la necropsia y biometría hemática en bovinos que desarrollarán la leucosis bovina en el complejo agropecuario industrial de Tizayuca Hgo. Tesis de Licenciatura . F.E.S. Cuautitlán-U.N.A.M., Cuautitlán, México 1987.
- 6.- Correa, G.P.: Enfermedades Virales de los Animales Domésticos (Vol. 2 Poligrastricos). 5a. edición. Editorial Paradigmas. México 1988.
- 7.- Diglacomo, R.F.: The epidemiology and control of bovine leukemia virus infección Vet. Med. 3: 248-278
- 8.- Elringer, F., Hansen, P.J., and Natske, R.R.: Modulation of function of bovine polymorphonuclear leukocytes and lymphocytes high temperature in vitro and in vivo. Am. J. Vet. Res. 52: 1692-1698 (1991).

- 9.- Fener, F. y White, D.O.: Virología Médica. Ediciones Científicas La Prensa Médica Mexicana. S.A.
- 10.- Garcia G. J. G.: Relación de sintomatología clínica y lesiones a la necropsia en bovinos Holsteín Friesian con Leucosis Bovina. Tesis de --- Licenciatura. F.E.S. Cuautitlán, U.N.A.M. Cuautitlán México 1985 .
- 11.- Guerrero, J.A.: Contribución al estudio de la Diarrea - Viral Bovina por sueroneutralización, en bovinos Holsteín sospechosos de padecer la enfermedad. Tesis de Licenciatura. F.E.S. Cuautitlán , U.N.A.M., Cuautitlán, México 1995.
- 12.- Gibbons, W.J., Catcott, E.J. and Smithcors, J.F.: Medicina y Cirugía de los Bovinos. Ediciones Científicas La Prensa Médica Mexicana. S.A. México 1984
- 13.- Heidrich, H.D and Gruber, J.: Manual de Patología Bovina Editorial Acribia. España 1976.
- 14.- Hilbink, F. and, Penrose, M.: A comparison of two enzyme linked immunosorbent assays for enzootic bovine leucosis serology. New Ze. Vet. Sci. 4: -- 869-871 (1990).
- 15.- Ike, H., Sasaki, O., Yamada, A. and Imanishi, J.: Inhibitory Effects of Tumor Necrosis Factor (TNF) and its combination with interferons on the syncytium formation by bovine leukemia virus (BLV) and on the multiplication of BLD. Jan. J. Vet. Sci. 4: 869-871 (1990).
- 16.- Kerkhofs, P., Knapen, K., and Mammerickx, M.: Méthodologie du contrôle des coffrets de diagnostic Elisa de Leucose bovine enzootique. Ann. Med. Vet. 136: 275-277 (1992).
- 17.- Knapen, K., Kerkhofs, P. et Mammerickx, M.: Eradication de la leucose bovine enzootique en Belgique: bilan du dépistage de masse réalisé sur l'ensemble du cheptel national en 1989, 1990 et 1991. Ann Med Vet. 137: 197-201 (1993).
- 18.- Lassauzet. G.M., Wesley, O. J., Mark C.T. and Fred, S.: Protection of colostral antibodies against bovine leukemia virus infection in calves on a California Dairy. Can. J. Vet. Res 53: 424-430

