



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES RECURSOS NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEUCOSIS ENZOÓTICA BOVINA Y SU RELACION
A PARAMETROS PRODUCTIVOS”**

Trabajo Experimental Presentado previo a la obtención del Título de Médico
Veterinario y Zootecnista

Autor:

Cristian Santiago Barrera Guzmán

Tutor:

Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

LATACUNGA - ECUADOR

AGOSTO 2017

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo Cristian Santiago Barrera Guzmán declaro ser autor (a) del presente Trabajo experimental: “**Estudio Serológico De Leucosis Enzoótica Bovina Y Su Relación A Parámetros Productivos**” siendo Dr. **Gutiérrez Reinoso Miguel Ángel** tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

.....

Dr. Gutiérrez Reinoso Miguel Ángel

C.I. 050223662-3

.....

Cristian Santiago Barrera Guzmán

C.I. 050332607-6

AVAL DEL TUTOR DE TRABAJO EXPERIMENTAL

En calidad de Tutor del Trabajo Experimental sobre el tema:

“Estudio serológico de Leucosis Enzoótica Bovina su relación a parámetros productivos”, de **Barrera Guzmán Cristian Santiago**, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Titulación que el Honorable Consejo Académico de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, Agosto, 2017

El Tutor

.....

Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de **Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**; por cuanto, la postulante: **Barrera Guzmán Cristian Santiago** con el título de Trabajo experimental: **“Estudio serológico de Leucosis Enzoótica Bovina su relación a parámetros productivos”** han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Trabajo experimental.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, -- Agosto 2017

Para constancia firman:

Lector 1 (Presidente)
MVZ. Paola Jael Lascano Armas.

C.I. 050291724-8

Lector 2
Dr. Edwin Orlando Pino Panchi Mg

C.I. 050229598-3

LECTOR 3
Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg

C.I. 050130831-6

AGRADECIMIENTO

A DIOS por darme la oportunidad de tener esta vida, tan maravillosa e iluminarme en mi camino.

Mi profundo agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi, que me abrió las puertas para ingresar a la Carrera de Medicina Veterinaria, así como a cada uno de mis profesores que con el pasar de los años me enseñaron todos los conocimientos, que ahora tengo y formar un profesional humanista y competitivo; A las instituciones que me apoyaron y colaboraron: Agrícola San Agustín “SANAGUS” S.A, Laboratorios AGROCALIDAD de Diagnostico Animal y control de calidad de leche.

De igual manera, al Dr. Miguel Gutiérrez. Mg., Tutor de trabajo, quien con sus valiosos conocimientos y paciencia orientó la realización de este trabajo experimental.

DEDICATORIA

A DIOS por regalarme la vida, guiarme siempre a cada paso.

A mi familia quienes me han apoyado en mi objetivo planteado, en especial a mi madre por la enseñanza de que ante la adversidad hay que seguir luchando por cumplir la meta propuesta.

A mi hermana Katy por ser pie de lucha y mi felicidad cada día, a mis amigos quienes, con su presencia y apoyo durante el tiempo universitario, fueron un pilar fundamental para culminar esta etapa, a ellos gracias por brindarme su verdadera amistad y apoyo incondicional.

C. SANTIAGO BARRERA GUZMÁN

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEUCOSIS ENZOOTICA BOVINA SU RELACIÓN A PARÁMETROS PRODUCTIVOS”

Autor: Barrera Guzmán Cristian Santiago

RESUMEN

La Leucosis Enzoótica Bovina (LBE), enfermedad causada por el Virus de la Leucosis Bovina (BLV), presenta una alta prevalencia que es variable de una región a otra entre el ganado lechero a nivel mundial. En Ecuador se ha reportado prevalencias que van desde un 7% hasta el 65%, teniendo importantes implicancias a nivel productivo. Comparamos la seropositividad de los animales mediante la especificidad del ensayo por inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA) competitivo - indirecto para el diagnóstico de la LBE. En total se seleccionaron 40 animales hembras mayores de 4 años, distribuidas en 20 seropositivas y 20 seronegativas a (VLBE), pertenecientes a la asociación ganadera “SANAGUS.SA.”; Se tomaron dos muestras de sangre a las vacas seleccionadas mediante punción de la vena coccígea media, con el uso de aguja Vacutainer® tubo tapa roja para el diagnóstico serológico de VLBE y tubos tapa lila para la biometría hemática y una muestra individual de 40 ml de leche para el análisis físico químico de sus componentes, de las cuales los análisis se corrieron en los laboratorios de Salud Animal y de control de calidad de leche de AGROCALIDAD (Tumbaco). Los 40 animales fueron distribuidos en dos grupos; un control y un experimental.

Estudiamos la variación de los puntos de corte de ELISA competitive – indirecta entre la enfermedad y su correlación con biometría hemática y los parámetros de producción. El grupo experimental (T1) no presenta diferencia significativa sobre la relación del estado serológico al VLBE en relación con los parámetros productivos que se analizaron dando un valor de ($p>0.05$). Además, tampoco hubo diferencias significativas respecto a los diferentes parámetros hemáticos de la serie roja de T1 ($p>0.05$).

En cuanto a la serie blanca, en linfocitos y monocitos hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control (positivo y negativo). En conclusión: estos estudios no proporcionan datos contundentes sobre la relación del estado serológico al VLBE en relación con los parámetros productivos que se analizaron en los bovinos, sí se pudo comprobar alguna relación numérica importante con los días de lactancia, promedio de leche L/Día, aunque no hubo significancia estadística en muchas de las diferencias encontradas, los animales

seronegativos mostraron mejores indicadores que los seropositivos. Además, se observó que la serie blanca (linfocitos y monocitos), generó un nicho inmunológico de estabilidad ante la enfermedad.

Para determinar la asociación a la positividad, se utilizó la prueba de T de student y los límites con el intervalo de confianza al 95% con error estándar del 5%. No se encontraron diferencias significativas estadísticas por lo que no hay asociación causal significativa entre las variables edad, condición corporal, parámetros productivos.

Palabras claves: Leucosis Bovina, Virus, Variables, Muestras, Sangre, Leche, Control, Programa, Enfermedad, ELISA.

ABSTRACT

Enzootic bovine leukosis, a disease caused by the Bovine Leukosis Virus (BLV), It present a high prevalence that is variable from one región to another among dairy cattle worldwide.

In Ecuador, prevalences ranging from 7% to 65% have been reported having important productive implications we compared the seropositivity of the animals by the specificity of the immunoabsorbent assay linked to enzymes (ELISA) competitive – indirect for the diagnosis of LBE. In total, 40 female animals older than 4 years of were selected, distributed in 20 seropositive and 20 seronegative (LBE) belonging to the livestock association “SANAGUS” SA; Two blood samples were taken from the selected cows by puncture of the middle coccy geat, with the use of needle vacutainer red cup tube for the serological diagnosis of VLBE and purple cup tubes for hematic biometry and an individual sample of 40 ml of milk for the physico-chemical analysis of its, of which the analyzes were run in the laboratories of Animal Health and milk quality control AGROCALIDAD (Tumbaco). The 40 animals were distributed into two groups; A control and an experimental

We studied the variation of cut-off points of competitive - indirect ELISA between the disease and its correlation with hematic biometrics and production parameters, the experimental group (T1) did not present a significant difference on the relation of the serological status to the VLBE in relation to the productive parameters that were analyzed giving a value of ($p > 0.05$). Also, there were no significant differences regarding the different hematic parameters of the read series of T1 ($p > 0.05$)

As for the white series, in lymphocytes and monocytes there were statistically significant differences between the control groups (Positive and negative)

In conclusion, this study does not provide conclusive data on the relation of serological status to VLBE in relation to the productive parameters analyzed in cattle, if we could verify any significant numerical relation with the day of lactation average, milk L/Day, although the cows no statistical significance in many of the differences found seronegative animals showed better indications than seropositive animals also, it was deserved that the white series (Lymphocytes and monocytes) generated an immunological niche of stability to the disease.

To determine the association with positivity, we used the t test and the limits with the 95% confidence interval with standard error of 5% no statistically significant differences were found so there is a significant causal association between the variables age, body condition, productive parameters.

Key words: Bovine Leukosis, Virus, Variables, Samples, Blood, Milk, Control, Program, Disease, ELISA.

INDICE

Contenido

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AVAL DEL TUTOR DE TRABAJO EXPERIMENTAL.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	ix
INDICE.....	x
1 INFORMACION GENERAL.....	xvii
2. INTRODUCCION.....	1
3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.....	2
4.- OBJETIVOS:.....	3
4.1 OBJETIVO GENERAL:.....	3
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	3
5.- FUNDAMENTACION CIENTÍFICO TÉCNICA.....	4
5.1 RESEÑA HISTÓRICA.....	4
5.2 ANTECEDENTES.....	5
5.3 LEUCOSIS EN EL ECUADOR.....	6
5.4 IMPORTANCIA.....	6
5.5 DEFINICIÓN.....	7
5.6 SINONIMIA.....	8
5.7 DISTRIBUCIÓN.....	8
5.8 ETIOLOGÍA.....	9
5.9 EPIDEMIOLOGÍA.....	9
5.10 PATOGENIA.....	10
5.11 PATOLOGÍA.....	11
5.11.1 Leucosis Bovina Esporádica,.....	11
5.11.2 Leucosis Bovina Enzoótica.....	11
5.12 HUÉSPEDES SUSCEPTIBLES.....	11
5.13 SEROEPIDEMIOLOGÍA.....	12
5.13.1 Epidemiología descriptiva.....	12
5.14 PERIODO DE INCUBACIÓN.....	12
5.15 RESERVORIO Y FUENTE HABITUAL DE INFECCIÓN.....	13
5.16 TRANSMISIÓN.....	13

5.17 TRANSMISIÓN VERTICAL.....	15
5.17.1 Transmisión intrauterina	15
5.18 TRANSMISIÓN VÍA CALOSTRO Y LECHE.....	15
5.19 TRANSMISIÓN VIRAL POR PRODUCTOS REPRODUCTIVOS.....	15
5.20 TRANSMISIÓN HORIZONTAL.....	15
5.21 TRANSMISIÓN POR SANGRE.....	16
5.21.1 Vía intradérmica.....	16
5.21.2 Vía subcutánea	16
5.22 TRANSMISIÓN POR INSECTOS.....	16
5.23 PREVALENCIA SEGÚN EDAD, SEXO Y CONDICIONES GENÉTICAS	16
5.24 DISTRIBUCIÓN POR EDADES	17
5.25 DISTRIBUCIÓN POR RAZAS.....	17
5.26 DIFUSIÓN EN EL REBAÑO.....	17
5.26.1 Presentaciones en animales jóvenes:.....	17
5.27 SÍNTOMAS	18
5.28 CUADRO CLÍNICO Y LESIONES	18
5.29 LINFOCITOSIS PERSISTENTE (LP).....	20
5.30 LINFOSARCOMA (LS).....	20
5.31 LEUCEMIA	20
5.32 SINTOMATOLOGÍA:.....	21
5.33 DIAGNÓSTICO	21
5.33.1 Enzimoinmunoensayo de bloqueo — ELISA para suero.....	23
5.34 HEMATOLOGÍA	24
5.35 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS	25
5.35.1 Prueba ELISA	25
5.36 TRATAMIENTO Y MANEJO DE ENFERMOS	27
5.37 CONTROL Y ERRADICACIÓN.....	27
5.38 MEDIDAS PARA EL SANEAMIENTO DE TERRITORIOS CON LA ENFERMEDAD ENZOÓTICA	28
5.39 Para los países o territorios circunscritos exentos de Leucosis bovina enzoótica, la O.I.E. establece los siguientes parámetros básicos:	28
5.40 BIOMETRIA HEMÁTICA.....	29
5.41 COMPONENTES DE LA LECHE CRUDA.....	29
5.41.1 Agua	29
5.41.2 Grasa	29
5.41.3 Proteína	30
5.41.4 Minerales y sales	30
5.41.5 Otros constituyentes de la leche	30

5.42 MÉTODOS DE CONTEO ELECTRÓNICO CELULAR.....	30
5.42.1 PROCEDIMIENTO:	31
5.43 UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS UFC.	32
5.44 CONTEO BACTERIANO.....	32
5.44.1 Microorganismos aerobios mesófilos.....	33
5.45 CITOMETRIA DE FLUJO.....	33
5.46 BactoScan FC.....	33
5.47 PERIODO DE DÍAS DE LACTANCIA.....	34
5.48 PROMEDIO DE LITROS / DÍA	34
6.- VALIDACIÓN DE LAS HIPOTESIS.....	36
6.1 Hipótesis Alternativa.....	36
6.2 Hipótesis Nula.....	36
7.- MATERIALES	36
8.- PROCEDIMIENTO/MÉTODO.....	37
9.- RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	44
10. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	92
11. CONCLUSIONES	94
RECOMENDACIONES:.....	95
12. BIBLIOGRAFIA.....	96
13. ANEXOS.....	104
ANEXO 1.....	104
ANEXO 2.....	105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos Elisa competitivo.....	50
Tabla 2. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos Elisa indirecto.....	52
Tabla 3. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Edades.....	55
Tabla 4. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Condición Corporal	57
Tabla 5. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Grasa.....	60
Tabla 6. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - % proteína.....	62
Tabla 7. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - % solios totales.....	64
Tabla 8. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - % Solidos no grasos.....	66
Tabla 9. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Conteo de Células somáticas (X1000/ml) de la leche.....	68
Tabla 10. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.....	71
Tabla 11. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Días de lactancia.....	73
Tabla 12. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Promedio L/Día.....	75
Tabla 13. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x10 ¹² /L)	77
Tabla 14. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Hematocrito (Hcto%)	79
Tabla 15. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Hemoglobina (Hb _{gg} /dl).....	81
Tabla 16. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10 ³ L)	83
Tabla 17. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Neutrófilos (N%)	85
Tabla 18. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Linfocitos (L%)	87
Tabla 19. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Monocitos (M%)	89
Tabla 20. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Plaquetas (PQT/mm ³)	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Mecanismo de transmisión del VLB.	14
Figura 2.- Microplacas de poliestireno de 96 pocillos.	26
Figura 3.- Lavador de placas de 96 pocillos	Figura 4.- Lector de placas de 96
pocillo	26

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Animales seropositivos y seronegativos Elisa leucosis.....	50
Gráfico 2. Animales seropositivos y seronegativos Elisa leucosis.....	52
Gráfico 3. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a las Edades.....	54
Gráfico 4. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a la Condición Corporal.....	57
Gráfico 5. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al porcentaje de grasa.....	59
Gráfico 6. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al % de proteína.	62
Gráfico 7. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al % de solidos totales.....	64
Gráfico 8. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al % de solidos no grasos.....	66
Gráfico 9. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al conteo de células somáticas (X1000/ml) de la leche.....	68
Gráfico 10. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.....	70
Gráfico 11. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los días de lactancia.....	73
Gráfico 12. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Promedio L/Día..	75
Gráfico 13. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x10 ¹² /L).....	77
Gráfico 14. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Hematocrito (Hcto%).....	79
Gráfico 15. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a la Hemoglobina (Hb _{gg} /dl).....	81
Gráfico 16. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10 ³ /L).....	83
Gráfico 17 Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los Neutrófilos (N%).....	85
Gráfico 18 Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los Linfocitos (L%).....	87
Gráfico 19. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los Monocitos (M%).....	89
Gráfico 20. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a las Plaquetas (PQT/mm ³).....	91

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Técnicas e Instrumentos.....	42
Cuadro 2. Total, de animales Seropositivos a Leucosis bovina, principales parámetros productivos y biometría hemática.....	45
Cuadro 3.	46
Cuadro 4 . Total animales Seronegativos a Leucosis bovina, principales parámetros reproductivos y biometría hemática.	47
Cuadro 5. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina (punto de corte) en relación a la prueba Elisa indirecto.....	51
Cuadro 6. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la edad....	53
Cuadro 7. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la condición corporal.....	56
Cuadro 8. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la grasa de la leche.....	58
Cuadro 9. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al % de proteína.....	61
Cuadro 10. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al % de Sólidos Totales.....	63
Cuadro 11. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al % de los sólidos no grasos de la leche.....	65
Cuadro 12. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al conteo de células somáticas (X1000/ml) de la leche.....	67
Cuadro 13. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.....	69
Cuadro 14. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los días de lactancia.....	72
Cuadro 15. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al Promedio L/Día.....	74
Cuadro 16. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x 10 ¹² /L).....	76
Cuadro 17. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al Hematocrito (Hcto%).....	78
Cuadro 18. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la Hemoglobina (Hbg/dl).....	80
Cuadro 19. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10 ³ /L).....	82
Cuadro 20. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los Neutrófilos (N%).....	84
Cuadro 21. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los Linfocitos (L%).....	86
Cuadro 22. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los Monocitos (M%).....	88
Cuadro 23. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a las Plaquetas (PQT /mm ³).....	90

1 INFORMACION GENERAL

Tema del trabajo Experimental:

ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEUCOSIS ENZOÓTICA BOVINA Y SU RELACIÓN A PARÁMETROS PRODUCTIVOS

Fecha de inicio:

ABRIL 2017

Fecha de finalización:

AGOSTO 2017

Lugar de ejecución:

Asociación agropecuaria Callo Mulaló, en la Parroquia Mulaló del Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, Laboratorio de Sanidad animal AGROCALIDAD (Tumbaco)

Unidad Académica que auspicia

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

Carrera que auspicia:

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Línea de Investigación:

Salud Animal

Sub líneas de investigación de la carrera:

Salud pública y epidemiología

Equipo de Trabajo:

Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Coordinador del Proyecto:

Cristian Santiago Barrera Guzmán

2. INTRODUCCION

Este trabajo busca profundizar en el conocimiento de la epidemiología del BLV, dirigida al campo de las enfermedades infecciosas, virales e Inmunológicas; específicamente de la interacción del patógeno en relación a los parámetros de producción y los cambios que conlleva su infestación. El control de la LBE está basado principalmente en un correcto diagnóstico de los animales positivos.

La generación de conocimiento científico sobre estos temas en nuestro país promoverá un manejo más racional de los recursos resultando en un beneficio económico para el productor a mediano y largo plazo, mejorando los planes de manejo del sistema lechero.

Los resultados obtenidos muestran que el promedio de linfocitos aumenta significativamente en los animales infectados con BLV, observándose también que la presencia de enfermedades concurrentes afecta de forma relevante el número total de leucocitos.

La Leucosis Viral Bovina es una patología, de origen viral de distribución mundial y de carácter enzoótico, siendo su prevalencia mayor en las ganaderías bovinas de producción de leche en la etapa productiva. El problema crítico porque se realizó esta investigación fue la ausencia de datos epidemiológicos en el problema del estudio.

La vía por la que el virus se propaga en condiciones naturales es la transmisión horizontal; es decir todas las prácticas que impliquen la manipulación del ganado como: descorne, palpación con guantes no desechables, transfusiones de sangre de animales adultos a jóvenes, transmisión iatrogénica. El virus se encuentra principalmente en los linfocitos y puede identificarse en sangre, leche y otros fluidos corporales, como el semen.

El presente proyecto investigativo se definió como un trabajo de campo y laboratorio, tuvo la finalidad de identificar la presencia de anticuerpos de Leucosis bovina y su estudio paralelo a los parámetros de producción en la asociación ganadera "SANAGUS.SA." Cantón Latacunga. En el desarrollo de este trabajo se cumplieron los siguientes objetivos.

Determinar mediante serología el virus de leucosis bovina enzoótica mediante Elisa indirecto - competitivo y su relación con los parámetros productivos en la Hacienda SANAGUS.SA. Así como también cumplimos con los objetivos específicos.

3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es causada por el virus de la leucosis bovina enzoótica (VLB), de la familia Retroviridae del género Deltaretrovirus (Murphy et ál. 1999). Por tanto, la leucosis bovina es considerada un trastorno patológico, caracterizado por una proliferación descontrolada del tejido formador de leucocitos (Radostits et ál. 2001). Así, a través de la siguiente investigación se pretende realizar un estudio longitudinal y analítico para determinar la relación entre el estado serológico al virus de la leucosis bovina enzoótica (VLBE) y los parámetros productivos, en un hato lechero en la zona3, en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, parroquia Lasso; centro del Ecuador.

Debido a la controversia en los resultados obtenidos en los diferentes estudios realizados respecto a la relación que tiene la infección al VLBE con los parámetros productivos, se pretende realizar este estudio longitudinal en un hato lechero especializado para determinar si, en efecto, el VLBE afecta negativamente los principales parámetros producción.

El BLV integra su genoma en los linfocitos B del bovino infectado, de manera que todos los animales infectados son portadores del virus durante toda su vida, esto tiene un impacto negativo sobre el sistema inmune de los animales, y los hace más susceptibles a otras enfermedades infecciosas provocando mayor incidencia de mastitis, metritis, diarrea y neumonía, además las vacas infectadas pueden reducir su producción de leche hasta en un 5 % respecto al hato (Emanuelsson et al., 1992; Ott et al., 2003; Cadavid, 2012)

Pese a que son asintomáticos a la LBE, la infección con el virus hace a los animales susceptibles a otras enfermedades, como Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina, Leptospira, Mastitis y Metritis, entre otras (Hennemann. 2012), generando un importante impacto económico.

La presencia del VLB en los bovinos está significativamente relacionada con la ubicación geográfica de estos, por lo tanto, se debe contar con una estrategia de control inter regiones de la LBE a la hora de movilizar animales para la comercialización. (Meza-Barreto.2016)

4.- OBJETIVOS:

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar mediante serología el virus de leucosis bovina enzoótica (VLBE) mediante Elisa indirecto - competitivo y su relación con los parámetros productivos en la Hacienda SANAGUS.SA.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la seropositividad y seronegatividad a VLBE.
- Evaluar la relación de animales seropositivos y seronegativos respecto a los parámetros productivos, condición corporal y edad.
- Analizar la relación de animales seropositivos y seronegativos respecto a la serie roja y serie blanca

5.- FUNDAMENTACION CIENTÍFICO TÉCNICA

5.1 RESEÑA HISTÓRICA

Las primeras descripciones datan de 1871 en Alemania. Se cree que los primeros casos aparecieron en la zona de Memel (Lituania) y luego se desplazaron hacia el oeste del continente. Vacas infectadas fueron exportadas desde las costas del Mar Báltico a EEUU y así llegó la enfermedad a América, expandiéndose por EEUU y Canadá, principalmente en el ganado lechero. Los demás países de América probablemente la han adquirido a través de importaciones para mejorar los rebaños (Baruta, y otros, 2011).

Es una enfermedad de distribución mundial con particular predilección por sistemas producción intensiva. Tiene varias formas de presentación, una asintomática caracterizada por la seropositividad de los animales, pero sin sintología clínica, otra en la que los animales presentan conteos linfocitarios por encima del rango establecido para la especie y otra en la que prevalece la presencia de neoplasias. Desde el punto de vista sanitario y económico la LBE tiene un impacto significativo por los costos en diagnóstico, descarte de animales, disminución de los índices productivos, impacto en índices reproductivos, tratamientos de patologías concomitantes, costos por servicios médicos y la limitación en exportación de productos cárnicos y lácteos y comercialización de semen y embriones procedentes de animales infectados (Rama, 2009; Abt, Marshak, Ferrer, Piper & Bhatt, 1976; Baruta et al., 2011).

Es una enfermedad linfoproliferativa y se caracteriza por presentar linfocitosis persistente (LP) que se manifiesta con un incremento sostenido del número absoluto de linfocitos en la corriente sanguínea la cual aparece con una frecuencia de entre el 30 y 70% de los animales infectados; tumores (linfosarcoma o linfoma maligno) en los bovinos mayores a 3 años con una frecuencia de ocurrencia de entre 0.1 y 10% y una forma en la cual los animales tienen anticuerpos (anti-VLB) sin linfocitosis persistente, ni lesiones tumorales condición conocida como fase Aleucemica (Chamizo, 2005; Cadavid 2012).

5.2 ANTECEDENTES

La LEB está presente en la mayoría de los países del mundo, con altas prevalencias en el norte de Europa, Estados Unidos y Canadá. Algunos países de Europa han erradicado la enfermedad. Ampliamente distribuida en América Latina y en la Argentina las mayores prevalencias corresponden a rodeos lecheros (Giraud, y otros, 2010).

La difusión real del VLB solo puede determinarse poniendo en práctica métodos serológicos de diagnóstico. Esta enfermedad afecta a los mecanismos de defensa del huésped, aunque el virus se asocia principalmente con infecciones de linfocitos B, se han detectado provirus de esta enfermedad en el ADN purificado por inmunoafinidad de los linfocitos tanto T como B, el VLB aumenta las poblaciones de linfocitos y disminuye los porcentajes de CD4 y CD8, igualmente la interleucina-2 (IL2), IL 12, y el interferón gamma (IFN) (Bartlett et al., 2011).

Para América latina, la prevalencia está alrededor del 40%. Distribuyendo por países, Venezuela con un 49%; en Chile, en la IX Región 59% (Felmera, R; Zúñigaa, J; López, A; Mirandab, 2009), en Valdivia se demostró una prevalencia predial del 30% (Reinhardt, Hochstein-Mintzel, Riedemann, & Niedda, 2010); Perú, con zonas de 6.3%, Arequipa con un 12%; al noreste de Uruguay, 20.25% (Algorta Turini, Álvarez Albanell, & De Brun Méndez, 2014) , y gracias a un programa de control y Erradicación de Leucosis, existen zonas con el 100% de animales negativos (Biéneres Varela, 2014).

Estos datos revelan la alta presencia del virus en hatos destinados a la producción de leche, debido a que las prácticas de manejo zootécnico en estas razas facilita la transmisión entre animales clínicamente sanos, tales como la alta manipulación por técnicos en el ordeño, incremento en las palpaciones y uso para varios bovinos de agujas, guantes y demás elementos contaminados con sangre; además, la densidad entre animales favorece la propagación del virus por moscas e insectos hematófagos (Evermann. 2014).

5.3 LEUCOSIS EN EL ECUADOR

La Leucosis Bovina Ezoótica se diagnosticó clínicamente en el Ecuador en 1942, en ese entonces se probaron tratamientos quirúrgicos. Investigaciones realizadas prueban su distribución en el Ecuador, por ejemplo, un estudio realizado por estudiantes de veterinaria en el cantón Mejía (provincia de pichincha) arrojó un 30% de prevalencia de la enfermedad (Mantilla, 2010).

En el ganado de tres parroquias orientales del cantón Paute (provincia del Azuay) un estudio arrojó como resultado una seroprevalencia de 6.15 en este estudio se demostró que el manejo actuaba como un factor predisponente (Puma & Yanza, 2013)

En otro estudio se halló la prevalencia del 4.95 (baja en relación a los estándares), en la provincia de Manabí, cantón Calceta (Burgos Zambrano & Zambrano Cano, 2013)

En una investigación que se hizo en el cantón Cayambe, comunidad de Santo domingo (provincia de Imbabura), los resultados mostraron una mayor ocurrencia de las lesiones anatomopatológicas en hembras (153) en comparación con los machos (84).. Se observó también que en 36 hembras y 8 machos se presentaron lesiones anatomopatológicas en varios órganos en el mismo animal. Las hembras bovinas son más susceptibles a adquirir la enfermedad que los machos, por lo tanto, las pérdidas económicas resultan en la merma de leche, el descarte de animales a temprana edad por la muerte de individuos con linfoma y además de descartes de canales en los mataderos. (Bonifaz, N., & Ulcuango, F. 2015).

El ministerio de agricultura y ganadería de Ecuador reportó a la OIE en el 2004, 48 hatos infectados con el virus de la LBE, el estudio se realizó con 907 muestras enviadas al laboratorio veterinario del instituto nacional de higiene de las cuales el 40.6% fueron reactores positivos (OIE, 2004)

5.4 IMPORTANCIA

El impacto de la enfermedad radica en la limitación que genera la infección para la exportación de carcasas a causa de los linfomas, disminución de la producción de leche (Baruta, y otros, 2011).

La LEB es una enfermedad altamente transmisible, que genera un importante impacto económico en la ganadería lechera. Las pérdidas económicas son debidas a muertes prematuras, reemplazo de animales enfermos y disminución de la producción láctea, así como por las restricciones de importación y exportación impuestas por algunos países (Benavides et al., 2013).

La LBE está incluida en la lista de enfermedades, infecciones e infestaciones de la lista de la OIE en vigor en 2016 (OIE., 2016); La enfermedad es importante por el gran impacto económico que genera debido a la muerte de los animales, decomiso en mataderos, disminución de la producción, disminución de la eficiencia reproductiva y limitaciones al comercio internacional de reproductores y material genético (Nava, Obando, & Bracamonte, 2012)

5.5 DEFINICIÓN

La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una enfermedad viral, crónica y contagiosa que predomina principalmente en la ganadería lechera. Es causada por el virus de la leucemia bovina (VLEB), que es un deltaretrovirus de la familia Retroviridae (Baruta et al., 2012; Choudhury et al., 2013), que afecta las células de la línea linfoide, principalmente linfocitos B (Tomita et al., 2013; Aida et al., 2014), aunque también posee capacidad de infectar otras células, como los linfocitos T y monocitos (Chamizo, 2005; Hagiwara et al., 2014).

Es una neoplasia muy mortal, sistémica y maligna del sistema reticuloendotelial de los bovinos (Blood, y otros, 1992), que es caracterizada por la aparición de acúmulos de linfocitos neoplásicos en casi todos los órganos, con una variedad correspondiente de signos clínicos (Blood, y otros, 1974; Úsuga. 2015).

El virus de la Leucosis bovina, afecta las células de la línea linfoide, los linfocitos “B” y se caracteriza por presentar una forma tumoral linfosarcoma (LS), linfoma maligno (LM), linfocitosis persistente (LP), que se manifiesta con un incremento sostenido del número absoluto de linfocitos en la corriente sanguínea y una tercera forma en la cual los animales tienen anticuerpos (anti-VLB) sin linfocitosis persistente, ni lesiones tumorales (Chamizo, 2005).

5.6 SINONIMIA

Leucosis enzoótica bovina, leucosis linfoide, leucosis viral bovina BVL. linfomatosis bovina, linfositomatosis bovina, leucemia bovina, linfosarcoma bovino, linfoma maligno bovino (Descriptores en Ciencias de la Salud, 2012).

5.7 DISTRIBUCIÓN

Los primeros antecedentes que se tienen sobre la Leucosis del adulto provienen de Europa en la segunda mitad del siglo pasado. En esa época la enfermedad sólo se conocía en la Alemania Oriental, desde donde se habría empezado a propagar al resto de Europa por el transporte de animales. En la actualidad se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, con un grado de presentación variable. Su distribución no es igual en todas las regiones dentro de un país, como se ha comprobado en Dinamarca, Alemania, Suecia y los E. E. U. U (Rudolph, 2010).

El VLB es de distribución mundial, siendo los países con mayor prevalencia son España con 90%, Argentina 84%, Chile 82.5%, Polonia 75.8%, Uruguay 68.6%, Venezuela 49%, USA 48%-52%, Japón 44%-80%, Filipinas y México con 32% e Irán 15.5% (Martin et al.,2001; Trono et al., 2001a; Rola y Kuzmak, 2002; Felmer et al., 2006a; Rama, 2009; Matsumura et al.,2011; Mohammadabadi et al.,2011)

En un estudio realizado se encontro una prevalencia menor en Nariño, Colombia (19.8%), y Babol, Irán (8.5%), según Benavides et al. (2013) y Hassanpour et al. (2014), respectivamente. No obstante, en estos y otros estudios, los casos clínicos con presencia de linfosarcomas o linfoma maligno fueron muy pocos o inexistentes (Benavides et al., 2013; Cenuse et al., 2013; Sandev et al., 2013).

La LEB es una enfermedad infecciosa, ocurre en zonas específicas como es el caso de Dinamarca, Alemania, Suecia y Estados Unidos de Norte América, hay informes recientes en Nueva Zelanda, Australia y Gran Bretaña. En los hatos afectados en Europa la mortalidad dependiente de la enfermedad puede alcanzar 2 a 5 por 100. En zonas enzoóticas la morbilidad llega a 60 por 100000 cabezas por año comparado con una frecuencia de 4 por 100000 en otras zonas (Blood, y otros, 1974).

5.8 ETIOLOGÍA

El agente etiológico de la BLV es un *Retrovirus retrovirus exógeno*, subfamilia *Orthoretrovirinae*: incluye los géneros: *alfa*, *beta*, *gamma*, *deltaretrovirus*, *lentivirus* y *epsilon**retrovirus*. del género *Deltaretrovirus*. El virus está relacionado con el Virus Linfotrópico de Células T Humano (HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3) y el Virus Linfotrópico de Células T de Simio (STLV-1) desde el punto de vista estructural y funcional (Hulo et al.,2011). El VLB se ha convertido en una herramienta muy importante para el estudio del HTLV 1 ya que la infección que ambos producen es similar afectando las células T y las células B en el caso de VLB, no producen viremia crónica y su organización genética es igual (Aida et al., 2013).

Este retrovirus posee el enzima reverso transcriptasa, la que permite a los retrovirus convertir el ácido ribonucleico (RNA) en ácido desoxirribonucleico (DNA) y después integrar este DNA vírico en el DNA cromosómico de la célula hospedadora (Rebhun, 1999).

Las infecciones por retrovirus son persistentes, se prolongan durante toda la vida del organismo hospedador y corresponden a la presencia de “información” de origen viral integrada en las células del mismo. Bajo la forma integrada del agente patógeno (retrovirus) está el abrigo de las defensas inmunitarias de su hospedador (Chamizo, 2005).

Esta enfermedad se encuentra distribuida a nivel mundial, con mayor predilección por las explotaciones lecheras debido, en gran manera, al hacinamiento y las diferentes prácticas zootécnicas que facilitan el contagio.

Muchos países en el mundo tienen programas nacionales de control y una gran cantidad de ellos tienen certificación de países libres de LB. En el Ecuador no ha sido enunciada como de declaración obligatoria ni se dispone de un programa nacional de control.

5.9 EPIDEMIOLOGÍA

La Leucosis enzoótica bovina está inducida en frecuencias reducidas en las poblaciones ganaderas heterogéneas, siendo los huéspedes naturales los bovinos (*Bos taurus* y *Bos indicus*). El VLB también puede descubrirse después de una infección experimental en ciervos, conejos, cabras, ratas, cuyes, gatos, perros, monos y antílope. La infección frecuentemente ocurre a partir

de la introducción de animales infectados asintomáticos al plantel y luego toma características enzoóticas (Faúndez, 2005).

A pesar de ser un problema de salud animal y representar pérdidas económicas significativas a nivel mundial, poca atención se ha dado en las últimas décadas a la presencia de la enfermedad, detectada mediante pruebas hematológicas que determinan linfocitosis o linfopenia persistente (Vale, y otros, 2009).

5.10 PATOGENIA

En LP, el ADN proviral fue encontrado integrado en una gran cantidad de sitios en el genoma, de un 25% a un 50% de los linfocitos circulantes. Secuencias del provirus fueron encontradas por ADN-ADN hibridación en linfocitos o en tejidos tumorales, pero no en otros tejidos que no estuviesen infiltrados por linfocitos. En la forma tumoral el ADN se encuentra solo en pocos lugares del genoma de leucocitos y de células tumorales.

Los clones de células linfoideas correspondientes al linaje de linfocitos B pueden llevar copias completas o con elecciones parciales localizadas en la fracción 5' de la molécula de provirus, lo cual no influye para el mantenimiento del proceso neoplásico mientras que si ocurre en la fracción 3' de la molécula puede ser importante.

Se determina que en los portadores asintomáticos (seropositivos), el 5% del total de leucocitos llevan el provirus. Ni los anticuerpos adquiridos pasivamente, ni la inmunidad activa son efectivos en erradicar la enfermedad. Los anticuerpos contra la gp51 producidos por el huésped parecen no tener efecto protector contra la progresión de la enfermedad hacia la fase neoplásica. Habría modulación antigénica que controla la expresión de los antígenos virales que no son expuestos en la superficie de los linfocitos infectados in vivo.

En la mayoría de los casos el título de anticuerpos va elevándose con la evolución de la enfermedad hasta alcanzar un máximo con la muerte del animal en la fase tumoral.

En algunos casos la presencia de linfosarcoma con incremento en el número de leucocitos en sangre periférica (linfosarcoma leucémico). Los animales con LP no tienen anomalías clínicas, no pierden peso, no disminuyen la producción láctea y se reproducen normalmente. LP no es una forma subclínica de linfosarcoma, es una respuesta distinta, a la infección por este virus, donde la constitución genética juega un rol importante (Palma, 2011).

5.11 PATOLOGÍA

La enfermedad puede tener 4 presentaciones, estas son, asintomática, linfocitosis persistente, linfosarcoma y leucemia (Ungar-Waron et al., 1999).

Si bien los mecanismos fisiopatológicos exactos no se conocen a la fecha, se puede iniciar el mecanismo fisiopatológico de la siguiente manera: el virus ingresa al nuevo hospedero través de secreciones de individuos infectados (leche, semen, sangre). Se estima que 1 ml de sangre de un animal portador con un recuento leucocitario de 10.000 linfocitos por mm³ puede tener hasta 5.000 dosis infectantes. El tropismo inicial será especialmente por linfocitos B CD5+, pero en el transcurso de la enfermedad los linfocitos T se afectan, particularmente cuando el virus migra o llega a placas de Peyer. En los linfocitos B se producen de 1 a 5 partículas provirales significa ello (proviral) que el genoma del virus se ha integrado con el DNA del hospedero, en este caso al DNA de la célula linfoide y estas células serán las que infectarán a otros linfocitos. Posteriormente el genoma celular sufre modificaciones, que conducen a la proliferación de células con carácter neoplásico (Baruta et al., 2011; Orjuela, Navarrete, Betancourt, 1991).

5.11.1 Leucosis Bovina Esporádica, se manifiesta como forma juvenil, tímica y cutánea. La forma juvenil se presenta como focos multicéntricos, en animales menos de seis meses; la forma tímica hacia los dos años y la cutánea entre uno y tres años (Gázquez, 1991).

5.11.2 Leucosis Bovina Enzoótica, Se observa rara vez esta forma en animales menores de 2 años siendo más frecuente entre los de 4 y 8 años de edad. Los síntomas y la duración del padecimiento varían según el número e importancia de los órganos involucrados y según la velocidad de crecimiento de la masa tumoral (Blood, y otros, 1974).

5.12 HUÉSPEDES SUSCEPTIBLES

Se considera que el virus infecta naturalmente a los bovinos, búfalos y capibaras y en forma inducida a los ovinos, experimentos in vitro reportan susceptibilidad de células humanas a la infección con VLB. Actualmente hay evidencia de la posibilidad de la infección natural en humanos. In vitro es posible infectar experimentalmente cultivos celulares en mono capa provenientes de diversas especies: humano, mono rhesus, chimpancé, canino, ovino, bovino,

caprino y murciélagos, conejos y pollos. La enfermedad se presenta con mayor frecuencia en animales mayores de 2 años y más en los rebaños lecheros que en los de carne (Baruta, 2011).

5.13 SEROEPIDEMIOLOGÍA

5.13.1 Epidemiología descriptiva, La infección por el virus de la LEB ha sido señalada en la mayor parte de los países que lo han investigado y donde ella se presenta de forma enzoótica en ciertos rebaños o regiones. En las ganaderías infectadas, las tasas de infección de los animales son muy variables, desde algunos individuos, al 30-50%, o incluso más. En los países templados, las conversiones serológicas de los animales son más numerosas al final del verano. Los casos tumorales aparecen en cualquier momento del año (Toma, y otros, 1990).

La determinación serológica de Leucosis Bovina Enzoótica en novillas de levante y vacas en producción en una parte de Colombia fue del 15% de seropositividad según la prueba de ELISA; al correlacionar estos resultados con los cuadros hemáticos, tanto animales positivos como negativos presentaron variaciones similares a nivel serológico, y ningún signo o síntoma que indicara presencia de la enfermedad. Según estudios realizados, hay animales que resultan serológicamente positivos, pero clínicamente sanos y sin modificaciones en su hemograma. (Bautista, 2013)

5.14 PERIODO DE INCUBACIÓN

Esta enfermedad es de curso clínico lento, el período de incubación es de 1 a 5 años hasta la aparición de los síntomas clínicos (Faúndez, 2005). Dependiendo de factores genéticos y ambientales, entre el 30% y el 70% de los animales portadores del virus desarrollan una enfermedad conocida como linfocitosis persistente (LP). Solo un bajo porcentaje (0,1%-10%) con o sin LP, desarrollan tumores linfoideos. El porcentaje de animales con LP que producen tumor varía ampliamente (10% - 85%). Tras la exposición, se necesitan por lo menos 2 semanas para que aparezca una infección manifiesta, esto es, anticuerpos demostrables. En algunos casos este periodo puede ser de varios meses (Kahrs, 1994).

5.15 RESERVORIO Y FUENTE HABITUAL DE INFECCIÓN

Los bovinos infectados son los únicos reservorios del VLB. Como responsables de la difusión de la infección vírica desde animales enfermos a animales sanos hay que considerar a los linfocitos infectados. Tanto los estudios *in vitro*, como *in vivo*, evidencian la diferente cantidad de linfocitos infectados en la vaca, todos los líquidos corporales son potencialmente infectantes, siempre que contengan linfocitos sanguíneos (De la Sota, 2005).

5.16 TRANSMISIÓN

El contagio puede ser horizontal, de animal a animal (Gutiérrez, 2010), o vertical, de madre a hijo (Hagiwara et al., 2014). Los animales portadores sin manifestación clínica son la principal fuente de contagio en los establos lecheros (Gutiérrez, 2010). El contagio ocurre a través de secreciones y fluidos biológicos como leche, sangre, calostro, secreción nasal, saliva, semen y orina, donde se pueden llegar a encontrar linfocitos infectados (Gutiérrez, 2010; Choudhury et al., 2013; Khamesipour et al., 2013).

La transmisión se da por traspaso de glóbulos blancos (linfocitos) infectados con el virus de un bovino infectado a uno sano. Cualquier medida de manejo o práctica veterinaria como extracción de sangre, vacunación, castración, descorne, aplicación de inyectables, cirugías, palpación rectal, tatuaje, etc. que se practican sin tomar las medidas higiénicas correspondientes son una importante forma de diseminación de la infección (Cañibano, y otros, 2011).

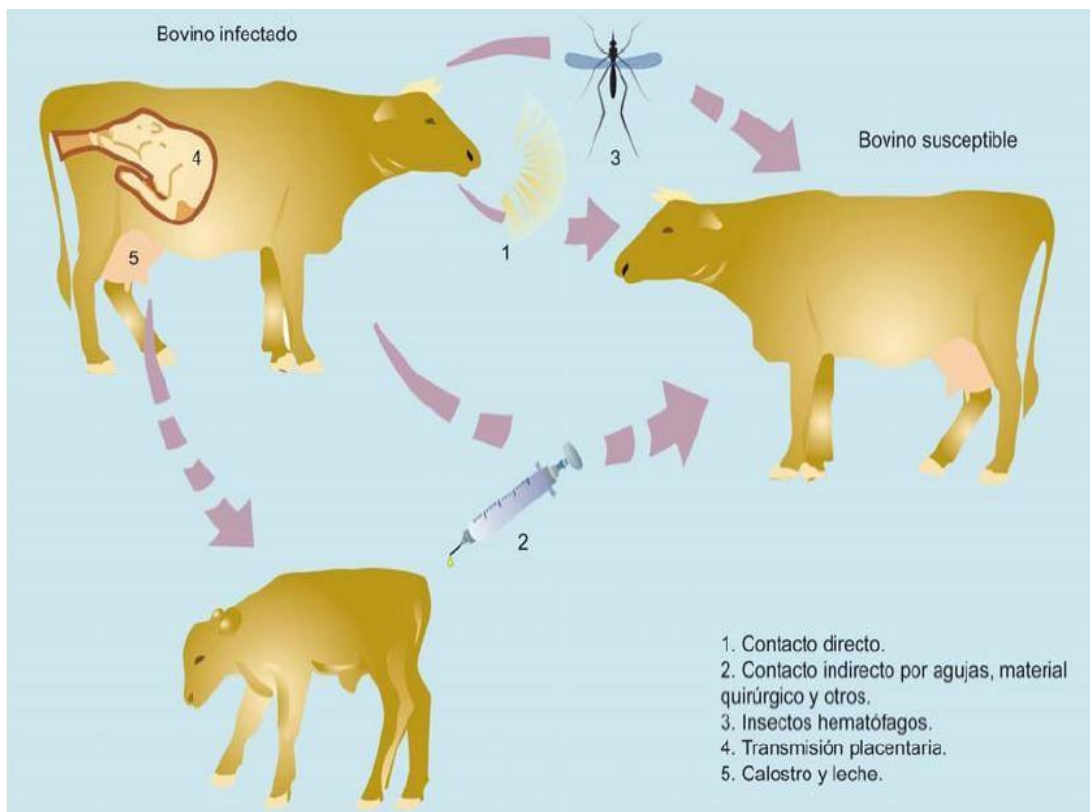


Figura 1.- Mecanismo de transmisión del VLB.

Fuente: (UNAM, 2008)

Aunque en un estudio en Brasil solo se encontró relación entre la presencia de la enfermedad y la inseminación artificial (Costa et al., 2013). Otro de los factores de riesgo que han sido relacionados con la propagación de la enfermedad es la adquisición de animales de reemplazo (Benavides et al., 2013).

Los animales se pueden infectar con el VLB a cualquier edad, los linfosarcomas y la linfocitosis persistente se presentan después de tres años del contagio (Baruta et al., 2012). Normalmente las infecciones son subclínicas. Solo el 30-70% del ganado infectado desarrolla una linfocitosis persistente y el menos del 10% desarrolla tumores (Benavides et al., 2013; Cenuse et al., 2013; Sandev et al., 2013).

5.17 TRANSMISIÓN VERTICAL

5.17.1 Transmisión intrauterina. - Las infecciones intrauterinas ocurren entre el 2 y el 10% según el rodeo (dependiendo de la susceptibilidad, la línea genética, etc.). No dependen del número de parición, ni del momento de infección de la madre, y ocurre en etapas de la gestación en que el ternero es inmuno competente (a partir del tercer mes de gestación). Estas infecciones pueden ser detectadas por métodos serológicos al momento del nacimiento (Giraudó, y otros, 2010).

5.18 TRANSMISIÓN VÍA CALOSTRO Y LECHE

El VLB está presente en el calostro y leche de vacas infectadas. Tanto la fracción celular como las fracciones libres de células, aunque éstas últimas con menor frecuencia, pueden ser infecciosas, tanto de leche como de calostro (Giraudó, 2010)

5.19 TRANSMISIÓN VIRAL POR PRODUCTOS REPRODUCTIVOS

Si bien puede haber presencia de virus en el semen debido a la salida, por traumatismos, de linfocitos infectados al tracto urogenital de los machos, se cree que esta vía de transmisión es poco probable en bovinos. La transmisión del VLB mediante el trasplante embrionario puede ocurrir muy raramente (Giraudó, 2010)

5.20 TRANSMISIÓN HORIZONTAL

Es la principal forma de transmisión, por la exposición de los bovinos susceptibles a diversas células portadoras del virus. Un importante vehículo de transmisión del VLB es a través de la vía hematógona y no se debe descartar el rol de las secreciones, tales como, secreciones nasales, orina, saliva o pequeñas descargas de sangre, fundamentalmente en predios donde se hace manejo colectivo de terneros (Faúndez, 2005).

5.21 TRANSMISIÓN POR SANGRE

5.21.1 Vía intradérmica, La inoculación intradérmica de 2.500 linfocitos provenientes de animales infectados puede desarrollar infección, equivalentes a 0,5 micro litros de sangre entera.

5.21.2 Vía subcutánea, Volúmenes de sangre de 0,1 y 0,5 micro litros de sangre producen infección en los terneros. La infección en terneras de seis meses de edad. La transmisión era mayor en aquellas terneras sometidas a palpación rectal (Giraudó, y otros, 2010).

5.22 TRANSMISIÓN POR INSECTOS

Los artrópodos hematófagos parásitos de los vacunos (tábanos, mosca brava) podrían ser otra vía de diseminación de la infección (Castelli, y otros, 1999). Los mosquitos no jugarían más que un papel limitado en la transmisión de la LBE, contrariamente a los tabánidos, por dos razones: por una parte, su escaso tamaño y, por otra, sus hábitos alimentarios que les hacen generalmente comenzar y terminar una comida sanguínea sobre el mismo hospedador (Toma, y otros, 1990).

Es posible la transmisión del virus mediante insectos hematófagos (especialmente tábanos) bajo condiciones de campo, cuando la prevalencia es elevada en un establecimiento, aunque se implementen eficientes medidas higiénicas–sanitarias y un correcto control de dípteros hematófagos, la transmisión ocurre naturalmente a pesar de estos esfuerzos (Giraudó, y otros, 2010).

5.23 PREVALENCIA SEGÚN EDAD, SEXO Y CONDICIONES GENÉTICAS

La prevalencia se incrementa después de los seis meses de edad y sobre los 2 años de edad, las hembras tienen 2.7 veces más riesgo de infección en comparación con los otros grupos etarios, por ende, el mayor riesgo de infección lo constituyen las vaquillas y vacas jóvenes de un predio. La tasa de infección se incrementa con la edad, siendo más frecuente entre los 4 y 8 años de edad, sin embargo, la prevalencia se estabiliza en grupos de edad más avanzada (Faúndez, 2005).

5.24 DISTRIBUCIÓN POR EDADES

En el ganado vacuno lechero la presentación de la infección aumenta con la edad y el contacto con bóvidos adultos infectados es considerado como el principal factor de influencia (Kahrs, 1994).

5.25 DISTRIBUCIÓN POR RAZAS

En general el ganado vacuno lechero presenta un mayor índice de infección que el ganado vacuno de carne, lo cual puede reflejar mayores posibilidades de exposición más que una especial susceptibilidad. El predominio de la infección varía ampliamente según los rebaños.

5.26 DIFUSIÓN EN EL REBAÑO

Todo indica que la transmisión tiene lugar lentamente dentro del rebaño y que el virus de la Leucemia bovina no es muy transmisible. Podría haber excepciones en los casos en que se hace la vacunación del ganado con una misma aguja de inyección o cuando se llevan a cabo transfusiones de sangre de animales adultos infectados a terneros (Kahrs, 1994).

5.26.1 Presentaciones en animales jóvenes:

5.26.1.1 Leucosis Esporádica Bovina, Afecta a menores de tres años, no se tiene información detallada sobre esta presentación (Bedoya, 1993). A diferencia del linfosarcoma de los adultos y de la linfocitosis persistente que parecen coincidir en los rebaños y zonas infectadas con virus de la leucemia bovina, las formas cutáneas, tímica y de los terneros presenta una incidencia más esporádica (Kahrs, 1994).

5.26.1.2 Forma Juvenil, Afecta a menores de 6 meses de edad, se observa pérdida gradual de peso, así como un aumento repentino de los nódulos linfáticos. El animal presenta depresión, debilidad, fiebre, taquicardia, parecía posterior y muerte entre las 2 y 8 semanas de iniciar los signos (Bedoya, 1993).