- 19.- Lassauzet. G.M., Wesley, O.J., Mark C.T. and Homberg, A:
Factors Associated with in utero or periparturient. Transmission of bovine Leukemia virus in calves on a California Dairy.
Can. J. Vet. Res 55: 264-268 (1991).
- 20.- Lassauzet. G.M. Wesley, O.J., Mark C.T. and Picanso, P:
Effect of brucellosis vaccination and dehorning on transmission of bovine Leukemia virus in heifers on a California dairy. Can. J. Vet. Res 54: 184-189 (1990).
- 21.- Mammerickx, M. et Strobbe, R.: L'épizootiologie de la leucose bovine enzootique en fonction de la taille des troupeaux.
Ann. Méd. Vet. 130: 53-59 (1986)
- 22.- Mascaro, L.A. : Inmunología Veterinaria. Editorial Albatros, SRL. Buenos Aires, Argentina 1979.
- 23.- Merck, C.O. Inc. : El Manual Merck de Veterinaria. Editorial Centrum. 3a. Edición. España 1988.
- 24.- Monroy, B.J., Trigo, T.F., Aluja. A.S. y Garcia, E.R. : Estudio comparativo entre las pruebas de Elisa e inmunodifusión en el diagnostico de Leucosis enzootica Bovina. Vet. Méx. 1: 21-25 (1993).
- 25.- Mohanthy, S.B. y Dutta, S.K. : Viología Veterinaria. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México 1983.
- 26.- Muñoz, M.J. y Chaves, S.G.L.: Detección de Anticuerpos de Aujesky por el método de ELISA y su comparación con seroneutralización e Inmunodifusión Tesis de Licenciatura. F.E.S. Cuautitlán, U.N.A.M. Cuautitlán, México 1989.
- 27.- Ohshima. K., Aida, Y., Kim, J., Okada, K., Chiba, T., Murakami K. and Ikawa, Y. : Histopathology and distribution of cells harboring bovine Leukemia virus (BLV) Proviral sequences in ovine Lymphoma sarcoma induced by BLV inoculation. J. Vet. Sci 2: 191-199 (1991).
- 28.- Okada, K., Ikeyama, S., Ohishi. K., Suzuki, H., Sugimoto, M., Numakonai, S. Chiba, T. Murakami, K. Davis W.C., Ohshima, K. and Ikawa, Y.: Involvement of CD8+T cells in Delayed-Type hypersensitivity responses against bovine leukemia virus (BLV) induced in sheep vaccinated with recombinant vaccinia virus expressing BLV envelope glycoprotein. Vet. Pathol. 30: 104-110 (1993)

- 29.- Okada, K., Yamaguchi, A., Ohshima, K., Numakunai, S. Itoh H., Seimiya, Y. and Koyama H.: Spontaneous regression of Bovine Cutaneous leukosis. Vet. Pathol. 26 : 136-143 (1989)
- 30.- Porterfield, S. J.: Viruses of Vertebrates, British Library. 5a. edition. Londres 1989.
- 31.- Price, W. T. and Straiton, E.: Cattle Ailments Recognition and treatment. 5th. ed Farming Press. Great Britain 1991.
- 32.- Primrose, S. B. and Dimmock, N. J.: Introduction to modern virology. Blackwell Scientific Publications .- Second edition. U.S.A. 1980.
- 33.- Roy, J.H.B. : The Calf Management of Health Volume 1.5a Edición. Butterworths. London 1990.
- 34.- Schulz, J.A.: Tratado de Enfermedades del Ganado Vacuno. Tomo I. Editorial Acribia. España 1987.
- 35.- Sood, N., Banga, H.S., Randhawa, S.S., Kalra, I.S. and Gupta, P.P.: Enzootic Leukosis in a Buffalo herd Indran vet. J. 71: 282-283 (1994).
- 36.- St. Jean, G., Basaraba, R.J., Kennedy, G.A. and Anderson, D.E.: Maxillary lymphosarcoma in a cow. Can. J. Vet. Res. 35: 56-57 (1994).
- 37.- Suzan, V.M., Onuma, M., Aguilar, R.E. and Murakami, Y.: Prevalence of bovine Herpesvirus-1, Parainfluenza-3, Bovine Rotavirus, Bovine Viral Diarrhea, Bovine adenovirus-7, Bovine Leukemia and Blue Tongue virus antibodies in cattle in México. Jon. Vet Res 31: 125-132 (1983).
- 38.- Thumond, M.C. : Calf Management to Control Bovine -- Leukemia virus infection. Cornell Ret. 81 : - 227-231 (1991).
- 39.- Wang, C.T. : Bovine leukemia virus infection in Taiwan: Epidemiological Study. J. Vet. Med. Sci. 3 : 395-398 (1991).
- 40.- White, D. and Fenner, H.J.: Medical Virology. Academic Press, inc. Tird edition. U.S.A. 1976.