5.26.1.3 Forma Tímica, ocurre en animales jóvenes, se afectan no sólo el timo sino también estructuras de la cavidad torácica y a veces se acompaña de alteraciones de piel y neumopatías (Gázquez, 1991), se caracteriza por el desarrollo rápido de una masa tumoral en el cuello a uno

o ambos lados de la tráquea y que, por compresión mecánica, provoca alteraciones cardiovasculares y obstrucción del esófago (Rudolph, 2010).

5.26.1.4 Forma Cutánea, Común en adultos, es caracterizada por el engrosamiento nodular por infiltración de la dermis y caída de pelo de manera principal en la superficie dorsal y lateral de la cabeza, región perineal (Trigo, 1998, 2011), cuello, grupa, y muslos; estas crecen hasta alcanzar el tamaño de un puño, se irritan con facilidad, sangran al menor roce y presenta olor fétido (Bedoya, 1993).

5.27 SÍNTOMAS

Los síntomas se aprecian mayoritariamente después de los 2 años de edad y el periodo de mayor frecuencia es entre los 5 y 8 años. La mayor proporción de los síntomas son inespecíficos y variables, puesto que van a responder a la ubicación de las formaciones neoplásicas (Gatti, 2007). Algunos animales no presentan signos de la enfermedad, pero muestran disminuidas sus defensas. En los que presentan el tumor maligno, la enfermedad tiene un curso crónico, y puede llevar a la muerte desde el inicio de la misma. Cursa con disminución del apetito, emaciación, infertilidad, lasitud, enflaquecimiento, desnutrición, fatiga, disminución de la producción láctea, anemia, aumento del tamaño de los ganglios linfáticos externos, visibles en las regiones del flanco e intercostales principalmente (Díaz, 2007).

Se ha informado de ganglios pre-escapulares que llegan a pesar 1.8 kilos. La exoftalmia por degeneración del tejido retro ocular y/o de las estructuras internas del ojo, es bastante específico como signo de la enfermedad. La presencia de deformaciones o masas tumorales subcutáneas en varias partes del cuerpo, también es indicativo de la enfermedad, la presencia de células tumorales en las extensiones de sangre (leucemia) es también bastante específica (Gatti, 2007).

5.28 CUADRO CLÍNICO Y LESIONES

Los clínicos varían de acuerdo a la evolución de la enfermedad, así los animales pueden presentar un aumento del tamaño de ganglios linfáticos inguinales, mamarios y supraescapulares, se evidencian nódulos dérmicos de superficie lisa en fosa paralumbar, región costal, tabla del cuello y región perianal. Existen otros signos relacionados con la infiltración

de órganos como corazón, en tal caso los animales presentan una enfermedad cardiaca caracterizada por latidos disminuidos, arritmias, bradicardias e ingurgitación de la vena yugular con pulso venoso positivo (Cadavid, 2012; Murakami et al., 2011)

Los signos clínicos dependen del lugar en que aparecen los tumores y pueden incluir desarreglos digestivos, inapetencia, pérdida de peso, debilidad general y, a veces, manifestaciones neurológicas. Los ganglios linfáticos superficiales pueden verse incrementados en tamaño, pudiéndose palpar bajo la piel o por examen rectal (Gutiérrez, 2010).

Induce una infección persistente en el ganado con diversos resultados clínicos. La transmisión viral se produce a través de la transferencia de células BLV positivas presentes en la sangre o la leche de un animal infectado a un nuevo huésped. A continuación, el virus BLV se replica activamente e infecta una población de nuevas células diana (es decir, el ciclo replicativo). Después de unas semanas, una respuesta inmune muy eficaz limita fuertemente la infección de nuevas células diana (Gutiérrez, 2014). Los linfocitos infectados entonces proliferarán y se expandirán (es decir, la expansión clonal o ciclo mitótico). De hecho, la mayoría de los animales infectados con BLV (alrededor del 70%) son en su mayoría portadores asintomáticos del virus. En estos animales no se evidencian ni los síntomas clínicos ni la alteración del recuento total de linfocitos.

Después de una latencia que se extiende de unos pocos meses a varios años, el 30% -50% de los animales infectados con BLV desarrollan una proliferación policlonal de células B, llamada linfocitosis persistente (PL). Expansión policlonal significa que diferentes clones de células B que llevan un virus BLV integrado en el genoma proliferan durante PL. Este cuadro clínico se caracteriza por un aumento del número absoluto de linfocitos B circulantes de sangre periférica (por encima de 10.000 / mm³). Los linfocitos B también son más abundantes que los linfocitos T, causando una inversión de la relación B / T. El propio PL es un rasgo subclínico, pero estos animales pueden sufrir trastornos del sistema inmune, como se evidencia por infecciones oportunistas (por ejemplo, mastitis). En esta desregulación inmune, upregulation de inhibidor de las moléculas receptoras en las células T, inducida por BLV, puede desempeñar un papel en la progresión de la enfermedad y la susceptibilidad a otras infecciones. PL es generalmente estable durante varios años, pero también puede progresar a la fase tumoral. Debido a que la probabilidad de desarrollo tumoral es mayor en los animales que albergan mayores niveles de linfocitos circulantes, PL en el ganado puede considerarse como una etapa pre-tumoral (Gutiérrez, 2014).

La manifestación clínica más evidente de la infección por BLV es el desarrollo de tumores en los órganos linfoides (ganglios linfáticos, bazo), así como en otros tejidos. Esta condición, llamada linfoma, ocurre en aproximadamente 5% -10% de animales infectados, predominantemente en bovinos adultos mayores de 3-5 años. A diferencia de PL, la expansión de las células infectadas es de origen mono- o oligo-clonal, lo que significa que sólo una o algunas células infectadas generan el tumor después de múltiples divisiones. Además de un impacto en la supervivencia, los tumores inducidos por BLV también perturban el sistema inmunitario, lo que conduce a infecciones oportunistas, como se observa en PL.

5.29 LINFOCITOSIS PERSISTENTE (LP)

Se define como un aumento sostenido en el número promedio de linfocitos para la raza y grupo etario más dos veces la desviación estándar. Desde el punto de vista morfológico son normales, no obstante, se ha descrito la presencia de células atípicas, lo cual ha sido considerado como un estado pre-leucémico (Hernández, 2010).

5.30 LINFOSARCOMA (LS)

Es común en adultos de más de cuatro años, se observa el agrandamiento de los linfonodos, se presenta taquicardia, pulso yugular positivo, timpanismo ruminal con reflujo abomasal, indigestión, diarrea, exoftalmos, mucosas pálidas, heces oscuras y malolientes, tumoraciones en útero, vagina y región perivaginal, disminución paulatina de la producción de leche hasta el cese total, disminución de parámetros reproductivos, disminución progresiva de la condición corporal, finalizando con la muerte del animal (Hernández, 2010).

5.31 LEUCEMIA

La leucemia corresponde a la presencia de células tumorales o anormales detectadas en la corriente sanguínea indicadoras de la transformación neoplásica de la médula ósea o de la presencia de linfoma. Las células neoplásicas aparecen entre un 5 a 10% de los casos de LS; son células grandes, con un núcleo redondeado, indiferenciado y grandes nucléolos,

cromatina laxa y citoplasma abundante, alto contenido de basófilos y con presencia de vacuolas. La presencia de anomalías en el cariotipo como: aneuploidias con cromosomas adicionales, son pruebas claras del carácter neoplásico de estas células. Las anomalías pueden variar de un animal a otro, pero se mantienen constantes en el mismo animal, lo cual demuestra que el tumor es monoclonal (Chamizo, 2005).

5.32 SINTOMATOLOGÍA:

El signo más específico y frecuente que permite sospechar la enfermedad, es el agrandamiento bilateral más o menos simétrico de los ganglios linfáticos explorables. El exoftalmo por la afectación del tejido retro-ocular o de las estructuras internas del ojo puede considerarse como una manifestación específica de la enfermedad, así como la presencia de masas tumorales subcutáneas en diferentes localizaciones (BENAVIDES *et al*, 2013).

- Adelgazamiento
- Disminución de la producción de leche
- Aumento de tamaño de los ganglios externos
- Pérdida de apetito
- Aumento de tamaño de los ganglios internos
- -Parálisis parcial posterior
- Fiebre
- Afectación respiratoria
- Exoftalmos bilateral
- Diarrea
- Estreñimiento
- Exoftalmos unilateral
- Cardiovasculares

5.33 DIAGNÓSTICO

Los exámenes diagnósticos comprenden la confirmación clínica y patológica de la existencia del linfosarcoma maligno y la comprobación de la existencia de infección por el virus de la leucemia bovina en bóvidos normales o en los que presentan linfosarcomas; El diagnóstico de

la infección con el VLB en las vacas se realiza utilizando técnicas serológicas como una prueba de enzimoimmunoensayo (ELISA) competitiva que se utiliza para la cuantificación de anticuerpos o de antígenos (Gomez, 2007). En este caso se establece una competencia por el antígeno entre los anticuerpos del suero problema y otros anticuerpos, de la misma especificidad, fijados a los pocillos de la placa. De esta forma, cuantas más inmunoglobulinas haya en la muestra menos antígeno habrá disponible para unirse a los anticuerpos adsorbidos a la placa. La adición de anticuerpo específico para el antígeno conocido, marcado enzimáticamente, y su reacción con el sustrato adecuado, revelan la existencia o no de antígeno libre, en una relación inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos en el suero problema (Hernandez, 2010). Menor intensidad de color (DO) indica menos antígeno libre y, por tanto, mayor presencia de anticuerpos.

Los métodos más utilizados son la inmunodifusión en medio sólido (IDGA) de sueros o el enzimoimmunoensayo (ELISA) para sueros o muestras de leche. En muchos países estas pruebas constituyen la base de políticas acertadas de erradicación. También pueden utilizarse otras pruebas como el radioimmunoensayo. Se han comercializado, varios kits de pruebas IGDA y ELISA (OIE, 2016).

No existe una vacuna ni tratamiento específico, por lo que se recomienda aplicar programas de control para disminuir y erradicar el virus. Los programas de control recomendados son: 1) Detección de animales positivos al BLV y la eliminación de animales seropositivos del hato por medio del sacrificio. Esto es difícil de realizar si se tienen prevalencias muy altas en el hato y si no existen subvenciones para los propietarios por el sacrificio de los animales. 2) En caso de no poder eliminar los animales seropositivos, se pueden manejar dos hatos separados (uno libre de leucosis y uno seropositivo), pero es alto el costo; 3) Instaurar buenas medidas de manejo dentro del hato para disminuir la transmisión del BLV como el uso de agujas y guantes individuales y la desinfección de los equipos, instrumentos, instalaciones y áreas comunes. Se puede utilizar desinfección con agua caliente, luego clorhexidina y luego hipoclorito de sodio, entre otros, manejar animales de reemplazo seronegativos al BLV, no utilizar leche de vacas mastíticas ni de vacas seropositivas en la crianza de terneras. Sin embargo, la literatura reporta, que con la pasteurización de la leche de vacas positivas se logra inactivar los linfocitos infectados con BLV. (Gonzales, 2014)

5.33.1 Enzimoimmunoensayo de bloqueo — ELISA para suero

El siguiente método es adecuado para la detección de anticuerpos en muestras aisladas o conjuntas de suero. (OIE, 2004)

5.33.1.1 Procedimiento de la prueba

Recubrimiento de la placa

Todos los pocillos se recubren con anticuerpo contra el BLV prediluido en tampón de recubrimiento (100 µl/pocillo); la placa se cierra y se incuba durante 18 horas a 4°C. Se realiza un ciclo de lavado (lavado estándar), que consiste en tres lavados llenando los pocillos hasta arriba y dejando cada vez el tampón durante 3 minutos; después se seca la placa. Se añade el antígeno del BLV prediluido en tampón de lavado (100 µl/pocillo); se cierra la placa y se incuba durante 2 horas a 37°C. Se realiza otro ciclo estándar de lavado. (OIE, 2004)

5.33.1.2 Preparación y adición de muestras y controles

Los controles de suero positivo y negativo se prediluyen en tampón de lavado (1/2) y se añade la solución a cuatro pocillos por cada control (100 µl/pocillo). Para probar muestras de mezclas conjuntas se pueden agrupar 80 sueros diluidos (1/2) con el tampón de lavado y la solución se añade a dos pocillos (100 µl/pocillo) por cada muestra. Las muestras aisladas deben diluirse 1/100 con tampón de lavado y añadir la solución a dos pocillos (100 µl/pocillo) por cada muestra. Después de colocar las muestras, se cierra la placa y se incuba durante 18 horas a 4°C. Se realiza un breve lavado llenando los pocillos y vaciándolos inmediatamente. (OIE, 2004)

5.33.1.3 Preparación y adición de conjugados y substrato

A todos los pocillos se añade (100 µl/pocillo) anticuerpo biotinilado prediluido (utilizando tampón de lavado + 10% de suero fetal bovino). Se cierra la placa y se incuba en un agitador durante 1 hora a 37°C. Se realiza un lavado estándar como se describió anteriormente. Se prediluye avidina conjugada con peroxidasa en el tampón de lavado y se añade a todos los pocillos (100 µl/pocillo). Se cierra la placa y se incuba en un agitador durante 30 minutos a 37°C. Se realiza un lavado estándar. Se añade a todos los pocillos 100 µl del substrato ortofenilén diamina y se cierra la placa dejándola en la oscuridad durante 9 minutos. La reacción se detiene añadiendo 0.5 M de ácido sulfúrico (100 µl/pocillo). (OIE, 2004)

5.33.1.4 Lectura e interpretación de los resultados

Se ajusta el lector de placas y se lee la absorbancia a 490 nm. Para lectores de doble longitud de onda se utiliza un filtro de referencia entre 620 nm y 650 nm. Los resultados se leen dentro de los 60 minutos siguientes a la adición de la solución de parada. (OIE, 2004)

ELISA tiene la ventaja de detectar la presencia de anticuerpos antes que IDGA (porque es más sensible). Además, se puede realizar en forma automatizada, permite analizar muestras de leche con una sensibilidad similar a la que se obtiene con el suero, y el resultado se obtiene dentro de las 24 horas. Es reconocida como prueba oficial, para la certificación de establecimientos libres de LB (Santamaría, 2014)

5.34 HEMATOLOGÍA

La sangre hace de 6-8% del peso corporal, la cual está compuesta de células (eritrocitos, leucocitos, plaquetas) que circulan en un líquido denominado plasma. Los eritrocitos o glóbulos rojos son los más numerosos, habiendo varios millones/mm³ de sangre; dependiendo de la especie, los eritrocitos pueden representar de un cuarto hasta la mitad del volumen sanguíneo total. El número total de leucocitos o glóbulos blancos es muy inferior a los de los eritrocitos o plaquetas, variando de 5,000/mm³ a aproximadamente 20,000/mm³; la proporción de tipos de leucocitos puede variar dependiendo de la especie, siendo los neutrófilos el tipo de leucocito más numeroso en los carnívoros y los linfocitos el más numeroso en los rumiantes. (Gallo, 2014)

El plasma consiste principalmente en agua que contiene aproximadamente 6-88 g/dl de proteínas plasmáticas y 1,5 g/dl de sales inorgánicas, lípidos, carbohidratos, hormonas y vitaminas. El plasma se obtiene tomando la sangre con anticoagulante, seguido de una centrifugación; si se toma la muestra sin anticoagulante, el líquido que se obtiene tras la centrifugación se denomina suero. (Gallo, 2014)

En Hematología el principal análisis o examen que se realiza, es la Biometría Hemática Completa o el Hemograma; siendo este la determinación cuantitativa y cualitativa de los diferentes componentes de la sangre, como son: los Eritrocitos, Leucocitos y Plaquetas, además de otros componentes como el Plasma y las Proteínas Plasmáticas. Las diferentes técnicas que se realizan en el examen de la Biometría Hemática Completa, son las siguientes:

- Serie Roja: Determinación de Hematocrito, Determinación de Hemoglobina, Recuento Total de Eritrocitos y los Índices Eritrocitarios.
- Serie Blanca: Recuento Total de Leucocitos y Leucograma
- Serie Plaquetaria: Recuento Total de Plaquetas (Gallo, 2014)

5.35 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

- **Prueba de enzimoimmunoensayo ELISA equipos comerciales.**

Es sencilla y la de uso más difundido para la detección de anticuerpos:

- a) Detecta la presencia de anticuerpos en suero y/o leche.
- b) Es un método rápido, sensible y de resultados objetivos que pueden ser útil a la hora de hacer análisis en un gran número de muestras. (Felmer, Z.& Recabal. 2006)

5.35.1 Prueba ELISA

La prueba Elisa se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro (RAMA *et al*, 2014).

Hay diferentes tipos de Elisa, se describirá el de Antígeno marcado:

ELISA competitivo

Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.

Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora.

Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado de ambas pruebas y comparar los resultados. Si las lecturas de ambas pruebas son análogas, el antígeno a estudio no tienen nada que ver con los anticuerpos empleados para tapizar el soporte. Si hay diferencia en las lecturas de ambos pocillos, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica, es proporcional a la concentración del antígeno problema en la muestra.

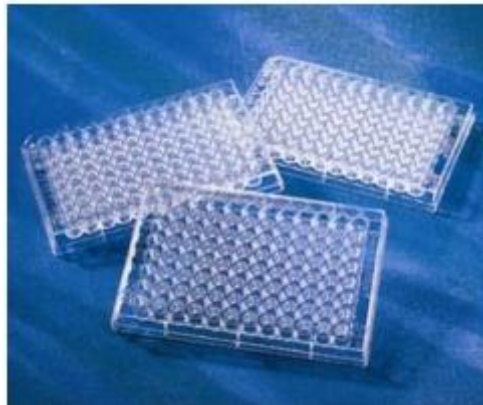


Figura 2.- Microplacas de poliestireno de 96 pocillos.

Fuente: (CULTEK, 2008)



Figura 3.- Lavador de placas de 96 pocillos

Fuente: (CULTEK, 2008)



Figura 4.- Lector de placas de 96 pocillo

Fuente: (CULTEK, 2008)

5.36 TRATAMIENTO Y MANEJO DE ENFERMOS

Por las características del virus y su mecanismo de integración al genoma del hospedero, no existe tratamiento. Y las medidas van dirigidas al control y la prevención de la enfermedad, si la erradicación no se plantea como opción (Rama, 2012).

El ganado afectado puede vivir durante un corto tiempo mediante cuidados en la lactancia o mediante tratamiento quirúrgico con el fin de eliminar la presión producida por el espacio que ocupa las lesiones.

5.37 CONTROL Y ERRADICACIÓN

Se han realizado una serie de intentos a nivel mundial para reducir la prevalencia del VLB en el ganado lechero. Los programas de control y erradicación de la LEB se basan en tres componentes: el primero consiste en identificar y eliminar animales positivos (Carignano et al., 2012; Lojkic et al., 2013), el segundo consiste en separar a los animales positivos de los negativos (Rodríguez et al., 2011; Lojkic et al., 2013) y el tercero consiste en la aplicación de buenas prácticas sanitarias y bioseguridad con la finalidad de interrumpir el ciclo de transmisión, debido a que el virus provoca una infección persistente (Álvarez et al., 2012).

Cualquiera que fuese el programa de control y erradicación a emplearse, se debe limitar la transferencia de las células infectadas con BLV a los animales libres de infección. Entre las principales prácticas se tiene: a) uso de agujas y jeringas descartables individuales, b) uso de guantes obstétricos descartables individuales, c) uso de material estéril en intervenciones quirúrgicas, tatuaje o aretado, d) administración de calostro de madres no infectadas, e) alimentación de los terneros con leche pasteurizada o con sustitutos, f) eliminación de vectores artrópodos, g) empleo de semen libre a VLB, h) prevenir la introducción de animales infectados, i) separación de animales por edad, j) minimizar el movimiento de animales, y k) limitar el acceso a los visitantes externos (Rodríguez et al., 2011).

La segregación selectiva de los animales con un persistente elevado número de linfocitos en la sangre y serológicamente positivos al VLB sería una alternativa para el descarte de los principales diseminadores de la enfermedad (Baruta et al., 2012).

5.38 MEDIDAS PARA EL SANEAMIENTO DE TERRITORIOS CON LA ENFERMEDAD ENZOÓTICA

Se partirá en detalle de las siguientes actuaciones:

- a)** Comenzando en el séptimo mes de vida, y a intervalos de 3-6 meses, se efectuarán análisis serológicos para proceder a la eliminación de los bóvidos infectados, no más allá de a los 14 días de su identificación, hasta conseguir que la población vacuna arroje resultados negativos con las pruebas para LEB (De la Sota, 2005).
- b)** Cuando el grado de contagio en los rodeos de hembras madres es alto (70%) en producciones escalonadas, es recomendable descubrir tempranamente la existencia de otras infecciones mediante medidas complementarias e impedir su propagación a través de:
 - 1)** Eliminación de los terneros recién nacidos ya infectados al momento del parto; las pruebas serológicas deberán realizarse antes de que las crías ingieran el primer calostro.
 - 2)** Administración de leche calostrada (recién ordeñada o congelada) de hembras madres exentas de Leucosis a terneros nacidos de vacas positivas a la enfermedad (Sanidad Animal, 2006).
 - 3)** Se adoptarán también medidas de higiene y desinfección que eviten los contagios procedentes de animales ignoradamente infectados; estas actuaciones son de carácter zootécnico y de medicina veterinaria (marcado en las orejas, vacunaciones protectoras, extracción de muestras de sangre para pruebas diagnósticas, prácticas quirúrgicas, ayudas en los partos) (De la Sota, 2005).

5.39 Para los países o territorios circunscritos exentos de Leucosis bovina enzoótica, la O.I.E. establece los siguientes parámetros básicos:

Todos los tumores de aspecto linfosarcomatoso deben ser declarados a la Autoridad veterinaria y ser examinados, mediante técnicas de diagnóstico apropiado, en un laboratorio (OIE, 2010). Se considera limpia el área cuando el 99,9% de los rebaños se reconocen oficialmente libres de Leucosis o si en el transcurso de los últimos 5 años no enfermaron de Leucosis más del 0,05% de los rebaños y estos casos fueron certificados mediante estudio serológico de los rebaños

afectados. Se considera limpia una región cuando ante las autoridades oficiales se hizo la declaración obligatoria de tumores (Sanidad Animal, 2006).

- a) Todos los rebaños en los que hayan permanecido desde su nacimiento los bovinos con tumores y en los cuales haya sido confirmado o no haya podido ser descartada la Leucosis bovina enzoótica, deben estar identificados, y todos los bovinos mayores de 24 meses de edad presentes en esos rebaños deben resultar negativos a una prueba de diagnóstico individual para la detección de la Leucosis bovina enzoótica (OIE, 2010).
- b) Los bóvidos de nuevo ingreso irán provistos, además, de un certificado médico- veterinario informativo de que los animales responden a las características señaladas (aspecto individual, de rebaño y territorio) (De la Sota, 2005).

5.40 BIOMETRIA HEMÁTICA

La biometría hemática sirve para conocer cuál es el número de células en la sangre (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) este estudio nos da el número total, lo que nos puede ayudar a resolver un problema. La biometría hemática es un estudio que se basa en la toma de sangre venosa del paciente en ayuno y se van a dosificar hemoglobina globular, tamaño de los eritrocitos, presencia de reticulocitos en la sangre, número de glóbulos rojos, y porcentajes de sus diferentes clases como linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, segmentados y presencia de formas inmaduras o blastos, número de plaquetas y velocidad de sedimentación globular, todos estos parámetros tienen valores normales, y sus alteraciones manifiestan muchas patologías (Yanza, 2013)

5.41 COMPONENTES DE LA LECHE CRUDA

5.41.1 Agua

El agua es el componente más abundante de la leche, representa aproximadamente el 87,5 % del total de la leche. (Bylund & López, 1998)

5.41.2 Grasa

La grasa de la leche está compuesta por triglicéridos (componentes dominantes), diglicéridos y monoglicéridos, ácidos grasos, esteroides, carotenoides vitaminas A, D, E y K y otros elementos

en trazas. La membrana está compuesta de fosfolípidos, lipoproteínas, proteínas, ácidos nucleicos, enzimas, elementos traza (metales) y agua ligada. (Bylund & López, 1998)

5.41.3 Proteína

Las proteínas son moléculas, las cuales están formadas por cadenas pequeñas de aminoácidos, la leche de vaca es una fuente de proteínas de alta calidad, constituidas por caseína, albúmina y la globulina (Díaz, 2005)

Carbohidratos

El principal componente es la lactosa y es considerado por algunos autores como el único; sin embargo, también se ha identificado a pequeñas cantidades de glucosa, galactosa, sacarosa, aminoazúcares, los cuales a pesar de están en concentraciones muy bajas, llegan a ejercer una influencia importante en la estabilidad de la leche, sobre todo cuando se somete a tratamientos térmicos intensos.

5.41.4 Minerales y sales

La leche contiene un cierto número de minerales. Su concentración total es inferior al 1%. Las sales minerales se encuentran disueltas en el suero de la leche o formando compuestos con la caseína. Las sales más importantes son las de calcio, sodio, potasio y magnesio. Se encuentran como fosfatos, cloruros, citratos, y caseínatos. Las sales de potasio y calcio son las más abundantes en la leche normal. (Bylund & López, 1998)

5.41.5 Otros constituyentes de la leche

La leche contiene siempre células somáticas (glóbulos blancos o leucocitos). Su contenido es bajo cuando se trata de leche procedente de ubres sanas, pero aumenta si se trata de una ubre enferma, normalmente en proporción a la severidad de la enfermedad. El contenido máximo de células somáticas/ cm³ es 7.0×10^5 de acuerdo a NTE INEN 9:2012 (Anexo)

5.42 MÉTODOS DE CONTEO ELECTRÓNICO CELULAR

Los métodos electrónicos tienen en la actualidad una aplicación universal, sobre todo en laboratorios de control lechero o dedicados al diagnóstico o investigación de la mastitis,

utilizándose aparatos de recuentos celulares como el Fossomatic (Foss Electric, Dinamarca) y el Counter Coulter (Coulter, Inglaterra) (Saran y Chaffer, 2000; Bedolla et al., 2007).

Método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic) y Counter Coulter. Estos dos aparatos poseen alta correlación con la microscopia óptica, por lo que proporcionan una medida segura en el recuento de células somáticas. Sin embargo, se pueden presentar variaciones en el recuento en las mismas muestras cuando se realizan con los dos aparatos debido a la diferencia de operación de cada uno de ellos. El Fossomatic basa su cálculo en la tinción fluorométrica del material nuclear, mientras que el Counter Coulter cuenta el número de impulsos eléctricos resultantes de las partículas que pasan entre dos electrodos (Djabri et al., 2002). Es decir, cuenta partículas de un diámetro determinado, que para el caso serían las células, pero en el rango de recuento entrarían otras partículas, aumentando ligeramente el valor en comparación con el Fossomatic (Saran y Chaffer, 2000; Bedolla et al., 2007).

El Fossomatic consiste en el filtrado de una solución de leche mezclada con detergente (Triton X-100 EDTA) a través de una membrana con poros finos. Un procedimiento colorimétrico basado en la reacción con el ADN de las células es entonces utilizado para determinar el contenido de ADN que está relacionado directamente con el número de células presentes en la muestra inicial (Djabri et al., 2002; Bedolla et al., 2007).

Los criterios de la muestra están basados en revisión de literatura y están enfocados a las producciones lecheras, dado que es en este tipo de sistemas donde prevalece la infección (Betancur & Rodas, 2008). Entre los 3 y 13 años puesto que antes de los 3 años los animales poseen anticuerpos maternos y 13 años es el tiempo promedio en el que las hembras terminan su periodo productivo (Cadavid, 2012).

5.42.1 PROCEDIMIENTO:

Se coloca una muestra de leche de 5ml de leche a $40^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C. En el Fossomatic se tiñen las células somáticas con un colorante fluorescente para obtener una reacción solo con el ADN de las células. Es por eso que las partículas sucias y los glóbulos de los lípidos no se suman al número de las células somáticas. La muestra pasa frente a una luz especial y un detector registra cada célula somática. Entre cada muestra el aparato limpia su sistema de flujo para evitar el efecto del arrastre de una muestra a otra. Todas estas funciones son automáticas. En síntesis, se puede decir que el Fossomatic es un contador específico de ADN basado en un principio óptico

de fluorescencia. Debido a que el bromuro de ethidio penetra en la célula y forma un complejo fluorescente con el ADN nuclear, cada célula produce un pulso eléctrico que se amplifica y se registra (Martínez et al., 2003).

Células/ml de leche	Estado de la Ubre
Hasta 100,000	Sana, leche normal
De 100,000 a 200,000	Sospechoso, nivel superior fisiológico
Más de 200,000	Mastitis, leche anormal

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

5.43 UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS UFC.

UFC es el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia visible del orden de decenas de millones de células descendientes. Las UFC pueden ser pares (diplococos), cadena (estreptococos) o racimos (estafilococos), así como células individuales Unidad formadora de colonias. (Wikipedia)

5.44 CONTEO BACTERIANO

Señala la magnitud de la población total bacteriana. En ese sentido se puede determinar por diversas técnicas que se basan en algunos de los siguientes tipos de medida.

- Recuento de microorganismos viables totales: Contaje en placa, determinación del número más probable, métodos basados en la reducción de colorantes por viables, contaje de microscópico directo.
- Métodos físicos: Impedancia, Microcalorimetría, Citometría de Flujo.
- Métodos Químicos: Nucleasa termoestable, lisado de limulus, sondas de ácidos nucleicos, PCR, medida de ATP, radiometría, substratos fluoro y cromogénicos.

5.44.1 Microorganismos aerobios mesófilos.

Los aerobios mesófilos son microorganismos que se desarrollan a temperatura ambiente y se encuentran en el aire, agua y suelo. El número de microorganismos aerobios mesófilos cuantificados en los alimentos es uno de los indicadores microbiológicos de calidad más utilizados. Es aplicable a todos los alimentos con excepción de los productos fermentados madurados. El Instituto Nacional de Normalización en la norma INEN9:2012 en la quinta revisión indica que el límite máximo de microorganismos aeróbicos mesófilos permitidos para leche cruda es de $1,5 \times 10^6$ UFC/ cm³ , en una ubre de una vaca sana la leche tiene un muy bajo contenido de microorganismos si el contenido es alto nos indica que la vaca puede estar enferma o no hay un correcto proceso de ordeño y un buen enfriamiento de la leche después del ordeño.

5.45 CITOMETRIA DE FLUJO

La citometría de flujo (CMF) es una técnica de análisis celular multiparamétrico cuyo fundamento se basa en hacer pasar una suspensión de partículas (generalmente células) alineadas y de una en una por delante de un haz de láser focalizado. La citometría de flujo es una tecnología (proceso) que permite la medida simultánea de múltiples características físicas de una sola célula. Estas medidas son realizadas mientras las células (partículas) pasan en fila, a una velocidad de 500 a 4000 células por segundo, a través del aparato de medida en una corriente de fluido (1). (NEUROBIOQUIMICA, s.f.)

En la industria láctea se ha utilizado éste método para la determinación del contenido de células somáticas, contaje total de bacterias medido mediante equipos Foss: Fossomatic FC y BactoScan FC, y otras marcas de equipos confiables, en el cual el conteo de partículas se fundamenta en el contaje de núcleos de células teñidos, principalmente leucocitos con alto contenido de ADN y células epiteliales con bajo contenido de ADN (Jánosi & Baltay, 2004).

5.46 BactoScan FC.

El BactoScan™ FC se ha diseñado para la determinación rápida y fiable completamente automatizada de la calidad higiénica de la leche cruda. El analizador cuenta el número total de Células Bacterianas Individuales (CBI) en una muestra láctea. El analizador normalmente se usa en los laboratorios centrales de control de la leche para analizar el contenido de bacterias

en las muestras de leche cruda con el fin de fijar el pago por la leche. Los resultados también pueden usarse para una examinación del estado higiénico a nivel de las explotaciones. Las centrales lecheras pueden usar el recuento de bacterias para vigilar la leche cruda entrante para impedir la contaminación interna de las muestras.

El BactoScan FC tiñe las bacterias con un colorante fluorescente y reduce y dispersa los componentes lácteos, de modo que es posible contar las bacterias. Un detector detecta la luz emitida por las bacterias, cuando un hilo fino de muestra atraviesa una célula de flujo pasando bajo el detector. Los pulsos de luz se convertirán en pulsos electrónicos y se contarán y se visualizan en un PC. Para evitar la interferencia de otras partículas, tales como glóbulos grasos, micelas de proteína y células somáticas, la muestra será sujeta a un tratamiento químico para destruir estas partículas. Además, el analizador rompe la agrupación de bacterias. El analizador ejecutará automáticamente este tratamiento. (FOSS, 2011)

Basado en las probadas tecnologías de FOSS, el BactoScan™ mide la calidad higiénica de la leche, analizando las bacterias presentes en la leche cruda. BactoScan da los resultados en pocos minutos y permite así a las granjas y laboratorios interprofesionales actuar rápido para poder preservar y mejorar la calidad de la leche (FOSS, 2011).

5.47 PERIODO DE DÍAS DE LACTANCIA.

Es el número de días que produce leche una vaca desde el parto hasta el día que se seca

5.48 PROMEDIO DE LITROS / DÍA

Es un estimado de los litros que produce paca animal individualmente en un día completo

ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

<p>Objetivo 1:</p> <p>Determinar la seropositividad y seronegatividad a VLBE en la Hacienda SANAGUS.SA</p>	<p>Actividad</p> <p>Recolección de muestras de sangre y leche a vacas del primer parto en adelante.</p>	<p>Resultado de la actividad</p> <p>Obtención de datos con respecto a los registros productivos de cada uno de los animales. Enviar las muestras obtenidas al laboratorio.</p>	<p>Descripción de la actividad (técnicas e instrumentos)</p> <p>Registros de la hacienda Técnica de diagnóstico</p>
<p>Objetivo 2:</p> <p>Evaluar la relación de animales seropositivos y seronegativos respecto a los parámetros productivos, condición corporal y edad.</p>	<p>Actividad</p> <p>Relacionar los datos obtenidos con los exámenes de sangre y leche.</p>	<p>Resultado de la actividad.</p> <p>Datos numéricos para su análisis y correlación.</p>	<p>Descripción de la actividad (técnicas e instrumentos)</p> <p>Análisis estadísticos</p>
<p>Objetivo 3:</p> <p>Analizar la relación de animales seropositivos y seronegativos respecto a la serie roja y serie blanca respecto a los parámetros productivos.</p>	<p>Actividad</p> <p>Relacionar los datos productivos obtenidos en los exámenes a los animales seropositivos y seronegativos Leucosis</p>	<p>Resultado de la actividad.</p> <p>La seropositividad de los animales y su relación con la producción bovina.</p>	<p>Descripción de la actividad (técnicas e instrumentos)</p> <p>Técnicas de diseño Experimental.</p>

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

6.- VALIDACIÓN DE LAS HIPOTESIS

6.1 Hipótesis Alternativa

Mediante la determinación serológica, la presencia de la enfermedad Leucosis Bovina influye con los parámetros productivos.

6.2 Hipótesis Nula

Mediante la determinación serológica, la presencia de la enfermedad Leucosis Bovina no influye con los parámetros productivos.

Variables:

Dependiente

Seroprevalencia de Leucosis viral bovina

Independiente

Anticuerpos contra el virus de la leucosis bovina, correlacion con parámetros productivos.

7.- MATERIALES

Recursos Humanos

- Santiago Barrera
- Transporte
- Alimentación

Materiales de oficina

- Computadora
- Bolígrafo
- Libreta de apuntes
- Internet

- Cámara
- Memoria USB
- Papelería y materiales

Materiales y equipos de laboratorio

- 1 caja de jeringuillas desechables 20ml
- 1 caja de guantes de latex
- 1 caja de tubos vacutainer
- 1 caja de agujas doble bisel.
- Frascos para muestras de leche
- Cooler y medio refrigerante para el transporte.
- Examen de sangre ELISSA
- Máquina Fossomatic
- Máquina Bactoscan

Material biológico.

- Muestras de sangre
- Muestras de leche

8.- PROCEDIMIENTO/MÉTODO

Procedimiento

La muestra se toma de entre todos los animales a partir del primer parto:

Muestra biológica de sangre: Se toma sangre procedente de vena coccígea, por la metodología descrita por (Nava, Obando, Molina, Bracamonte, & Tkachuk, 2011), la misma consiste en limpiar la región ventral de cola con una solución antiséptica, el sitio de punción se realizara

con un Vacutainer® calibre 21 entre los arcos hemales de las vértebras coccígeas y se procedió a extraer la cantidad de sangre necesaria para realizar tanto la prueba serológica como el conteo hematológico, de tal manera que se extrajo un volumen total por animal de 12 ml los cuales se depositaron en partes iguales en tubos con anticoagulante y sin anticoagulante. Venopunción vena coccígea en un bovino. (Nava et al 2011)

Muestra biológica de leche: Se toma la muestra directamente del pezón de la vaca; luego del proceso de limpieza y despunte se coloca las pezoneras automáticas que se demoran de 4 a 5 minutos en ordeñar a una vaca, al cabo de dos minutos a dos minutos y medio se pausa el ordeño automático sin que se quite el vacío completamente, se retira las pezoneras una a la vez mientras se recoge la muestra directamente del pezón, tomando tres chorros de leche en promedio por pezón, se completa los 40ml por frasco.

MÉTODOS:

Verificación

Selección

Conservación

Protocolos de trabajo

Exámenes de laboratorio muestra de sangre (ELISA).

Exámenes de laboratorio muestras de leche: Grasa, proteína, conteo de células somáticas, conteo bacteriano total, solidos totales, solidos no grasos.

Tabulación de datos

MÉTODOS DE CAMPO

Recolección de muestras:

La recolección de las muestras de sangre de los bovinos se realizó siguiendo las normas de bienestar animal, las que se la detallan a continuación:

- a) Rotular los tubos de recolección con el número del animal.
- b) Con una torunda de algodón empapada en alcohol se limpia la piel en la parte ventral de los huesos coccígeos.

- c) Mediante el tacto identificar el surco vascular por donde pasan el arterial caudal medial y la vena coccígea.

Una vez localizado el surco vascular y realizado las medidas asépticas adecuadas se procede a:

- d) Introducir la aguja subcutáneamente en la vena coccígea.
- e) En el otro extremo de la aguja se coloca el tubo vacutainer sin anticoagulante y a continuación el tubo vacutainer con anticoagulante.
- f) Y se extrae de 6 a 10 ml de sangre para la prueba respectiva.

La recolección de las muestras de leche de los bovinos se realizó siguiendo el siguiente protocolo:

- a) Rotular los tubos de recolección con el número del animal que entra a la manga del ordeño.
- b) En el ordeño automático “Westfalia” su rango de tiempo de ordeño es de 4 a 5 minutos por animal.
- c) Luego de iniciado el ordeño automático, aproximadamente a los 2 minutos y 30 segundos se pausa y se recolecta tres chorros por pezón en el embace de plástico.
- d) Los tubos estériles se depositan en el cooler con gel refrigerante.

Identificación de las muestras:

El tubo que contiene la muestra de sangre debe de tener una etiqueta numerada la cual nos permita identificarla y a su vez que concuerde con la hoja de campo, la misma que posee los datos amplios para el conocimiento de las características individuales de cada animal como son:

- Su edad
- Observaciones clínicas (Estado de nutrición)
- Fecha de recolección

Transporte de las muestras

Las muestras de sangre y leche tomadas fueron transportadas hacia los laboratorios de agrocalidad en Tumbaco “Pichincha”, inmediatamente después de su recolección para prevenir alteraciones, utilizamos dos termos cooler que contenía en su interior gel refrigerante, lo cual nos permite proteger las muestras y mantener la temperatura adecuada durante el transporte.

Método de laboratorio

La prueba serológica que se realizó corresponde a Elisa indirecta (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, ‘Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas), ésta consiste en un inmunoensayo enzimático para la detección de anticuerpos frente al virus de la Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) en suero. La prueba detecta anticuerpos contra la LBE frente a proteínas virales, que en este caso corresponde a la glicoproteína de superficie gp51.

Realización De La Prueba Elisa Indirecta

Materiales

- Tubos tapa roja
- Tubos tapa lila
- Alcohol
- Algodón
- Guantes de látex
- Marcador para rotular los tubos
- Tapa boca
- Gorro
- Gafas

ELISA indirecto

Este es el método más adecuado para la detección de anticuerpos en muestras individuales o combinadas de suero.

Procedimiento:

a. Recubrimiento de la placa

Todos los pocillos se recubren con anticuerpos contra el virus de la leucosis enzootica pre diluido en tampón de recubrimiento (100 µl/pocillo); la placa se cierra y se incuba durante 18 horas a 4°C. Se realiza el ciclo de lavado (lavado estandar), que consiste en tres lavados llenando pocillo hasta arriba y dejando cada vez el tampón durante 3 minutos; después se seca la placa. Se añade el antígeno del virus pre-diluido en tampón de lavado (100 µl/pocillo).

Antígeno marcado ELISA Competitivo.

- Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición en concentración conocida de una mezcla de antígenos del anticuerpo utilizado en el paso anterior, marcados con una enzima y antígenos desconocidos objeto de estudio. Paralelamente, añadir únicamente antígenos del anticuerpo usado en el paso anterior, marcados con una enzima. Lavar para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado.
- Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado de ambas pruebas y comparar los resultados. Si las lecturas de ambas pruebas son análogas, el antígeno a estudio no tienen nada que ver con los anticuerpos empleados para tapizar el soporte. Si hay diferencia en las lecturas de ambos pocillos, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica, es proporcional a la concentración del antígeno problema en la muestra

Las técnicas de ELISA se realizan mediante la adición secuencial de todos los reactivos necesarios separados por etapas de lavado. Cada una de las operaciones puede realizarse manualmente con micropipetas o con equipamiento para la automatización de todas y cada una de las etapas. Esta completa automatización se justifica por la necesidad de procesar y analizar un gran número de muestras y necesitar una elevada repetibilidad de resultados.

Los exámenes de leche que se realizaron fueron la Citometria de flujo y espectroscopia infrarroja. Que son dos exámenes esenciales para determinar la composición, el conteo de células somáticas u unidades formadoras de colonias y supervisar la calidad de la leche mediante el análisis físico químico.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Cuadro 1 Técnicas e Instrumentos

Nº	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
1	Técnicas de observación	Observación Directa
2	Técnicas de identificación	Fichaje de campo
3	Técnicas serológicas	Inmunoensayo ELISA

Fuente: Directa

Elaborado por: *BARRERA, Santiago, 2017*

Formula de correlación

Animales seropositivos y seronegativos a (ELISA) Competitivo e Indirecto.

Muestra poblacional:

Del hato se seleccionaron 40 bovinos, de sexo hembra, mayores de 4 años y se forman dos grupos de 20 animales seropositivos y 20 animales seronegativos, es decir un grupo T1 de casos y T2 de control.

Se usó el análisis de t de student para medias de dos muestras emparejadas para el análisis estadístico.

- **Tipo de Investigación**

Retrospectiva, enfocado al analisis entre algun factor o caracteristica sospechosa y el desarrollo de cierto procedimiento.

Se realiza basandose a traves de analisis especiales, comparando grupos de individuos enfermos (Casos) con grupos de individuos sanos (Controles).

- **Lugar del ensayo y caracterización climática**

Asociación ganadera Callo Mulaló; ubicada en el catón Latacunga en el sitio Lasso, noreste de Latacunga por el sector oriental de la Provincia de Cotopaxi. El clima aquí es suave, y

generalmente cálido y templado. Hay precipitaciones durante todo el año en Mulaló. La temperatura promedio en Mulaló es 11.8 ° C. Precipitaciones aquí promedios 679 mm.

Gps Coordenadas: 0° 45' 22.788" S, 78° 35' 48.3756" W

Latitud: -0.756588

Longitud: -78.601234

Altitud: 2800 m.s.n.m.

Cuadro 2; Variables e Indicadores

Variable Independiente	Variable Dependiente	Indicadores
Animales seropositivos y seronegativos a Leucosis – ELISA Punto de corte	Biometría hemática: Serie blanca y roja, Inmunoglobulinas en leche y plasma Parámetros productivos Porcentajes de componentes de la leche: Grasa, Proteína, sólidos no grasos, sólidos totales, días de lactancia, Promedio L/Día, Células somáticas, Unidades formadoras de colonias (UFC)	CGR x 10 ¹² /L Hcto % Hbg/dl CGB 10 ³ /L N% L% M% PQT / mm ³ G (%) P (%) ST*(%) SNG*(%) CCS (X1000/ml) CBT (X1000/ml) Días de Lactancia Promedio L/Día

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

9.- RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

En el presente capítulo se presentan los resultados obtenidos en la fase de investigación ante el estudio de serológico de Leucosis Enzoótica bovina y su relación con los principales parámetros productivos.

Cuadro 2. Total, de animales Seropositivos a Leucosis bovina, principales parámetros productivos y biometría hemática.

N° ID	ELISA c 2017-06-23	PUNTO DE CORTE ELISA c 2017-06-23	ELISA i 2016-07-11	PUNTO DE CORTE ELISA i 2016-07-11	EDAD	C.C.	G (%)	P (%)	ST*(%)	SNG*(%)	CCS (X1000/ml)	CBT (X1000/ml)	Días de Lactancia	Promedio L/Día
3087	POSITIVO	4,122	POSITIVO	254,74	8	3,75	3,22	3,36	12,22	9	38	12	53	29,9
809	POSITIVO	6,406	POSITIVO	263,75	8	3,5	3,91	3,21	12,87	8,96	27	72	50	17,7
919	POSITIVO	5,721	POSITIVO	296,88	7,3	3,75	2,88	4,14	12,03	9,16	138	9	578	11,4
977	POSITIVO	4,204	NEGATIVO	4,41	6,3	3,75	7,31	3,9	16,93	9,63	47	58	63	27,2
3143	POSITIVO	5,803	POSITIVO	334,07	5,9	4	2,4	3,75	12,02	9,61	29	18	63	8,6
898	POSITIVO	5,476	POSITIVO	278,26	7,6	3,75	1,52	3,13	10,31	8,78	39	22	23	36,5
932	POSITIVO	5,245	POSITIVO	265,67	7	3,75	2,45	3,65	11,91	9,46	33	27419	591	8
852	POSITIVO	3,899	POSITIVO	294,83	8,3	3,75	3,56	4,02	12,72	9,16	549	57	542	9,6
993	POSITIVO	5,461	POSITIVO	295,43	6	3,75	1,77	2,8	9,38	7,62	959	7	158	24,2
961	POSITIVO	5,87	POSITIVO	308,61	6,5	3,75	2,81	3,09	11,58	8,77	22	71	111	28,3
1979	POSITIVO	3,779	POSITIVO	272,79	7,8	3,75	4,04	3,65	12,55	8,51	142	25946	342	8,5
2114	POSITIVO	3,379	POSITIVO	218,11	5,8	3,5	2,04	3,6	11,08	9,04	102	7	400	18,1
1793	POSITIVO	6,605	POSITIVO	242,08	10	3,75	6,74	3,17	14,82	8,07	1208	28	213	25,3
1827	POSITIVO	3,223	POSITIVO	265,38	9,7	3,5	6,73	4,06	15,88	9,14	71	32	150	14,9
2163	POSITIVO	6,018	POSITIVO	274,42	5,1	3,75	3,41	3,54	11,84	3,43	4140	97	101	19,4
1975	POSITIVO	3,331	POSITIVO	281,83	7,8	3,5	3,05	3,58	11,6	8,55	1125	15	227	27,9
2045	POSITIVO	4,512	POSITIVO	259,33	6,8	3,5	2,67	2,81	11,05	8,38	30	21	71	32,8
2035	POSITIVO	5,760	POSITIVO	299,12	6,9	3,5	0,8	2,8	8,68	7,88	25	4	42	43,8
1805	POSITIVO	7,91	POSITIVO	255,1	9,9	3,75	4,35	2,96	12,36	8,01	754	9	326	22,9
2098	POSITIVO	6,723	POSITIVO	283,18	6	3,5	3,8	3,06	11,65	7,85	624	4	121	26,4

*Fuente: Directa
Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017*

Cuadro 3.

N° ID	Hemograma							
	CGR x 10 ¹² /L	Hcto %	Hbg/dl	CGB 103/L	N%	L%	M%	PQT /mm ³
3087	6,53	35,44	11,9	6,71	3,23	51,1	0,8	551
809	5,32	27,55	9,5	20,45	0,93	92,2	3,2	393
919	7,43	35,48	12,5	10,97	5,93	45	1	423
977	5,88	30,65	10,6	12,5	3,44	63,3	9,1	298
3143	7,7	42,88	14,2	7,49	3,18	54,9	2,7	474
898	6,95	37,81	12,8	8,96	6,3	28,3	1,4	355
932	6,66	32,07	11,5	8,49	4,38	45,7	2,7	367
852	8,36	40,22	14,2	10,77	6,02	43,1	1,1	471
993	7,19	31,25	11	21,54	5,07	73,7	2,7	220
961	8,92	39,33	13,7	19,97	6,07	68,2	1,4	238
1979	7,03	28,01	9,2	7,05	2,01	68,7	2,7	436
2114	7,35	32,76	11,5	17,56	2,49	81,9	4	527
1793	7,95	32,6	11	5,21	2,82	43,9	2	1068
1827	6,68	30,59	10,5	10,58	3,42	58,9	8,8	327
2163	11,69	54,2	19,2	18,07	7,4	55,3	3,8	316
1975	6,81	33,36	12	6,65	2,95	51	4,7	160
2045	5,9	28,17	9,9	6,01	1,8	68,3	1,7	975
2035	6,1	31,69	10,7	10,34	3,62	64,3	0,7	582
1805	6,77	33,4	11,5	6,61	4,26	34,1	1,5	448
2098	5,99	30,58	10,6	16,87	5,55	65,9	1,2	1115

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 1, se presenta a los animales positivos a Leucosis bovina Elisa (competitivo - indirecto), así como los parámetros productivos (Grasa, Proteína, Conteo de células somáticas, Sólidos totales, Sólidos no grasos, Días de lactancia, Promedio Litro /día) y biometría hemática (serie roja - Serie blanca) y su relación con la edad y condición corporal. Se observa que existe concordancia en el análisis de las dos pruebas Elisa respecto a los animales seropositivos.

Cuadro 4 . Total animales Seronegativos a Leucosis bovina, principales parámetros reproductivos y biometría hemática.

N° ID	ELISA c 2017-06-23	PUNTO DE CORTE ELISA c 2017-06-23	ELISA i 2016-07-11	PUNTO DE CORTE ELISA i 2016-07-11	EDAD	C,C,	G (%)	P (%)	ST*(%)	SNG*(%)	CCS (X1000/ml)	CBT (X1000/ml)	Dias de Lactancia	Promedio L/Día
701	NEGATIVO	93,088	NEGATIVO	-1,56	10,7	3,75	1,77	2,97	10,39	8,62	39	98	140	23
959	NEGATIVO	85,47	NEGATIVO	-7,43	5	3,50	11,07	2,65	19,42	8,35	66	257	50	32
463	NEGATIVO	102,857	NEGATIVO	1,25	14	3,75	7,3	3,39	16,64	9,34	72	63	46	5
1041	NEGATIVO	84,056	NEGATIVO	-7,75	5,3	3,75	3,27	3,69	12,39	9,12	645	5	28	5,8
3165	NEGATIVO	85,663	NEGATIVO	0,29	5,1	4	2,86	3,66	12,47	9,61	34	113	22	16,1
1001	NEGATIVO	93,557	NEGATIVO	0,93	5	3,50	2,82	3,18	11,52	8,7	23	23	40	35,3
1447	NEGATIVO	103,565	NEGATIVO	-3,65	14	4	2,52	2,98	10,9	8,38	186	18	319	21,9
2135	NEGATIVO	98,001	NEGATIVO	11,35	5,6	3,75	2,94	3,71	11,75	8,81	110	6	394	13,6
1998	NEGATIVO	110,703	NEGATIVO	-6,08	7,5	3,75	2,35	3,11	11,02	8,67	98	6	79	28,6
2099	NEGATIVO	98,782	NEGATIVO	-2,91	6	3,50	2,68	3,25	11,54	8,87	225	9	152	25,2
2172	NEGATIVO	107,331	NEGATIVO	-7,32	5	3,75	4,85	3,91	14,45	9,6	55	15	121	12,5
2134	NEGATIVO	100,648	NEGATIVO	-7,76	5,6	3,75	3,99	3,26	12,81	8,82	28	79	95	27,6
2175	NEGATIVO	94,203	NEGATIVO	-17,2	5	4	6,75	3,58	15,73	8,89	75	34	119	19
2057	NEGATIVO	103,755	NEGATIVO	-4,62	6,6	3,75	7,65	2,99	15,56	7,91	8,34	36	309	18,5
2051	NEGATIVO	95,858	NEGATIVO	-24,23	6,7	3,75	2,9	3,7	11,74	8,83	90	8	383	18,8
2149	NEGATIVO	101,428	NEGATIVO	-22	5,3	3,5	3,24	3,1	12,03	8,61	39	11	164	20,1
2166	NEGATIVO	99,651	NEGATIVO	-20,68	5,1	3,5	4,93	3,35	13,5	8,58	162	14	236	18,9
2096	NEGATIVO	96,916	NEGATIVO	-10,74	6,2	3,5	4,47	3,95	13,49	9,02	192	16	303	12,6
1978	NEGATIVO	176,132	NEGATIVO	37,18	7,8	3,5	2,63	2,88	10,67	8,04	60	9	139	31,7
2033	NEGATIVO	91,733	NEGATIVO	-18,11	6,9	3,5	4,91	4,22	14,41	9,5	307	6	298	8,3

*Fuente: Directa**Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017*

Cuadro 2.

N° ID	Hemograma							
	CGR x 10 ¹² /L	Hcto %	Hbg/dl	CGB 103/L	N%	L%	M%	PQT /mm ³
701	6,33	41,58	14,3	7,19	3,83	41,9	4,9	690
959	6,21	33,13	11,7	5,93	2,09	64	0,8	505
463	7,75	35,78	12,6	7,19	5,46	20,9	3,2	102
1041	7,23	32,74	11,4	4,74	1,9	55	4,8	405
3165	6,98	36,86	12,4	5,86	4,06	29,7	1,1	474
1001	6,85	32,85	11,5	8,67	3,85	49,4	6,1	687
1447	6,22	29,54	10,5	7,03	3,95	41,5	2,3	539
2135	7,16	32,24	11,5	11,14	5,39	48,3	3,3	599
1998	9,33	42,41	14,7	18,39	7,15	52,3	8,8	255
2099	7,41	32	11,1	8,45	4,47	45	2,1	440
2172	8,14	34,44	12,5	9,31	3,77	50,8	8,7	541
2134	6,69	29,58	10,5	9,57	5,12	41,4	5,1	537
2175	7,39	30,18	10,7	6,99	3,08	53,7	2,2	475
2057	6,9	30,55	10,7	8,48	4,25	42,5	7,5	997
2051	7,33	33,6	11,7	9,28	3,38	62,1	1,4	299
2149	8,5	38,83	13,5	8,49	4,06	42,9	9,3	648
2166	3,42	14,58	5,2	1,53	0,67	53,6	2,7	84
2096	5,98	27,87	9,7	7,29	3,26	45,5	9,8	354
1978	6,8	30,63	10,5	4,92	2,09	55,8	1,8	214
2033	6,85	34,19	11,5	10,94	3,88	55,2	9,3	116

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 2, se presenta a los animales negativos a Leucosis bovina Elisa (competitivo - indirecto), así como los parámetros productivos (Grasa, Proteína, Conteo de células somáticas, Solidos totales, Solidos no grasos, Días de lactancia, Promedio Litro /día) y biometría hemática (serie roja - Serie blanca) y su relación con la edad y condición corporal. Se observa que existe concordancia en el análisis de las dos pruebas Elisa respecto a los animales seronegativos.

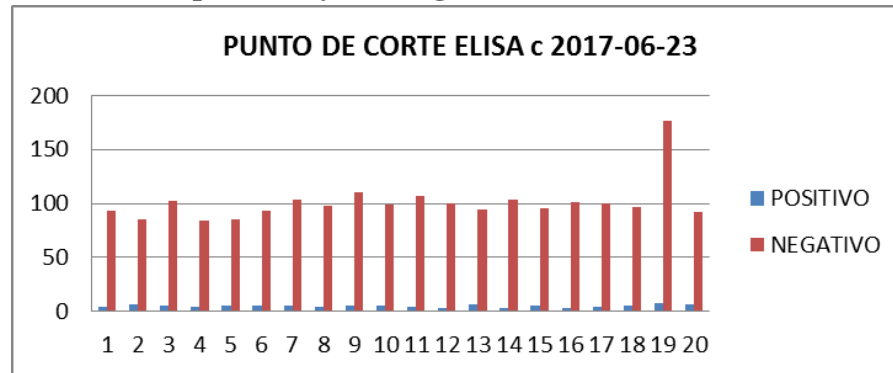
Cuadro 3. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina (punto de corte) en relación a la prueba Elisa competitiva

PUNTO DE CORTE ELISA c 2017-06-23			
NEG= ≤ 90 SOSP= > 90 - < 100 POS= ≥100			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	4,122	701	93,088
809	6,406	959	85,47
919	5,721	463	102,857
977	4,204	1041	84,056
3143	5,803	3165	85,663
898	5,476	1001	93,557
932	5,245	1447	103,565
852	3,899	2135	98,001
993	5,461	1998	110,703
961	5,87	2099	98,782
1979	3,779	2172	107,331
2114	3,379	2134	100,648
1793	6,605	2175	94,203
1827	3,223	2057	103,755
2163	6,018	2051	95,858
1975	3,331	2149	101,428
2045	4,512	2166	99,651
2035	5,760	2096	96,916
1805	7,91	1978	176,132
2098	6,723	2033	91,733

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 3, se observa los animales positivos a la prueba Elisa competitiva (leucosis) en relación al punto de corte (<60 P, >60 N) que la prueba determina positivos, negativos y sospechosos.

Gráfico 1. Animales seropositivos y seronegativos Elisa leucosis

Fuente: Directa

Elaborado por: Barrera, Santiago, 2017

En el gráfico 1, se esquematiza el punto de corte de Elisa (competitivo) de los animales positivos a leucosis bovina.

Tabla 1. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos Elisa competitivo.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	5,17235	101,16985
Varianza	1,702463818	361,5171391
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,342146919	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-23,07195006	
P(T<=t) una cola	1,16832E-15	
Valor crítico de t (una cola)	1,729132812	
P(T<=t) dos colas	2,33665E-15	
Valor crítico de t (dos colas)	2,093024054	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 1, se presenta el análisis de los puntos de corte de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina (Elisa competitivo) de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el p - valor es de 2,33665E-15 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica muy amplia en relación a los medios determinados por los rangos estimados de la prueba Elisa.

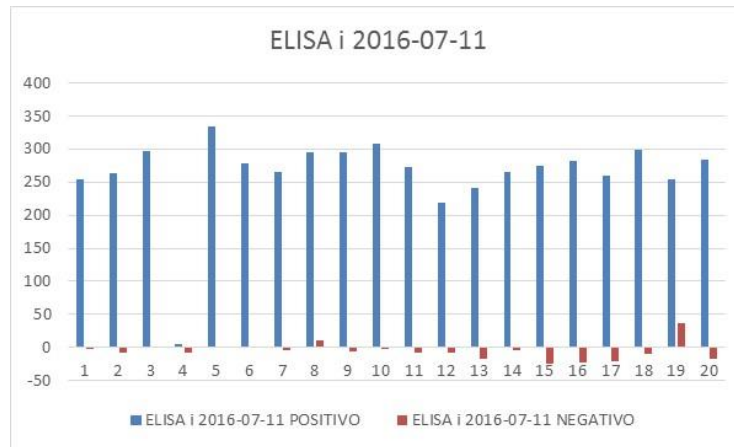
Cuadro 5. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina (punto de corte) en relación a la prueba Elisa indirecto

ELISA i 2016-07-11			
NEG= ≤ 60 POSI= > 60			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	254,74	701	-1,56
809	263,75	959	-7,43
919	296,88	463	1,25
977	4,41	1041	-7,75
3143	334,07	3165	0,29
898	278,26	1001	0,93
932	265,67	1447	-3,65
852	294,83	2135	11,35
993	295,43	1998	-6,08
961	308,61	2099	-2,91
1979	272,79	2172	-7,32
2114	218,11	2134	-7,76
1793	242,08	2175	-17,2
1827	265,38	2057	-4,62
2163	274,42	2051	-24,23
1975	281,83	2149	-22
2045	259,33	2166	-20,68
2035	299,12	2096	-10,74
1805	255,1	1978	37,18
2098	283,18	2033	-18,11

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 4, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa indirecto (leucosis) en relación al punto de corte (> 90 P, < 90 N) que la prueba determina positivos, negativos y sospechosos.

Gráfico 2. Animales seropositivos y seronegativos Elisa leucosis

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 2, se esquematiza los puntos de corte de Elisa (indirecto) de los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a la prueba Elisa indirecto.

Tabla 2. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos Elisa indirecto.

	Variable 1	Variable 2
Media	262,3995	-5,552
Varianza	4333,7529	181,40577
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,0597638	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	18,046474	
P(T<=t) una cola	1,023E-13	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	2,045E-13	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 2, se presenta el análisis de los puntos de corte de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina (Elisa indirecto) de los animales en estudio, se observa que no

existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 2,04517E-13 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica muy amplia en relación a las medias.

Cuadro 6. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la edad

EIDADES			
N° Animal	POSITIVAS	N° Animal	NEGATIVAS
3087	8	701	10,7
809	8	959	5
919	7,3	463	14
977	6,3	1041	5,3
3143	5,9	3165	5,1
898	7,6	1001	5
932	7	1447	14
852	8,3	2135	5,6
993	6	1998	7,5
961	6,5	2099	6
1979	7,8	2172	5
2114	5,8	2134	5,6
1793	10	2175	5
1827	9,7	2057	6,6
2163	5,1	2051	6,7
1975	7,8	2149	5,3
2045	6,8	2166	5,1
2035	6,9	2096	6,2
1805	9,9	1978	7,8
2098	6	2033	6,9

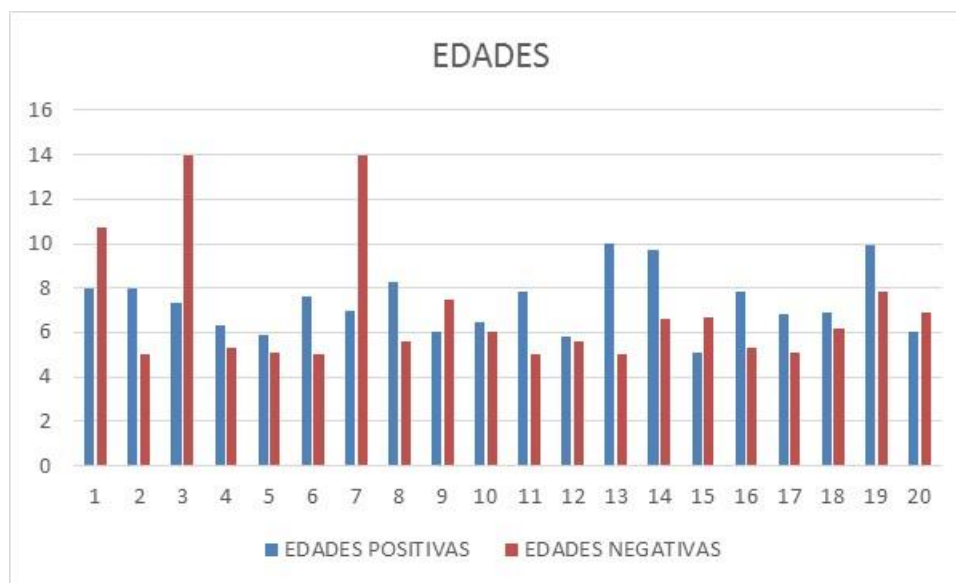
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 5, se presenta los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a las edades.

Se toma como referencia a Caldaid, 2012 el rango de referencia dice que entre las edades de 4 y 13 años los animales que están infectados, antes de los 4 años los animales poseen anticuerpos maternos y a los 13 años es el tiempo promedio en el que las hembras terminan su periodo productivo.

Gráfico 3. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a las Edades.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 3, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a las edades; sin embargo, la gráfica demuestra que las diferencias entre edades son mínimas estableciendo un rango de edad de 5 a 14 años.

Tabla 3. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Edades

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,335	6,92
Varianza	1,9434474	7,7511579
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,004258	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,5950575	
P(T<=t) una cola	0,2794131	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,5588262	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 3, se presenta el análisis de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a las edades de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,558826223 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, existe diferencia numérica leve en relación a las medias.

En 1997 Poblete S, Andrea José Chillan realizaron un estudio de Leucosis enzoótica relacionado a la edad, no observándose diferencias estadísticamente significativas entre los predios. De los resultados obtenidos se puede concluir, que la mayor incidencia se presenta en animales adultos

Cuadro 7. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la condición corporal.

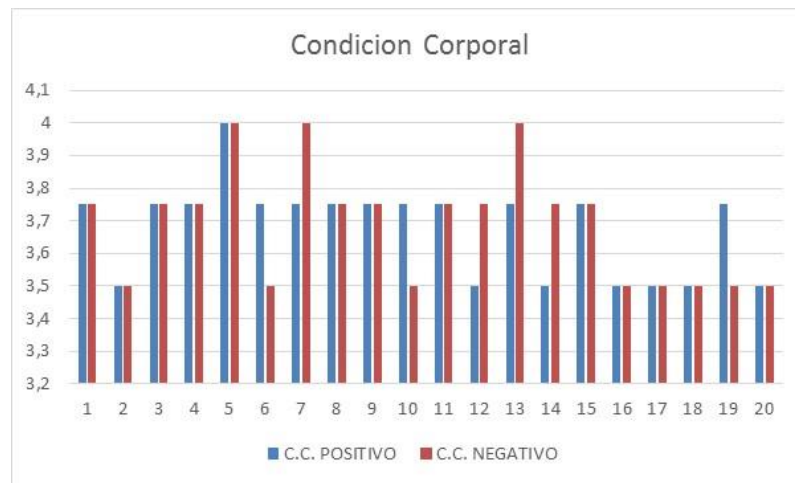
C.C.			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	3,75	701	3,75
809	3,5	959	3,5
919	3,75	463	3,75
977	3,75	1041	3,75
3143	4	3165	4
898	3,75	1001	3,5
932	3,75	1447	4
852	3,75	2135	3,75
993	3,75	1998	3,75
961	3,75	2099	3,5
1979	3,75	2172	3,75
2114	3,5	2134	3,75
1793	3,75	2175	4
1827	3,5	2057	3,75
2163	3,75	2051	3,75
1975	3,5	2149	3,5
2045	3,5	2166	3,5
2035	3,5	2096	3,5
1805	3,75	1978	3,5
2098	3,5	2033	3,5

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 6, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a la Condición Corporal.

Gráfico 4. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a la Condición Corporal.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 4, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a la Condición Corporal. Determinando homogeneidad que no existen diferencias.

Tabla 4. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Condición Corporal

	Variable 1	Variable 2
Media	3,675	3,6875
Varianza	0,0203947	0,0320724
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,5787811	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-0,369717	
P(T<=t) una cola	0,3578411	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,7156821	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 4, se presenta el análisis de la condición corporal de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya

que el valor de p es 0,715682108 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se existe una diferencia numérica insignificante en relación a las medias.

Según Palma, 2011 nn algunos casos la presencia de linfoma con incremento en el número de leucocitos en sangre periférica (linfoma leucémico). Los animales con LP no tienen anomalías clínicas, no pierden peso, no disminuyen la producción láctea y se reproducen normalmente. LP no es una forma subclínica de linfoma, es una respuesta distinta, a la infección por este virus, donde la constitución genética juega un rol importante.

Cuadro 8. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la grasa de la leche.

G (%)			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	3,22	701	1,77
809	3,91	959	11,07
919	2,88	463	7,3
977	7,31	1041	3,27
3143	2,4	3165	2,86
898	1,52	1001	2,82
932	2,45	1447	2,52
852	3,56	2135	2,94
993	1,77	1998	2,35
961	2,81	2099	2,68
1979	4,04	2172	4,85
2114	2,04	2134	3,99
1793	6,74	2175	6,75
1827	6,73	2057	7,65
2163	3,41	2051	2,9
1975	3,05	2149	3,24
2045	2,67	2166	4,93
2035	0,8	2096	4,47
1805	4,35	1978	2,63
2098	3,8	2033	4,91

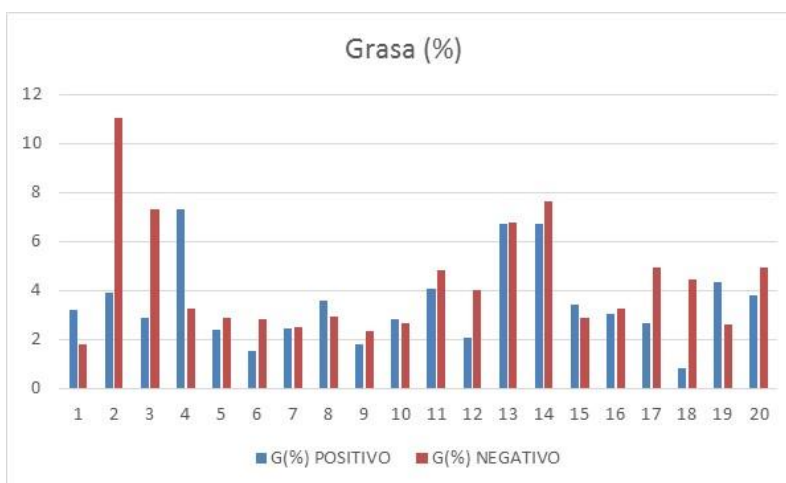
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 7, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a la grasa de la leche.

El rango normal de grasa expresado en % fracción de masa es de 3% en la leche cruda. Debido al manejo de cada explotación donde difiere la alimentación, el manejo, la sanidad y el bienestar animal sumado a las condiciones medioambientales que hacen de cada explotación un universo diferente.

Gráfico 5. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al porcentaje de grasa.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 5, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al % de grasa.

Tabla 5. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Grasa

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	3,473	4,295
Varianza	3,0101905	5,3840579
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,344919	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-1,5510675	
P(T<=t) una cola	0,0686915	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,1373831	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 5, se presenta el análisis de la grasa de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,1373831 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Cuadro 9. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al % de proteína.

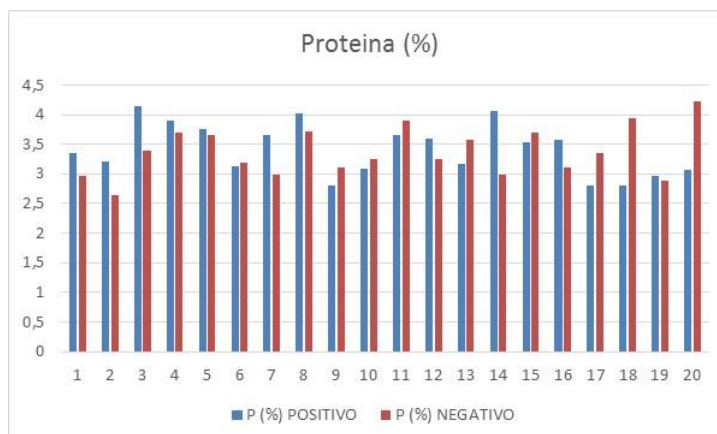
P (%)			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	3,36	701	2,97
809	3,21	959	2,65
919	4,14	463	3,39
977	3,9	1041	3,69
3143	3,75	3165	3,66
898	3,13	1001	3,18
932	3,65	1447	2,98
852	4,02	2135	3,71
993	2,8	1998	3,11
961	3,09	2099	3,25
1979	3,65	2172	3,91
2114	3,6	2134	3,26
1793	3,17	2175	3,58
1827	4,06	2057	2,99
2163	3,54	2051	3,7
1975	3,58	2149	3,1
2045	2,81	2166	3,35
2035	2,8	2096	3,95
1805	2,96	1978	2,88
2098	3,06	2033	4,22

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 8, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación al % de proteína.

Gráfico 6. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al % de proteína.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 6, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al % de proteína.

Tabla 6. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos -% proteína

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	3,414	3,3765
Varianza	0,1889516	0,1696661
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,0549628	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,2880632	
P(T<=t) una cola	0,3882086	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,7764172	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 6, se presenta el % de proteína de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,7764172 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias. El rango normal de proteína expresado en % fracción de masa es de 2.9% en la leche cruda.

El rango normal de proteína expresado en % fracción de masa es de 2.9% en la leche cruda.

Cuadro 10. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al % de Sólidos Totales.

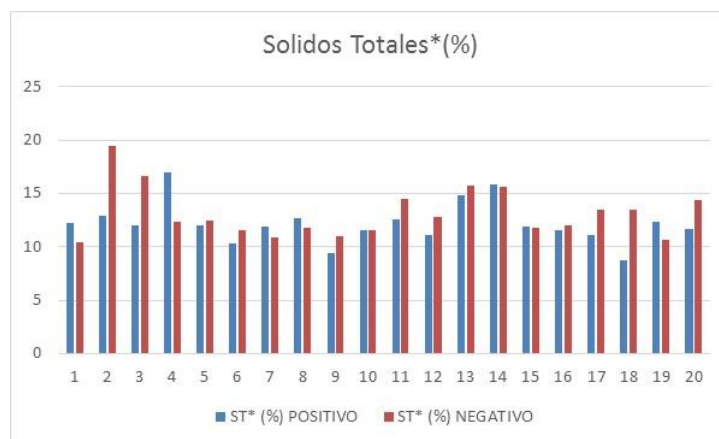
ST* (%)			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	12,22	701	10,39
809	12,87	959	19,42
919	12,03	463	16,64
977	16,93	1041	12,39
3143	12,02	3165	12,47
898	10,31	1001	11,52
932	11,91	1447	10,9
852	12,72	2135	11,75
993	9,38	1998	11,02
961	11,58	2099	11,54
1979	12,55	2172	14,45
2114	11,08	2134	12,81
1793	14,82	2175	15,73
1827	15,88	2057	15,56
2163	11,84	2051	11,74
1975	11,6	2149	12,03
2045	11,05	2166	13,5
2035	8,68	2096	13,49
1805	12,36	1978	10,67
2098	11,65	2033	14,41

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 9, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación al % de sólidos totales

Gráfico 7. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al % de solidos totales.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el grafico 7, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al % de solidos totales

Tabla 7. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - % solios totales.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	12,174	13,1215
Varianza	3,7604042	5,3911292
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,2925823	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-1,6598801	
P(T<=t) una cola	0,0566767	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,1133535	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 7, se presenta el análisis del % de los sólidos totales de la leche de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe

diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,1133535 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

El rango normal de solidos totales expresado en % fracción de masa es de 11.2% en la leche cruda.

Cuadro 11. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al % de los sólidos no grasos de la leche

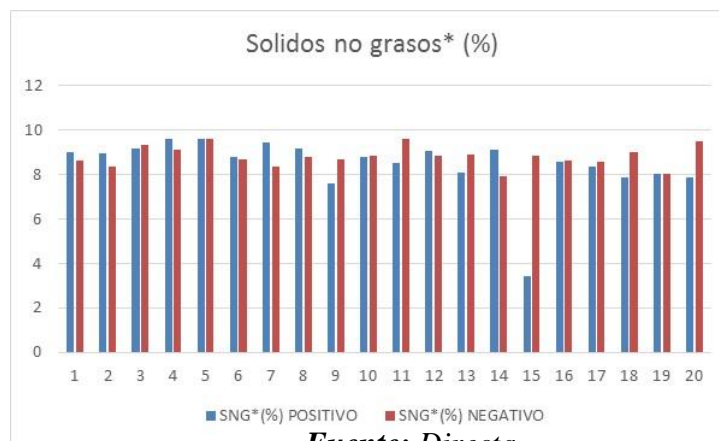
SNG*(%)			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	9	701	8,62
809	8,96	959	8,35
919	9,16	463	9,34
977	9,63	1041	9,12
3143	9,61	3165	9,61
898	8,78	1001	8,7
932	9,46	1447	8,38
852	9,16	2135	8,81
993	7,62	1998	8,67
961	8,77	2099	8,87
1979	8,51	2172	9,6
2114	9,04	2134	8,82
1793	8,07	2175	8,89
1827	9,14	2057	7,91
2163	3,43	2051	8,83
1975	8,55	2149	8,61
2045	8,38	2166	8,58
2035	7,88	2096	9,02
1805	8,01	1978	8,04
2098	7,85	2033	9,5

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 10, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación al % de solidos no grasos.

Gráfico 8. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al % de solidos no grasos.



Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 8, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al % de solidos no grasos.

Tabla 8. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - % Solidos no grasos.

	Variable 1	Variable 2
Media	8,4505	8,8135
Varianza	1,7523734	0,2174555
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,0083952	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-1,1597195	
P(T<=t) una cola	0,1302649	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,2605298	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 8, se presenta el análisis del % de sólidos no grasos de la leche de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,2605298 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

El rango normal de sólidos no grasos expresado en % fracción de masa es de 8.2% en la leche cruda.

Cuadro 12. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al conteo de células somáticas (X1000/ml) de la leche.

CCS (X1000/ml)			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	38	701	39
809	27	959	66
919	138	463	72
977	47	1041	645
3143	29	3165	34
898	39	1001	23
932	33	1447	186
852	549	2135	110
993	959	1998	98
961	22	2099	225
1979	142	2172	55
2114	102	2134	28
1793	1208	2175	75
1827	71	2057	8,34
2163	4140	2051	90
1975	1125	2149	39
2045	30	2166	162
2035	25	2096	192
1805	754	1978	60
2098	624	2033	307

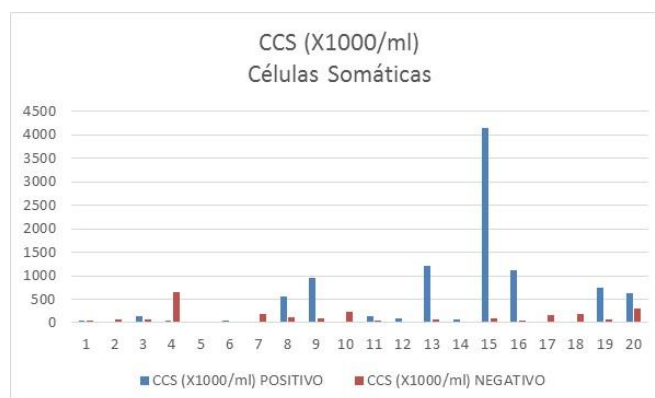
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 11, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación conteo de células somáticas (X1000/ml) de la leche.

El rango normal de leucocitos y células de descamación expresado en notación decimal es $< 5 \times 10^5$; es decir < 50.000 células somáticas en la leche cruda.

Gráfico 9. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al conteo de células somáticas (X1000/ml) de la leche.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 9, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al conteo de células somáticas (X1000/ml) de la leche.

Tabla 9. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Conteo de Células somáticas (X1000/ml) de la leche.

	Variable 1	Variable 2
Media	505,1	125,717
Varianza	895023,0421	21035,9091
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,112898734	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	1,743445453	
P(T<=t) una cola	0,04870779	
Valor crítico de t (una cola)	1,729132812	
P(T<=t) dos colas	0,09741558	
Valor crítico de t (dos colas)	2,093024054	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 9, se presenta el análisis del % de células somáticas de la leche de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,0974156 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Según Kahn 2007 la presencia de antígenos, desencadena una respuesta inmunológica; la estructura del tejido galactopoyetico sufre descamación celular como mecanismo de defensa, en esta descamación van linfocitos y macrófagos que llevan en su núcleo el ADN proviral.

Cuadro 13. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.

CBT (X1000/ml)			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	12	701	98
809	72	959	257
919	9	463	63
977	58	1041	5
3143	18	3165	113
898	22	1001	23
932	27419	1447	18
852	57	2135	6
993	7	1998	6
961	71	2099	9
1979	25946	2172	15
2114	7	2134	79
1793	28	2175	34
1827	32	2057	36
2163	97	2051	8
1975	15	2149	11
2045	21	2166	14
2035	4	2096	16
1805	9	1978	9
2098	4	2033	6

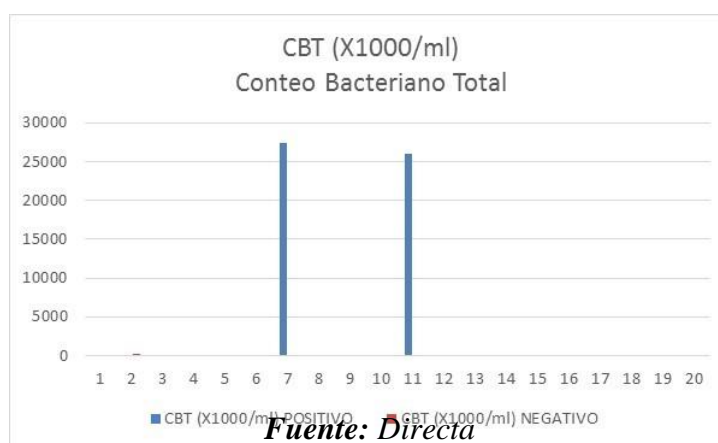
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 12, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación con el conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.

El conteo bacteriano determina el número de microorganismos presentes en la leche, expresados en UFC x ml⁻¹; es decir su rango normal es de 1000 a 9000 UFC x ml⁻¹ en la leche cruda.

Gráfico 10. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 10, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.

Tabla 10. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – conteo bacteriano total (X1000/ml) de la leche.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	2695,4	41,3
Varianza	67353833	3630,5368
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,1400145	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	1,4447525	
P(T<=t) una cola	0,082409	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,164818	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 10, se presenta el análisis del conteo bacteriano total de la leche de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,164818 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Según Kahn 2007 el efecto del virus es altamente significativo en la producción de leche, debido a la inmunosupresión causada por el virus, la glándula mamaria se hace susceptible a la colonización de microorganismos que ocasionan procesos infecciosos.

Cuadro 14. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los días de lactancia

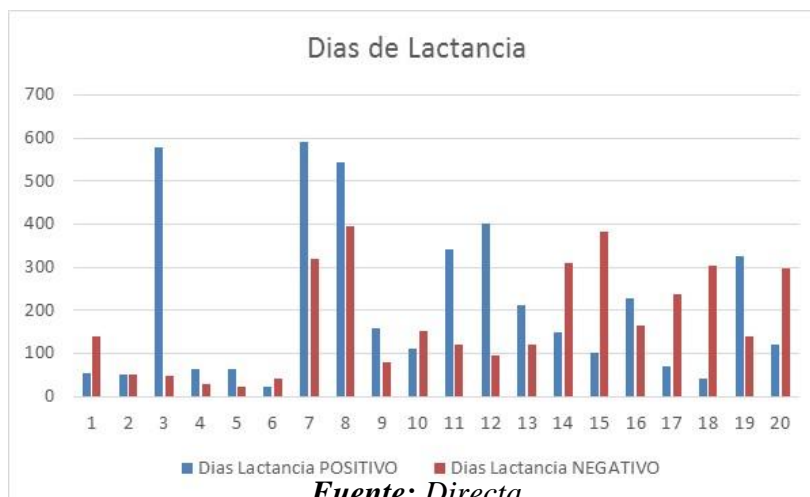
Días Lactancia			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	53	701	140
809	50	959	50
919	578	463	46
977	63	1041	28
3143	63	3165	22
898	23	1001	40
932	591	1447	319
852	542	2135	394
993	158	1998	79
961	111	2099	152
1979	342	2172	121
2114	400	2134	95
1793	213	2175	119
1827	150	2057	309
2163	101	2051	383
1975	227	2149	164
2045	71	2166	236
2035	42	2096	303
1805	326	1978	139
2098	121	2033	298

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 13, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a los días de lactancia.

Gráfico 11. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los días de lactancia.



Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 11, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a los días de lactancia.

Tabla 11. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Días de lactancia

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	211,25	171,85
Varianza	35260,197	15015,818
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,1916483	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,8653975	
P(T<=t) una cola	0,1988082	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,3976164	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 11, se presenta el análisis de los días de lactancia de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia

estadística significativa, ya que el valor de p es 0,3976164 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Cadavid 2012 dice en su investigación que el virus tuvo un efecto altamente significativo sobre la producción de leche con una diferencia de 251 kg/lactancia menos los Positivos Sintomáticos respecto a los Negativos, este descenso en la producción representa el 5% siendo superior a lo afirmado por la (OIE 2004) que reporta una disminución en la producción de leche de 2,5 a 3%.

Cuadro 15. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al Promedio L/Día.

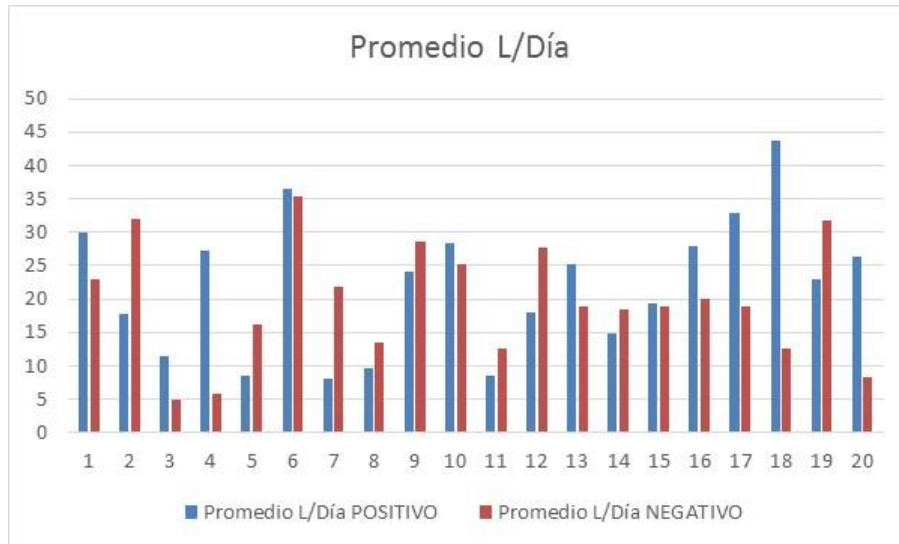
Promedio L/Día			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	29,9	701	23
809	17,7	959	32
919	11,4	463	5
977	27,2	1041	5,8
3143	8,6	3165	16,1
898	36,5	1001	35,3
932	8	1447	21,9
852	9,6	2135	13,6
993	24,2	1998	28,6
961	28,3	2099	25,2
1979	8,5	2172	12,5
2114	18,1	2134	27,6
1793	25,3	2175	19
1827	14,9	2057	18,5
2163	19,4	2051	18,8
1975	27,9	2149	20,1
2045	32,8	2166	18,9
2035	43,8	2096	12,6
1805	22,9	1978	31,7
2098	26,4	2033	8,3

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 14, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación al Promedia L/Día.

Gráfico 12. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Promedio L/Día.



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 12, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al promedio L/Día.

Tabla 12. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos – Promedio L/Día.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	22,07	19,725
Varianza	100,878	74,813553
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,1846086	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,8750966	
P(T<=t) una cola	0,1962248	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,3924497	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 12, se presenta el análisis de promedio L/Día de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia

estadística significativa, ya que el valor de p es 0,3924497 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Según Báez, 2002 la disminución en la producción se debe a que, el tejido epitelial de la glándula mamaria baja o detiene su producción por la injuria y proceso inflamatorio, generando pérdidas económicas por disminución en la producción y baja de la calidad del producto entregado.

Cuadro 16. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x 10¹²/L)

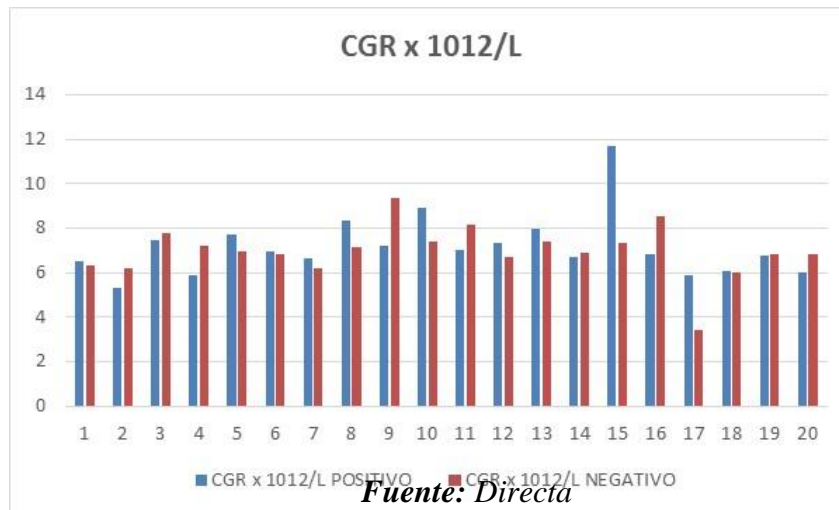
CGR x 10 ¹² /L			
Nº Animal	POSITIVO	Nº Animal	NEGATIVO
3087	6,53	701	6,33
809	5,32	959	6,21
919	7,43	463	7,75
977	5,88	1041	7,23
3143	7,7	3165	6,98
898	6,95	1001	6,85
932	6,66	1447	6,22
852	8,36	2135	7,16
993	7,19	1998	9,33
961	8,92	2099	7,41
1979	7,03	2172	8,14
2114	7,35	2134	6,69
1793	7,95	2175	7,39
1827	6,68	2057	6,9
2163	11,69	2051	7,33
1975	6,81	2149	8,5
2045	5,9	2166	3,42
2035	6,1	2096	5,98
1805	6,77	1978	6,8
2098	5,99	2033	6,85

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 15, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación al Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x 10¹²/L). El rango normal en notación científica es de 5 a 10 x 10¹²/L.

Gráfico 13. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x1012/L).



Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 13, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x1012/L)

Tabla 13. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x1012/L)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7,1605	6,9735
Varianza	1,9158471	1,3560134
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,3311967	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,5632873	
P(T<=t) una cola	0,2899134	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,5798268	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 13, se presenta el análisis del Contaje de Glóbulos Rojos (CGR x1012/L) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,579826839 siendo mayor

que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Bautista, 2013 Al correlacionar los resultados con los cuadros hemáticos, tanto animales positivos como negativos presentaron variaciones similares a nivel serológico, y ningún signo o síntoma que indicara presencia de la enfermedad. Según estudios realizados, hay animales que resultan serológicamente positivos, pero clínicamente sanos y sin modificaciones en su hemograma.

Cuadro 17. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al Hematocrito (Hcto%)

Hcto %			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	35,44	701	41,58
809	27,55	959	33,13
919	35,48	463	35,78
977	30,65	1041	32,74
3143	42,88	3165	36,86
898	37,81	1001	32,85
932	32,07	1447	29,54
852	40,22	2135	32,24
993	31,25	1998	42,41
961	39,33	2099	32
1979	28,01	2172	34,44
2114	32,76	2134	29,58
1793	32,6	2175	30,18
1827	30,59	2057	30,55
2163	54,2	2051	33,6
1975	33,36	2149	38,83
2045	28,17	2166	14,58
2035	31,69	2096	27,87
1805	33,4	1978	30,63
2098	30,58	2033	34,19

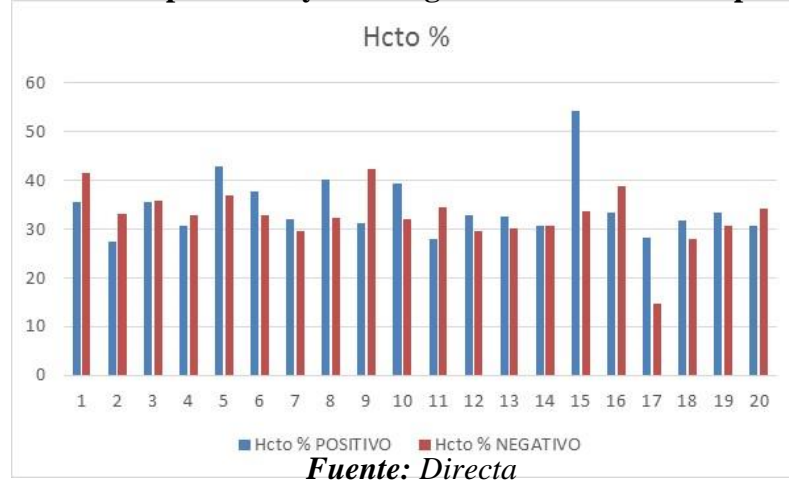
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 16, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a Hematocrito (Hcto%).

Es la proporción entre el volumen de eritrocitos y de plasma sanguíneo, su rango normal es de 24 a 46%, es decir en unidades S.I. $\times 10^{-2}$.

Gráfico 14. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Hematocrito (Hcto%)



Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 14, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al Hematocrito (Hcto%).

Tabla 14 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Hematocrito (Hcto%)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	34,402	32,679
Varianza	38,760469	33,216209
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,2294531	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	1,0342197	
P(T<=t) una cola	0,1570093	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,3140185	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 14, se presenta el análisis del Hematocrito (Hcto%) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,31401854 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Cuadro 18. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a la Hemoglobina (Hbg/dl)

Hbg/dl			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	11,9	701	14,3
809	9,5	959	11,7
919	12,5	463	12,6
977	10,6	1041	11,4
3143	14,2	3165	12,4
898	12,8	1001	11,5
932	11,5	1447	10,5
852	14,2	2135	11,5
993	11	1998	14,7
961	13,7	2099	11,1
1979	9,2	2172	12,5
2114	11,5	2134	10,5
1793	11	2175	10,7
1827	10,5	2057	10,7
2163	19,2	2051	11,7
1975	12	2149	13,5
2045	9,9	2166	5,2
2035	10,7	2096	9,7
1805	11,5	1978	10,5
2098	10,6	2033	11,5

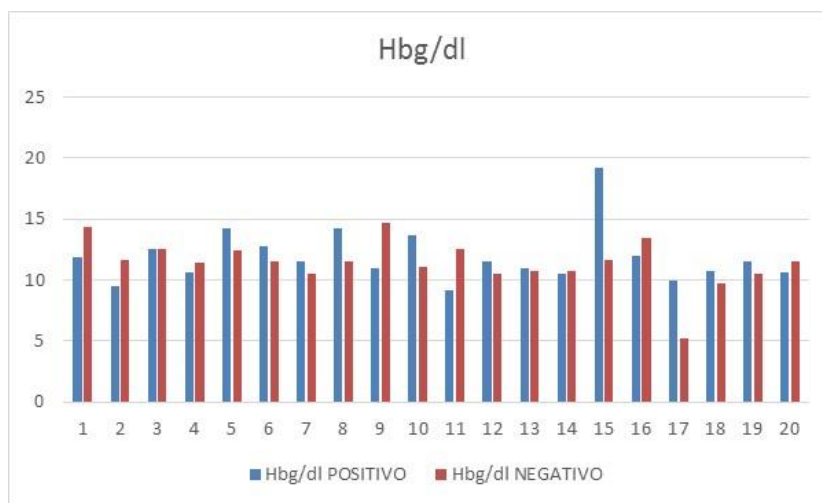
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 17, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a Hemoglobina (Hbg/dl).

El rango normal de la hemoglobina en el bovino expresado en U.I. es de 8 a 15 x 10 g/l

Gráfico 15. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a la Hemoglobina (Hb_g/dl)



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 15, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a la Hemoglobina (Hb_g/dl)

Tabla 15. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Hemoglobina (Hb_g/dl)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	11,9	11,41
Varianza	4,9589474	3,8104211
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	0,1881552	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,8204599	
P(T<=t) una cola	0,2110643	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,4221287	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 15, se presenta el análisis de la Hemoglobina (Hb_{gg}/dl) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,422128665 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias

Cuadro 19. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación al conteo de Glóbulos Blancos (CGB 10³/L)

CGB 10 ³ /L			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	6,71	701	7,19
809	20,45	959	5,93
919	10,97	463	7,19
977	12,5	1041	4,74
3143	7,49	3165	5,86
898	8,96	1001	8,67
932	8,49	1447	7,03
852	10,77	2135	11,14
993	21,54	1998	18,39
961	19,97	2099	8,45
1979	7,05	2172	9,31
2114	17,56	2134	9,57
1793	5,21	2175	6,99
1827	10,58	2057	8,48
2163	18,07	2051	9,28
1975	6,65	2149	8,49
2045	6,01	2166	1,53
2035	10,34	2096	7,29
1805	6,61	1978	4,92
2098	16,87	2033	10,94

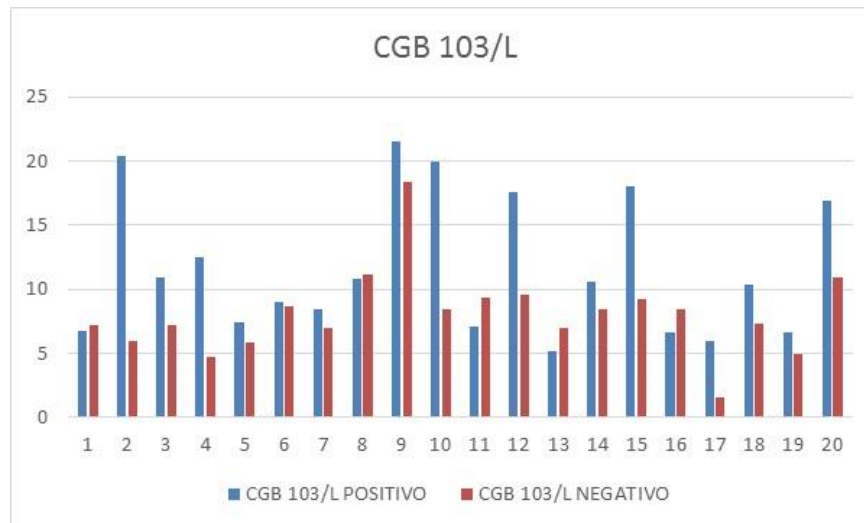
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 18, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación al Contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10³/L).

Pertencen las células sin lóbulos o mononucleares que forman parte los Leucocitos y Monocitos, como también las células polimorfo nucleares como los neutrófilos, basófilos y eosinófilos.

Gráfico 16. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto al Contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10³/L).



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 16, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación al Contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10³/L).

Tabla 16. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Contaje de Glóbulos Blancos (CGB 10³ L)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	11,64	8,0695
Varianza	29,287442	10,942984
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,5314942	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	3,4679353	
P(T<=t) una cola	0,001288	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,0025761	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 16, se presenta el análisis de los Contaje de Glóbulos Blancos (CGB $10^3/L$) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,002576052 siendo menor que p-valor $>0,05$. A demás se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Báez, 2002 dice que la presencia de células leucocitarias incrementa el recuento de células somáticas, bajando su calidad para el mercadeo; la disminución en la producción se debe que, el tejido epitelial de la glándula mamaria baja o detiene su producción por la injuria y proceso inflamatorio, generando pérdidas económicas por disminución en la producción y baja de la calidad del producto.

Cuadro 20. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los Neutrófilos (N%)

N%			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	3,23	701	3,83
809	0,93	959	2,09
919	5,93	463	5,46
977	3,44	1041	1,9
3143	3,18	3165	4,06
898	6,3	1001	3,85
932	4,38	1447	3,95
852	6,02	2135	5,39
993	5,07	1998	7,15
961	6,07	2099	4,47
1979	2,01	2172	3,77
2114	2,49	2134	5,12
1793	2,82	2175	3,08
1827	3,42	2057	4,25
2163	7,4	2051	3,38
1975	2,95	2149	4,06
2045	1,8	2166	0,67
2035	3,62	2096	3,26
1805	4,26	1978	2,09
2098	5,55	2033	3,88

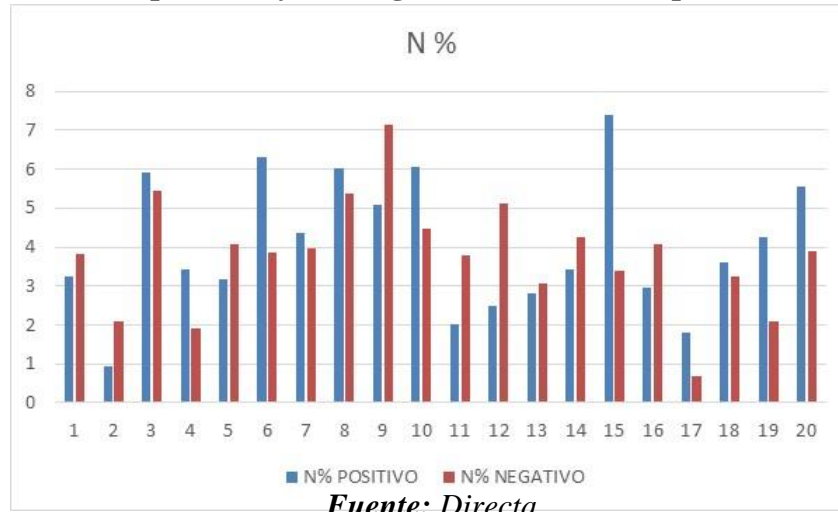
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 19, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a los Neutrófilos (N%).

El rango normal de Neutofilos es de 15 a 45%.

Gráfico 17 Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los Neutrófilos (N%)



Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 17, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a los Neutrófilos (N%)

Tabla 17. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Neutrófilos (N%)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	4,0435	3,7855
Varianza	3,0379713	2,0687208
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,4487285	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,6826415	
P(T<=t) una cola	0,2515361	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,5030723	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 17, se presenta el análisis de los Neutrófilos (N%) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,503072279 siendo mayor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Cuadro 21. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los Linfocitos (L%)

L%			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	51,1	701	41,9
809	92,2	959	64
919	45	463	20,9
977	63,3	1041	55
3143	54,9	3165	29,7
898	28,3	1001	49,4
932	45,7	1447	41,5
852	43,1	2135	48,3
993	73,7	1998	52,3
961	68,2	2099	45
1979	68,7	2172	50,8
2114	81,9	2134	41,4
1793	43,9	2175	53,7
1827	58,9	2057	42,5
2163	55,3	2051	62,1
1975	51	2149	42,9
2045	68,3	2166	53,6
2035	64,3	2096	45,5
1805	34,1	1978	55,8
2098	65,9	2033	55,2

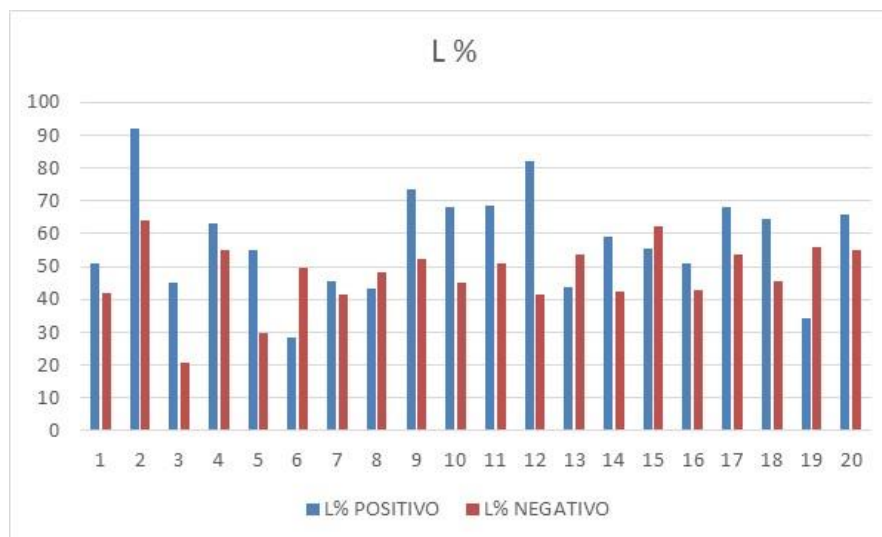
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 20, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a los Linfocitos (L%).

El rango normal de los linfocitos en la sangre es de 45 a 75%.

Gráfico 18 Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los Linfocitos (L%)



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 18, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a los Linfocitos (L%). Se observa diferencia en los valores.

Tabla 18. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Linfocitos (L%)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	57,89	47,575
Varianza	250,03358	103,62829
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,2623003	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	2,8114608	
P(T<=t) una cola	0,0055709	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,0111418	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 18, se presenta el análisis de los Linfocitos (L%) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,01114185 siendo menor que p-valor >0,05. Además, se observa que existe una diferencia numérica relativa en relación a las medias.

Según Coffin 1959 El aumento de los linfocitos en la sangre circulante recibe el nombre de linfocitosis. Este cuadro no es raro en los animales domésticos. En ocasiones una reducción de la cifra de neutrófilos (neutropenia), sin descenso correspondiente en los linfocitos, puede simular una linfocitosis.

Cuadro 22. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a los Monocitos (M%)

M %			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	0,8	701	4,9
809	3,2	959	0,8
919	1	463	3,2
977	9,1	1041	4,8
3143	2,7	3165	1,1
898	1,4	1001	6,1
932	2,7	1447	2,3
852	1,1	2135	3,3
993	2,7	1998	8,8
961	1,4	2099	2,1
1979	2,7	2172	8,7
2114	4	2134	5,1
1793	2	2175	2,2
1827	8,8	2057	7,5
2163	3,8	2051	1,4
1975	4,7	2149	9,3
2045	1,7	2166	2,7
2035	0,7	2096	9,8
1805	1,5	1978	1,8
2098	1,2	2033	9,3

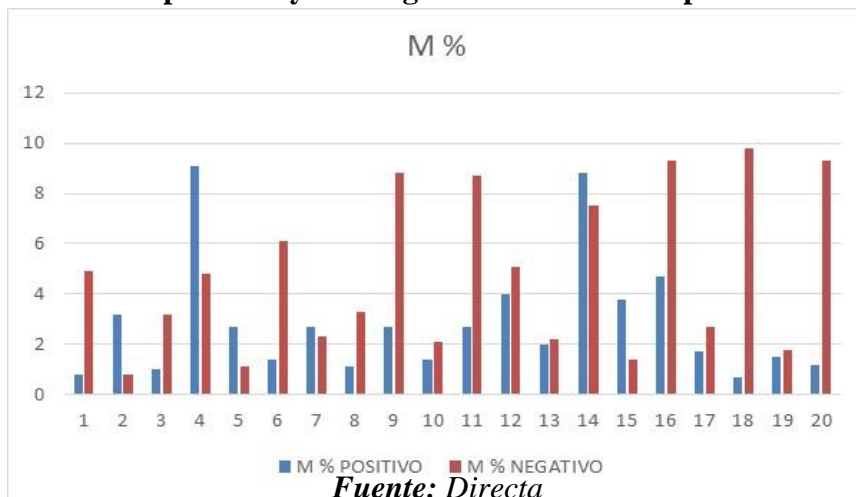
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 21, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a los Monocitos (M%).

EL rango normal de los monocitos en la sangre es de 2 a 7%.

Gráfico 19. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a los Monocitos (M%)



Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 19, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a los Monocitos (M%).

Tabla 19. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Monocitos (M%)

	Variable 1	Variable 2
Media	2,86	4,76
Varianza	5,6014737	9,7646316
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0,1264462	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-2,3129671	
P(T<=t) una cola	0,0160438	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,0320876	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 19, se presenta el análisis de los Monocitos (M%) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,032087606 siendo menor que p-valor >0,05. Además, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

Cuadro 23. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina en relación a las Plaquetas (PQT /mm³)

PQT /mm ³			
N° Animal	POSITIVO	N° Animal	NEGATIVO
3087	551	701	690
809	393	959	505
919	423	463	102
977	298	1041	405
3143	474	3165	474
898	355	1001	687
932	367	1447	539
852	471	2135	599
993	220	1998	255
961	238	2099	440
1979	436	2172	541
2114	527	2134	537
1793	1068	2175	475
1827	327	2057	997
2163	316	2051	299
1975	160	2149	648
2045	975	2166	84
2035	582	2096	354
1805	448	1978	214
2098	1115	2033	116

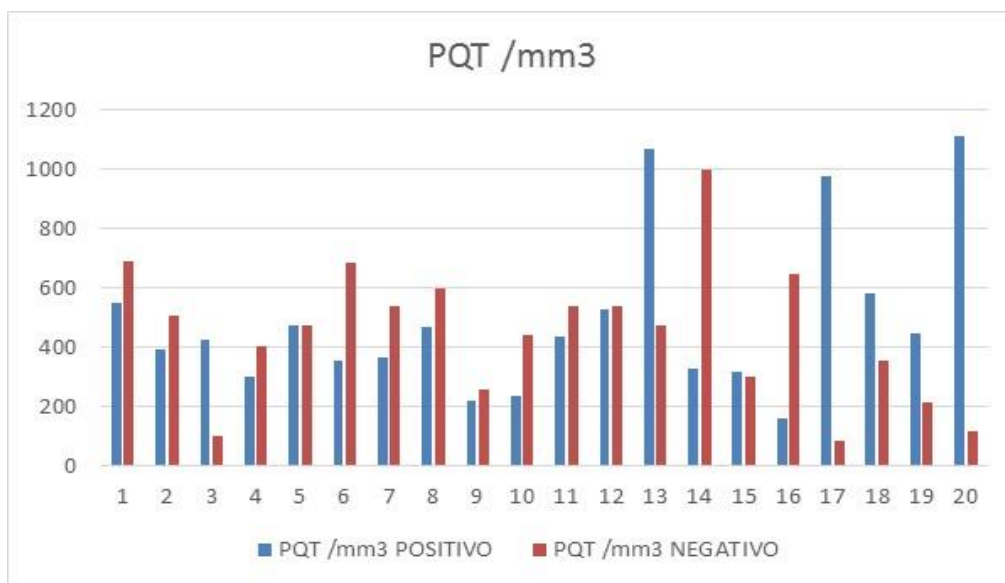
Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el cuadro 22, se observa los animales positivos y negativos a la prueba Elisa competitivo (leucosis) en relación a las Plaquetas (PQT /mm³).

El rango normal de las plaquetas es de 100 a 800 expresado en notación decimal es $\times 10^3$ /U.I. en la leche cruda.

Gráfico 20. Animales seropositivos y seronegativos a leucosis respecto a las Plaquetas (PQT/mm3)



Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En el gráfico 20, se esquematiza los animales positivos y negativos a leucosis bovina en relación a las Plaquetas (PQT/mm3).

Tabla 20. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas – leucosis positivos y negativos - Plaquetas (PQT/mm3)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	487,2	448,05
Varianza	71836,484	52462,261
Observaciones	20	20
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,3862183	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0,4225113	
P(T<=t) una cola	0,3386974	
Valor crítico de t (una cola)	1,7291328	
P(T<=t) dos colas	0,6773949	
Valor crítico de t (dos colas)	2,0930241	

Fuente: Directa

Elaborado por: BARRERA, Santiago, 2017

En la tabla 20, se presenta el análisis de los Plaquetas (PQT/mm³) de los animales seropositivos y seronegativos a leucosis bovina de los animales en estudio, se observa que no existe diferencia estadística significativa, ya que el valor de p es 0,677394857 siendo menor que p-valor >0,05. Sin embargo, se observa que existe una diferencia numérica en relación a las medias.

10. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A continuación, se exponen los resultados obtenidos en relación a los animales positivos y negativos a leucosis bovina respecto a los parámetros productivos.

En relación a las pruebas Elisa competitiva e indirecta para determinar los seropositivos y seronegativos en la que se reportan los valores de los análisis de la Prueba diagnóstica basada en el conteo de inmunoglobulinas G; se evidenció que entre las pruebas no presentan diferencia estadística significativa. Sin embargo, se observaron diferencias numéricas en relación a los límites inferiores y superiores respecto al punto de corte de cada prueba, se evidencia que existe aumento y variabilidad en el rango de seropositividad respecto al ELISA posiblemente debido al curso de la enfermedad, en la que pasa de un estado de linfocitosis persistente benigna a un estado de malignidad severa (Rovnak, 1999; Popat, 2011).

Respecto a los positivos y negativos en relación a la edad se observa que a medida que avanza la edad los valores del punto de corte determinados se acercan al límite superior, por tanto, se considera que no existe una correlación positiva, posiblemente debido a que el periodo de incubación es extenso y el animal desarrolla inmunidad que equilibra el estatus inmunológico.

Los positivos y negativos en relación a la condición corporal determinaron que pese a que la enfermedad es una patología que genera inmunosupresión los valores expresados en la condición corporal se mantienen adecuados tanto en el grupo de positivos como en el grupo negativo, posiblemente influyan factores relacionados con el nicho inmunológico y seroconversión, además es importante destacar que de acuerdo a los reportes científicos que menos del 5% de los animales infectados desarrollan linfosarcoma, por tanto en estos animales se vería afectado la condición corporal siempre y cuando estos afecten a órganos importantes como hígado, aparato digestivo, etc.

Respecto a los positivos y negativos a LBE en relación a los parámetros productivos: grasa de la leche, proteína, sólidos totales, recuento de células somáticas, conteo bacteriano total, días de lactancia, promedio leche/día, no se determinó una diferencia estadística significativa, por tanto, estos parámetros no mostraron tener asociación con el efecto del estado al VLBE. Estos resultados, en general, coinciden con lo reportado por Pollari et ál. (1992) y Brenner et ál. (1989) que, aunque no reportan diferencias significativas entre vacas seronegativas y seropositivas, si registran una tendencia de las vacas seropositivas a presentar una tendencia en la disminución de la calidad de la leche y sanidad de ubre respecto a los seronegativos.

En relación a los positivos y negativos respecto a los Glóbulos Rojos (CGR x $10^{12}/L$) no se observaron correlaciones, determinándose que no existe diferencias estadísticas significativas entre los glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito entre los animales seropositivos y seronegativos. Esto indicaría, que los valores de los rangos inferiores y superiores de GB, HM y HT aumentan o disminuyen paralelamente cuando existe normalidad, o afectación de esta patología. En este caso, la dinámica de estos componentes sanguíneos podría determinar los efectos directos del curso de la enfermedad de la LBE en sus diferentes presentaciones, tales como la linfocitosis persistente, la enfermedad crónica en evolución a curso agudo, y el desarrollo de linfosarcoma. De lo contrario, se puede producir el desarrollo de un nicho inmunológico, determinando un estado de equilibrio del sistema inmunológico, y de bienestar en los animales positivos a LBE (Rovnak, 1999; Popat, 2011).

Respecto a los positivos y negativos en relación a Glóbulos Blancos, linfocitos y monocitos (CGR x $10^{12}/L$), se observaron correlaciones negativas y estadísticamente significativas. Esto indicaría que los valores de los rangos de GB, respecto a los LIF, y monocitos aumentan o disminuye paralelamente cuando existe normalidad, o afectación de una patología; en este caso la dinámica de estos componentes sanguíneos, determinan los efectos directos del curso de la enfermedad LBE, determinado por la seropositividad, estimuló permanente del sistema inmunitario (Natural Killer), desarrollo de leucemias monocítica, enfermedad crónica (VLBE), o la fagocitosis de células neoplásicas por el desarrollo del linfosarcoma por el progreso de neoplasias. De igual forma existe una disminución respecto a los neutrófilos o segmentados, atribuible al curso de la enfermedad en el que genera estrés crónico por enfermedad, neutrofilia inflamatoria, leucemias o neoplasias malignas e inmunosupresión marcada (Rovnak, 1999; Popat, 2011).

11. CONCLUSIONES

Si bien es cierto los resultados de este estudio no proporcionan datos contundentes sobre la relación del estado serológico al VLBE en relación con los parámetros productivos que se analizaron en los bovinos, sí se pudo comprobar alguna relación importante con la grasa de la leche, proteína, sólidos totales, recuento de células somáticas, conteo bacteriano total, días de lactancia, promedio leche/día; además, aunque no hubo significancia estadísticas en muchas de las diferencias encontradas, los animales seronegativos mostraron mejores indicadores que los seropositivos.

Se concluye que no existe diferencia al determinar la seropositividad y seronegatividad a VLBE al emplear las pruebas de diagnóstico de Elisa indirecta y Elisa competitivo.

En relación a los animales seropositivos y seronegativos respecto a los parámetros productivos., condición corporal y edad, no existe diferencia significativa; por cuanto se considera que los animales desarrollan un nicho inmunológico, que genera estabilidad inmunitaria, por lo tanto, los parámetros no presentan variabilidad considerable en sus rangos.

Al análisis de la serie roja (GR, HB, HT) estas no presentaron diferencias significativas, sin embargo, la serie blanca presenta significancia estadística respecto a los GB, LIF, y MON y no significancia en los NEU.

RECOMENDACIONES:

Se trate o se estudie una enfermedad infecto-contagiosa que no sea de impacto directo en la salud pública y cuyo protocolo de notificación no sea obligatorio, es importante considerar el siguiente protocolo.

- 1) Diagnosticar su presencia en la localidad, área, región.
- 2) Determinar la prevalencia y la incidencia.
- 3) Establecer el real efecto de la enfermedad caracterizando las diferentes formas de presentación de la enfermedad en los animales seropositivos.
- 4) Realizar un estudio de beneficio-costos de la implementación de un plan según los pasos anteriores, para considerar su real impacto y generar perspectivas de erradicación en cada explotación ganadera.

12. BIBLIOGRAFIA

CITADA

Aida Y, Takeshima S, Panei C, Omori T, Nunoya T, Davis W, et al. 2014. BLV-CoCoMo-qPCR: estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis. *Retrovirology* 11(Suppl 1): 143 (Abstr).

Aida, Y.; Murakami, H.; Takahashi, M. and Takeshima, S. 2013. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Front Microbiol*, 4: 1-11.

Álvarez I, Gutiérrez G, Martínez C, Politzki R, González C, Caviglia L, Trono K. 2012. Dinámica del virus de la leucosis bovina en un ciclo productivo de bovinos lecheros. En: *Jornadas Latinoamericanas sobre Leucosis Bovina*. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Virología.

Báez, G. J. J. 2002. Estudio epidemiológico de mastitis subclínica bovina en el sector II de Téjaro, Michoacán. (Tesis de licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán, México. 40-4.

Baruta DA, Ardoino SM, Brandan JL, Sosa RE, Mariani EL, Riesco SR, Albrecht E. 2012. Relevamiento serológico de leucosis bovina enzoótica en tambos de tres departamentos de la zona norte de La Pampa. En: *Jornadas Latinoamericanas sobre Leucosis Bovina*. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Virología

Baruta, D. A, y otros. 2011. Cátedra Enfermedades Infecciosas. Facultad de ciencias Veterinarias, Universidad nacional de la Pampa. [En línea] 2011. [Citado el: 25 de Marzo de 2012.] www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v13a02baruta.pdf. ISSN: 1515- 1883.

Bautista, N. A., Nova, Y. A., Pulido-Medellín, M. O., & Andrade-Becerra, R. J. (2013). Determinación serológica de leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas de la vereda Morichal, Yopal, Casanare. *Ciencia y Agricultura*, 10(1), 31-37.

Benavides B, Cedeño D, Serrano M. 2013. Epidemiological study of bovine leukemia virus in dairy cows in six herds in the municipality of Pasto, Nariño. *Rev Lasallista Investig* 10: 18-26.

Blood, D y Henderson, J. 1974. Enfermedades específicas de etiología dudosa o desconocida. Mexico : Interamericana, 1974.

Blood, D y Radostits, O. 1992. Libro de texto de las enfermedades del ganado vacuno, ovino, porcino, caprino y equino. Mexico : Interamericana, 1992. ISBN: 978-607-15-0407-4.

Bonifaz, N., & Ulcuango, F. (2015). PREVALENCIA DE LEUCOSIS BOVINA EN LA COMUNIDAD SANTO DOMINGO N° 1, CAYAMBE-ECUADOR 2012. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 22(2), 33-39.

Brenner J., Van Haam M., Savir D., Trainin Z. 1989. The implication of BLV infection in the productivity, productive capacity and survival rate of dairy cow. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 3:299-305

Burgos Zambrano, J. S., & Zambrano Cano, J. R. (5 de agosto 2013). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Guayaquil “Manuel Felix López”

Cadavid, L. 2012. Impacto del Leucosis Viral Bovina en la producción de leche. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira. Colombia. <http://www.bdigital.unal.edu.co/9308/1/lascarioartemocadavidgutierrez.2012.pdf> (15/11/2015).

Cañibano, E y Emiliano, O. 2011. Leucosis enzoótica bovina. [En línea] 2011.http://www.facebook.com/l.php?u=http%3A%2F%2Fbiblio.unicen.edu.ar%2F%3Fp%3Dget_document%26id%3D59286-1&h=iAQGI41Z4.

Cañibano, E, Schang, S y Gutiérrez, S. 2011. Leucosi enzoótica bovina. [En línea] Diciembre de 2011. biblio.unicen.edu.ar/?p=get_document&id=59286-1.

Carignano H, Roldán D, Trono K, Miretti M, Poli M. 2012. Distribución de frecuencias alélicas del gen *boladrb3* en animales blv(-) y blv(+) de baja carga proviral, pertenecientes a un rodeo comercial de raza Holstein y Holstein x Jersey. En: Jornadas Latinoamericanas sobre Leucosis Bovina. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Virología

Castelli, Mirta, y otros. 1999. Leucosis bovina, diagnóstico, transmisión, control y prevención. [En línea] 1999. [Citado el: 8 de Noviembre de 2011.] <http://rafaela.inta.gov.ar/revistas/inf0999.htm>.

- Cenuse C, Tirziu E, Nichita I, Cumpanasoiu C, Seres M. 2013.** Hematological changes associated with enzootic bovine leukosis in cattle from Timis County. *Lucrări Științifice* 46: 26-30.
- Choudhury B, Finnegan C, Frossard J-P, Venables C, Steinbach F. 2013.** Colostrum replacer and bovine leukemia virus seropositivity in calves. *Emerg Infect Dis* 19: 1027-1028.
- Costa R, de Oliveira A, Salardane I, Ferreira P, Côgo R, Molinari D. 2013.** Soroepidemiologia da leucose enzoótica bovina em propriedades leiteiras do município de Alegre, estado do Espírito Santo, Brasil. *J Bras Ciên Anim* 6: 427- 441.
- D'angelino J.L., Garcia M., Girgel E.H. 1998.** Productive and reproductive performance in cattle infected with bovine-leukosis virus. *J. Dairy Res.* 65:693-695.
- Emanuelsson, U.; Scherling, K. and Pettersson, H. 1992.** Relationships between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in Swedish dairy herds. *Prev Vet Med*,12: 121-131
- Etcheverrigaray. M. Gonzales, E.- Olivis, G., (2010).** Leucosis bovina: principales características del agente etiológico y la enfermedad. *Monografías de medicina veterinaria*, 10(2).
- Evermann, J. (2014).** Cause for Concern: Bovine Leukemia Virus. Washington State University Extension & WSU College of Veterinary Medicine, 1-5.
- Felmer, R., Zúñiga, J., & Recabal, M. (2006).** Estudio comparativo de un PCR anidado, ELISA y AGID en la detección del virus de la leucosis bovina en muestras de suero, sangre y leche. *Archivos de medicina veterinaria*, 38(2), 137-141.
- Gázquez, A. 1991.** Patología veterinaria. Madrid - España : McGraw-Hill Interamericana, 1991. ISBN: 84-7615-696-0.
- Giraudó, J, y otros. 2010.** Leucosis enzoótica bovina. [En línea] 2010. http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/24-leucosis_enzootica.pdf.
- Gomez, L. 2007.** Manual de inmunología veterinaria. Prentice Hall, 1 edición.

Gutiérrez G, Rodríguez SM, de Brogniez A, Gillet N, Golime R, Burny A, Jaworski JP, Alvarez I, Vagnoni L, Trono K, Willems L (2014) Vaccination against δ -retroviruses: the bovine leukemia virus paradigm. *Viruses* 6(6):2416–2427

Gutiérrez G, Rodríguez SM, de Brogniez A, Gillet N, Golime R, Burny A, Jaworski JP, Alvarez I, Vagnoni L, Trono K, Willems L (2014). Vaccination against δ -retroviruses: the bovine leukemia virus paradigm. *Viruses* 6(6):2416–2427

Gutiérrez G. 2010. Estudio de la dinámica de infección perinatal con BLV en un rodeo de tambo de alta prevalencia. Tesis de Doctor. Argentina: Universidad de Buenos Aires. 165 p.

Hagiwara A, Saito M, Ishikawa Y, Kadota K. 2014. A histological study of lymphoid neoplasms in cattle infected with bovine leukosis virus. *J Jpn Vet Med Assoc* 67: 199-203.

Hassanpour M, Nadalian M, Safi S, Madani R, Bokaie S. 2014. Epidemiological survey of bovine leukemia virus (BLV) infection and its effective factors emphasis ELISA and nested PCR in dairy herds around Babol city (North of Iran) as a Caspian climate. *Eur J Zool Res* 3: 166-171.

Heenemann, K., Lapp, S., Teifke, J. P., Fichtner, D., Mettenleiter, T. C., & Vahlenkamp, T. W. (2012). Development of a Bovine leukemia virus polymerase gene–based real-time polymerase chain reaction and comparison with an envelope gene–based assay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(4), 649-655.

Hernández D, Muñoz J, Álvarez L. (2014). Asociación del Locus BOLA-DRB3.2 con el Virus de la Leucosis Bovina en el Ganado Criollo Colombiano. *Rev. Colombiana Cien Anim*; 6 (2): 319-326.

Hernandez, D. 2010. Asociación de locus bola-drb 3.2 con el virus de la leucosis bovina en razas criollas y colombianas. Proyecto Fin de Carrera, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira, Colombia, an optional note

Huber n.l., Digiacomio r.f., Evermann j.f., Studer e. 1981. Bovine leukemia virus infection in a large Holstein herd: prospective comparison of production and reproductive performance in antibody-negative and antibody-positive cows. *Am. J. Vet. Res.* 42:1477-1481.

Hulo, C.; de Castro, E.; Masson, P.; Bougueleret, L.; Bairoch, A.; Xenarios, I. and Le Mercier, P. 2011. Viralzone: a knowledge resource to understand virus diversity. *Nucleic Acids Res*, 39: D576–D582.

Kettmann R., Cleuter Y., Mammerickx M., Meunir M., Bernardi G., Burny A., Chantrenne H. 1980. Genomic integration of bovine leukemia provirus: comparison of persistent lymphocytosis with the lymph node tumor form of enzootic bovine leucosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77:257-258.

Lojkic I, Balic D, Rudan N, Kovacic M, Cac Z, Periskic M, Bedekovic T, Roic B, Ciglar I. 2013. Eradication of bovine leukosis virus on a dairy farm through improved virus detection. *Vet Arhiv* 83: 581-591.

Mariño, B, y otros. 2003. Prevalencia de tambos infectados con el virus de la leucosis bovina (LBV) mediante determinación de anticuerpos en leche por el ELISA 108. [En línea] 2003. http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/publicaciones/bitstream/1/410/4/fave_vet_v2_n2_p117_121.pdf. ISSN.

Meza-Barreto, G., Sanjuanelo-Corredor, D. W., & Gallego-Marín, M. I. (2016). Detección molecular del virus de la leucosis bovina: un estudio por conglomerados en Colombia. *Revista Ciencia y Agricultura*, 13(2), 47-55.

Mora D. 1997. Evaluación de prácticas de manejo asociadas al riesgo de transmisión del virus de la leucosis enzoótica bovina en hatos lecheros de Costa Rica. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, C.R. 103 p

Moratorio Gonzalo (2012). Aspectos genómicos y Evolutivos de la Leucosis Bovina. Tesis de Doctorado. Unidad de Biofísica de Proteínas Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay.

Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T., & Tsutsui, T. (2011). The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Veterinary Microbiology* 148, 84–88. ELSEVIER

Murillo Loor, G. E., & Zambrano Rosado, M. X. (2013). Software de control ganadero en el hato bovino de la escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Murphy F., Gibbs J., Horzinek M., Studdert M. 1999. *Veterinary Virology*. 3th ed. 629 p

Nava, Z., Obando, C., & Bracamonte, M. (06 de 2012). Scielo. Recuperado el 07 de 02 de 2014, de de revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0258_65762012000100003

Nava, Z., Obando, C., Molina, M., Bracamonte, M., & Tkachuk, O. (2011). Seroprevalencia de la leucosis enzoótica bovina y su asociación con signos clínicos y factores de riesgo en

rebaños lecheros del estado barinas, venezuela. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, 52(1), 13-23.

OIE, (2013). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas. http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/1.01.01_COLLECTION_DIAG_SPECIMENS.pdf

OIE. Organización Internacional de la Salud Animal. 2016. Manual de la OIE sobre animales terrestres. <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/oie-listed-diseases2016/>.

http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_ebl.pdf

Ott, S.; Johnson, R. and Wells, S. 2003. Association between bovine leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. *Prev Vet Med*,61: 249-262

Palma, E.2011. Determinación de la Prevalencia de Leucosis Bovina en hatos lecheros en el Cantón Quevedo por la técnica de Inmunodifusión en Gel Agar (AGID). Tesis. Guayaquil

Pollar I F.L., Wangsuphachart V.L., Digiacomo R.F., Evermann J.F. 1992. Effects of bovine leukemia virus infection on production and reproduction in dairy cattle. *Can. J. Vet. Res.* 4:289-295.

Puma Agudo, M. S., & Yanza Salazar, W. M. (2013). Prevalencia de leucosis bovina en las parroquias orientales del cantón Paute de la Provincia del Azuay.

Rebhun, W. 1999. Enfermedades del ganado vacuno lechero. Zaragoza - España : Acribia S.A, 1999. ISBN 84-200-0885-0.

Rodríguez S, Florins A, Gillet N, de Brogniez A, Sánchez-Alcaraz M, Boxus M, Boulanger F, et al. 2011. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. *Viruses* 3: 1210-1248.

Rudolph, W. 2010. Leucosis linfática enzoótica del bovino. [En línea] 2010. <http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/4826/4711>. ISSN 0716-226X.

Sandev N, Zapryanova D, Stoycheva I, Susenova N, Mircheva T. 2013. Investigation of some haematological and blood biochemical parameters in cattle spontaneously infected with bovine leukosis virus. *Mac Vet Rev* 36: 107-110.

Sandez, N.; Ilieva, D.; Sizov, I.; Rusenova, N. and Iliev, E. 2006. Prevalence of enzootic bovine leukosis in the Republic of Bulgaria in 1977-2004. *Arch Vet*,76: 263-268.

Sandoval, R., Delgado, A., Ruiz, L., & Ramos, O. (2015). Determinación de la seroprevalencia del virus de la Leucemia Bovina en un establo lechero de Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(1), 152-158.

Santamaría, J. 2014. Estudio de parámetros productivos y reproductivos en vacas seropositivas y seronegativas al virus de la leucosis bovina (BLV) en tres hatos de producción lechera. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Politécnica del Ejercito. Pichincha. Ecuador.

Szewczuk, M.; Zych, S. and Katafiasz, S. 2012. Diagnosis of the bovine leukaemia virus infection in Polish Holstein-Friesian cows and comparison of their milk productivity. *Acta Vet Brno*, 81: 353-358.

Tomita K, Cyuzyo M, Kamomae Y, Yazima K, Uramoto K, Takeshima S, Aida Y. 2013. Investigation into the conditions and factors associated with the onset of bovine leucosis in Holstein cows in middle Hyogo prefecture. *J Jpn Vet Med Assoc*.

UNAM. 2008. Leucosis bovina, encyclopedia bovina. [En línea] 2008. <http://www.facebook.com/l.php?u=http%3A%2F%2Fwww.fmvz.unam.mx%2Ffmvz%2Fenovina%2F04LeucosisBovina.pdf&h=iAQGI41Z4>.

Úsuga-Monroy, C., Echeverri, J., & López-Herrera, H. (2015). Diagnóstico molecular del virus de leucosis bovina en una población de vacas Holstein, Colombia. *Arch. Zootec*, 64, 383-388.

Vale, O, y otros. 2009. Linfoma multicentrico o linfosarcoma multicentrico. [En línea] 2009. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-22592009000300007&script=sci_arttext. ISSN 0798-2259.

Bartlett, P. C., Erskine, R. J., Sabo, K. M., & Sordillo, L. M. (2011). Bovine leukemia virus infection in dairy cattle: effect on serological response to immunization against J5 Escherichia coli bacterin. *Veterinary medicine international*, 2011.

Bedolla, C. C., Castañeda, V. H. y Wolter, W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. REDVET. Rev. Electrón. Vet. Vol. VIII, No 9, Septiembre. 17 pp.

Saran, A., y Chaffer, M. 2000. Mastitis y calidad de la leche. Ed. Inter-Médica. Buenos Aires. pp. 14-16, 31-42.

RAMA, G., PRITSCH, O., LOURDES, M., DELGADO, A., MORATORIO, G., MEIKLE, A., Análisis del descenso de anticuerpos en el periparto y su impacto en el diagnóstico serológico de la Leucosis Enzootica Bovina. {En línea} {1 septiembre de 2014} Disponible en: (<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo;jsessionid=B69296733EB573E8B9FA8624AEF6A01D.dialnet01?codigo=4183246>)

BENAVIDES, B., CEDEÑO, D., SERRANO DE LA CRUZ, M. Estudio epidemiológico del virus de leucemia bovina en vacas de seis hatos del municipio de Pasto, Nariño. En: Revista Lasallista De Investigación. 2013 Vol 10, no. 1, p 18-26

Martínez, J. R., Gonzalo, C., Carriedo, J. A. y San Primitivo, F. 2003. “Effect of Freezing on Fossomatic Cell Counting in Ewe Milk”, J. Dairy Sci. 86:2583-2587.

CONSULTADA

ftp://ftp.oie.int/SAM/2004/ECU_E.pdf

<http://ecuvet.blogspot.com/2016/06/leucosis-enzootica-bovina-en-el-ecuador.html>

<http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v13a02baruta.pdf>

<http://www.bdigital.unal.edu.co/9308/1/lascarioartemocadavidgutierrez.2012.pdf>

http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf

<http://www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf>

13. ANEXOS

ANEXO 1

HOJA DE VIDA

DATOS PERSONALES

NOMBRES Y APELLIDOS: Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

FECHA DE NACIMIENTO: 24 de abril 1979

CEDULA DE CIUDADANÍA: 0502236623

NACIONALIDAD: Ecuatoriana

NÚMEROS TELEFÓNICOS: 0995407023

E-MAIL: mgutierrezreinoso@hotmail.com



ESTUDIOS REALIZADOS:

NIVEL PRIMARIO: Escuela Isidro Ayora

NIVEL SECUNDARIO: Instituto Superior Vicente León

NIVEL SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi

NIVEL POSGRADO: Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría en producción Animal

NIVEL POSGRADO:

Diploma: Universidad Austral de Chile – Facultad de Ciencias Veterinarias CENEREMA

Diploma: Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Complutense de Madrid –España.

Estancia: Instituto de Reproducción Animal – INIA – Madrid España.

Estancia: Laboratorio de Fertilización In vitro – INIA – Madrid España.

Estancia: Instituto de Reproducción Animal – IRAC – Córdoba – Argentina.

Cursos Varios de capacitación: Argentina – Chile, Perú, Colombia, Ecuador y España.

CI: 0502236623

ANEXO 2 CURRICUCLUM VITAE



DATOS PERSONALES

NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS:

Cristian Santiago Barrera Guzmán

C.I: 050332607-6

FECHA DE NACIMIENTO:

19 de Abril de 1990

LUGAR DE NACIMIENTO:

Cotopaxi/Latacunga/La Matriz

ESTADO CIVIL:

Soltero

DIRECCIÓN:

Belisario Quevedo y Félix Valencia

TELEFONO:

032-814-165

E-MAIL:

cristian.barrera6@utc.edu.ec

FORMACION ACADEMICA

ESTUDIOS PRIMARIOS:

Escuela Fiscal Isidro Ayora

ESTUDIOS SECUNDARIOS:

Instituto Tecnológico Superior “Vicente León”

Área de Conocimiento:

Epidemiología y Salud Animal

Línea de investigación:

Salud Animal

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Producción Animal y Nutrición

CI: 050332607-6

Resultados del análisis de leche

 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO	LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LECHE Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-2372-842/2372-844/2372-845	PGT/CL/09-FO01
	INFORME DE ANÁLISIS	Rev. 3
		Hoja 1 de 5

"LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL SAE CON ACREDITACIÓN N° SAE-LEN-16-008"

Informe N°: LN-CL E17-418
 Fecha emisión Informe: 23/06/2017

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante: Santiago Barrera

Dirección: Latacunga

Provincia: Cotopaxi

Cantón: Latacunga

Teléfono: 0992142070

Correo Electrónico: sb_freaks180@hotmail.com

N° Orden de Trabajo: CL-17-CGLS-1442

N° Factura/Memorando: MAGAP-DDATZ2/AGC-2017-000415-M

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra: Leche Cruda	Conservación de la muestra: Refrigerada
N° de Muestras: 169	Tipo envase: Apropriado
Propietario: Santiago Barrera	Lugar de muestreo: Lasso
Provincia: Cotopaxi	Coordenadas: X: X Y: X
Cantón: Latacunga	
Parroquia: Lasso	Altitud: X
Responsable de toma de muestra: Santiago Barrera	Temperatura recepción muestra: 5.6 ° C
Fecha de toma de muestra: 19/06/2017	Fecha de inicio de análisis: 20/06/2017
Fecha de recepción de la muestra: 19/06/2017	Fecha de finalización de análisis: 20/06/2017


RESULTADOS DEL ANÁLISIS

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	G (%)	P (%)	ST* (%)	SNG* (%)	CRIO* (°C)	% AGUA* AÑADIDA	CCS* (X1000/ml)	CBT* (X1000/ml)
CL172154	1876	1.11	3.22	--	--	--	--	61	18
CL172155	1973	1.27	3.43	--	--	--	--	365	13
CL172156	2274	0.85	3.09	--	--	--	--	28	66
CL172157	2140	1.90	3.27	--	--	--	--	39	237
CL172158	2089	0.74	3.14	--	--	--	--	132	17
CL172159	38	1.37	3.93	--	--	--	--	337	104
CL172160	531	0.90	3.09	--	--	--	--	138	28
CL172161	2237	1.11	3.00	--	--	--	--	30	13
CL172162	2078	1.91	3.54	--	--	--	--	454	19
CL172163	2249	2.29	3.47	--	--	--	--	137	24
CL172164	2168	1.14	3.21	--	--	--	--	35	16
CL172165	2167	1.78	3.66	--	--	--	--	68	9
CL172166	2225	1.16	3.49	--	--	--	--	82	19
CL172167	2128	1.44	2.88	--	--	--	--	295	22
CL172168	8021	1.22	3.43	--	--	--	--	117	25
CL172169	1763	1.25	3.22	--	--	--	--	131	45
CL172170	2296	2.08	3.12	--	--	--	--	61	290
CL172171	1977	1.90	3.01	--	--	--	--	924	31
CL172172	2294	0.45	3.12	--	--	--	--	36	38
CL172173	2157	1.92	3.58	--	--	--	--	100	74
CL172174	1892	2.08	2.85	--	--	--	--	90	159
CL172175	18	1.91	4.03	--	--	--	--	59	29
CL172176	1859	2.03	3.14	--	--	--	--	770	10
CL172177	Desp-1892	5.45	2.71	--	--	--	--	149	--
CL172178	2183	1.71	3.37	--	--	--	--	152	85

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del laboratorio.



Resultados del examen del examen hematológico

 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO	LABORATORIOS DE LA DIRECCIÓN DE DIAGNOSTICO ANIMAL	PGT/DA/09-F001
	Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito	Rev. 2
	Teléf.: 02-2372-842/2372-844/2372-845	
	INFORME DE ANALISIS	Hoja 1 de 7

Informe N°: LN-V-1b17-0961

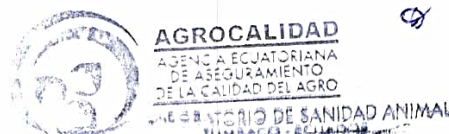
Fecha emisión Informe: 28/06/2017

DATOS GENERALES

Cliente:	MARITZA MENA	Dirección:	VIA SAN AGUSTIN DE CALLO
Propietario:	AGRICOLA SAN AGUSTIN	N° de Orden de Trabajo:	DA-17-CGLS- 1416
Nombre del predio:	AGRICOLA SAN AGUSTIN	Quipux o Factura:	389-M
Provincia:	COTOPAXI	Dirección Predio:	VIA SAN AGUSTIN DE CALLO
Parroquia:	MULALO	Cantón:	LATACUNGA
Motivo del Análisis:	TESIS	Especie:	BOVINA
Fecha de recepción de la muestra:	22/06/2017	N° y Tipo de muestra:	333 SUEROS SANGUINEOS
Fecha de muestreo:	22/06/2017	Muestreado por:	MARITZA MENA - MIGUEL GUTIERREZ
Fecha de inicio del análisis:	23/06/2017	Diagnóstico solicitado:	LEUCOSIS BOVINA
		Fecha finalización del análisis:	23/06/2017

CÓDIGO MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	EDAD (AÑOS)	SEXO	SÍNTOMAS	TEMPERATURA AL MOMENTO DE MUESTREO	LEUCOSIS BOVINA		P.I.
						TECNICA: ELISA - c		
						METODO: PEE/V/24		
°C								
V-b1706-5002	3220	2,5	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		86,110
V-b1706-5003	1604	12,4	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		5,573
V-b1706-5004	2205	4,4	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		4,697
V-b1706-5005	1447	13,9	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		103,565
V-b1706-5006	2038	6,8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		5,461
V-b1706-5007	2224	4,2	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		102,512
V-b1706-5008	2248	3,7	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		4,650
V-b1706-5009	2135	5,6	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		98,001
V-b1706-5010	1998	7,5	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		110,703
V-b1706-5011	1950	8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		5,955
V-b1706-5012	1938	8,1	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,236
V-b1706-5013	2099	6	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		98,782
V-b1706-5014	1979	7,8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,779
V-b1706-5015	2239	3,9	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,419
V-b1706-5016	1725	10,8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		4,362
V-b1706-5017	2230	4,1	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		2,931
V-b1706-5018	2221	4,2	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		184,003
V-b1706-5019	2066	NO INFORMA	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		190,021
V-b1706-5020	3161	NO INFORMA	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,467
V-b1706-5021	2180	4,9	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		2,965
V-b1706-5022	2172	5	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		107,331
V-b1706-5023	1948	8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,026
V-b1706-5024	2114	5,8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,379
V-b1706-5025	2134	5,6	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		100,648
V-b1706-5026	1793	10	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		6,605
V-b1706-5027	2170	5	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		7,036
V-b1706-5028	2175	5	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		94,203
V-b1706-5029	2228	4,2	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		4,776
V-b1706-5030	2057	6,6	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		103,755
V-b1706-5031	2235	4	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		108,138
V-b1706-5032	2051	6,7	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		95,858
V-b1706-5033	2047	6,8	H	NO	NO INFORMA	NEGATIVO		93,056
V-b1706-5034	26	2,7	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		9,085
V-b1706-5035	2184	4,8	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		6,540
V-b1706-5036	2212	4,4	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		2,687
V-b1706-5037	1827	9,7	H	NO	NO INFORMA	POSITIVO		3,223

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.
 Está prohibida la reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.



Normativa INEN 9 Requisitos físico químico de la leche

NTE INEN 9

4.2.1.2 Olor. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

4.2.1.3 Aspecto. Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

4.3 Requisitos físicos y químicos

La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos físico-químicos para la leche cruda

Requisitos	Unidad	min.	máx.	Método de ensayo
Densidad relativa: a 15 °C a 20 °C	g/mL	1,029 1,028	1,032 1,033	NTE INEN 11
Materia grasa	% ¹	3	-	NTE INEN-ISO 2446
Acidez titulable como ácido láctico	%	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	%	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%	8,2	-	*
Cenizas	%	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico)	°C	-0,536	-0,512	NTE INEN-ISO 5764
Proteínas (N*6,38)	%	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)**	h	4	-	NTE INEN 18
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización, no se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en masa o 75 % en volumen. Para la leche destinada a ultra pasteurización, no se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en masa o 78 % en volumen.			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes ²	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ³	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ⁴	-	Negativo		NTE INEN 1500 NTE INEN 2401
* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.				
** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento				
¹ Corresponde a fracción de masa expresada en porcentaje				
² Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio y dióxido de cloro.				
³ Neutralizantes: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.				
⁴ Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, suero de leche, grasas vegetales.				

4.4 Contaminantes. El límite máximo permitido para contaminantes se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Límites máximos para contaminantes

Requisito	Unidad	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo	mg/kg	0,02	ETE INEN-ISO/TS 6733
Aflatoxina M1	µg/kg	0,5	NTE INEN-ISO 14674

4.5 Requisitos microbiológicos. La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos para la leche cruda

Microorganismo	Caso	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>M</i>	<i>M</i>	Método de ensayo
Recuento de colonias aerobias	2 ^a	5	2	2x10 ⁶	5x10 ⁶	NTE INEN 1529-5
Enterobacteriaceae (UFC/g)	6 ^b	5	1	10	10 ²	NTE INEN-ISO 21528-2
<i>S. aureus</i>	7 ^c	5	2	10	10 ²	NTE INEN 1529-14
Recuento de células somáticas/mL	$< 5 \times 10^5$					ISO 13366-1
<i>n</i> número de muestras a analizar <i>m</i> límite de aceptación <i>M</i> límite superando el cual se rechaza <i>c</i> número máximo de muestras admisibles con resultados entre <i>m</i> y <i>M</i> . ^a Caso 2. Utilidad: contaminación general, vida útil reducida en percha, deterioro incipiente. ^b Caso 6. Indicador: riesgo bajo e indirecto. ^c Caso 7. Riesgo moderado: directo, propagación limitada						

4.6 Requisitos complementarios. La leche debe recolectarse, almacenarse y transportarse en recipientes que eviten la introducción de contaminantes, de fácil limpieza y desinfección y sean de uso exclusivo para leche. Por ejemplo: envases metálicos de aluminio o acero inoxidable y plásticos de calidad alimentaria, con tapa de ajuste hermético o en camiones con cisternas isotérmicas de acero inoxidable, construido de manera tal que asegure su fácil limpieza y desinfección. Los envases o cisternas deben mantenerse en buen estado físico e higiénico.

5. INSPECCIÓN

5.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 707.

5.2 Aceptación o rechazo. Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

Normativa INEN 9:2012 Requisitos de Leche Cruda Sexta versión.



Quito – Ecuador

NORMA

TÉCNICA

ECUATORIANA

LECHE CRUDA. REQUISITOS

NTE INEN 9

Sexta revisión

PROYECTO 42

RAW MILK. REQUIREMENTS

NTE INEN 9

Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE CRUDA. REQUISITOS	NTE INEN 9:2015 Sexta revisión
--	--------------------------------	---

0. INTRODUCCIÓN

La leche constituye una fuente importante de nutrientes para la población, sin embargo por su composición constituye un medio propicio para el desarrollo de microorganismos patógenos. Además las actividades de ordeño, almacenamiento y transporte, implican riesgos de contaminación por contacto con el hombre o el entorno y por ende la proliferación de patógenos endógeno. La leche también puede estar contaminada por residuos de medicamentos veterinarios, de plaguicidas o de otros contaminantes químicos, por consiguiente, la aplicación de medidas adecuadas de control de la sanidad de la leche, como las recomendaciones dadas en el CPE INEN CODEX 57, capítulo 3, y las buenas prácticas pecuarias de producción de leche, son esenciales para garantizar su inocuidad y calidad para el uso al que se destinen.

1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos de la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son referidos en este documento y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 11, *Leche. Determinación de la densidad relativa*

NTE INEN 13, *Leche. Determinación de la acidez titulable*

NTE INEN 14, *Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas*

NTE INEN 16, *Leche y productos lácteos. Determinación de contenido de nitrógeno. Método Kjeldahl*

NTE INEN 18, *Leche. Ensayos de reductasas*

NTE INEN 1500, *Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad*

NTE INEN 1529-5, *Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de*

microorganismos aerobios mesófilos

NTE INEN 1529-14, *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento*

en placa de siembra por extensión en superficie

NTE INEN 2401, *Leche. Determinación de suero de quesería en leche fluida y en polvo. Método de cromatografía líquida de alta eficiencia*

NTE INEN-ISO 707, *Leche y productos lácteos. Directrices para la toma de muestras*

NTE INEN-ISO 2446, *Leche. Determinación del contenido de grasa*

NTE INEN 9

NTE INEN-ISO 5764, *Leche. Determinación del punto de congelación. Termistor método crioscopio (Método de referencia)*

NTE INEN-ISO 14674, *Leche y leche en polvo. Determinación del contenido de aflatoxina M1. Purificación mediante cromatografía de inmunoafinidad y cromatografía de capa fina*

NTE INEN-ISO 21528-2, *Microbiología de alimentos y productos de alimentación animal. Métodos horizontales para la detección y enumeración de enterobacterias. Parte 2: Método de recuento de colonias*

NTE INEN CODEX CAC/MRL 1, *Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas*

NTE INEN CODEX CAC/MRL 2, *Límites Máximos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos*

ETE INEN-ISO/TS 6733, *Leche y productos lácteos. Determinación del contenido de plomo. Método de espectrometría de absorción atómica en horno de grafito*

ISO 13366-1:2008 (IDF 148-1:2008), *Leche – Enumeración de células somáticas - Parte 1: Método microscópico (Método de referencia)*

3. TERMINOS Y DEFINICIONES

Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:

3.1 Leche: Producto de la secreción normal de las glándulas mamarias de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción.

3.2 Leche cruda: Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento (es decir que la temperatura no haya superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre - no más de 40°C) o no haya sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.

4. REQUISITOS

4.1 Requisitos generales

4.1.1 La leche cruda debe presentar un aspecto normal, libre de calostro y sangre.

4.1.2 La leche cruda se obtendrá de vacas libres de enfermedades infecto-contagiosas.

4.1.3 Después del ordeño, la leche cruda debe ser enfriada a una temperatura de $4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ con agitación constante. En el caso que no contar con un sistema de refrigeración la leche se debe transportar a la planta procesadora o centro de acopio en un período inferior a tres horas.

4.1.4 La leche cruda no debe tener residuos de plaguicidas en cantidades superiores al máximo permitido en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 1.

4.1.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los establecidos en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 2.

4.2 Requisitos específicos

4.2.1 Requisitos organolépticos

4.2.1.1 *Color.* Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

4.2.1.2 Olor. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

4.2.1.3 Aspecto. Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

4.3 Requisitos físicos y químicos

La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos físico-químicos para la leche cruda

Requisitos	Unidad	mín.	máx.	Método de ensayo
Densidad relativa: a 15 °C	g/mL	1,029	1,032	NTE INEN 11
a 20 °C		1,028	1,033	
Materia grasa	% ¹	3	-	NTE INEN-ISO 2446
Acidez titulable como ácido láctico	%	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	%	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%	8,2	-	*
Cenizas	%	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico)	°C	-0,536	-0,512	NTE INEN-ISO 5764
Proteínas (N*6,38)	%	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)**	h	4	-	NTE INEN 18
	Para leche destinada a pasteurización, no se coagulará por la adición de un volumen igual de			

Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	alcohol neutro de 68 % en masa o 75 % en volumen. Para la leche destinada a ultra pasteurización, no se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en masa o 78 % en volumen.			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes ²	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ³	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ⁴	-	Negativo		NTE INEN 1500 NTE INEN 2401

* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.

** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento

¹ Corresponde a fracción de masa expresada en porcentaje

² Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio y dióxido de cloro.

³ Neutralizantes: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.

⁴ Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, suero de leche, grasas vegetales.

4.4 Contaminantes. El límite máximo permitido para contaminantes se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Límites máximos para contaminantes

Requisito	Unidad	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo	mg/kg	0,02	ETE INEN-ISO/TS 6733
Aflatoxina M1	µg/kg	0,5	NTE INEN-ISO 14674

4.5 Requisitos microbiológicos. La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos para la leche cruda

Microorganismo	Caso	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>M</i>	<i>M</i>	Método de ensayo
Recuento de colonias aerobias	2 ^a	5	2	2x10 ⁴	5x10 ⁴	NTE INEN 1529-5
Enterobacteriaceae (UFC/g)	6 ^b	5	1	10	10 ²	NTE INEN-ISO 21528-2
<i>S. aureus</i>	7 ^c	5	2	10	10 ²	NTE INEN 1529-14
Recuento de células somáticas/mL				< 5 x 10 ⁵		ISO 13366-1

n número de muestras a analizar
m límite de aceptación
M límite superando el cual se rechaza

c número máximo de muestras admisibles con resultados entre *m* y *M*.

^a Caso 2. Utilidad: contaminación general, vida útil reducida en percha, deterioro incipiente.

^b Caso 6. Indicador: riesgo bajo e indirecto.

^c Caso 7. Riesgo moderado: directo, propagación limitada

4.6 Requisitos complementarios. La leche debe recolectarse, almacenarse y transportarse en recipientes que eviten la introducción de contaminantes, de fácil limpieza y desinfección y sean de uso exclusivo para leche. Por ejemplo: envases metálicos de aluminio o acero inoxidable y plásticos de calidad alimentaria, con tapa de ajuste hermético o en camiones con cisternas isotérmicas de acero inoxidable, construido de manera tal que asegure su fácil limpieza y desinfección. Los envases o cisternas deben mantenerse en buen estado físico e higiénico.

5. INSPECCIÓN

5.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 707.

5.2 Aceptación o rechazo. Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

APÉNDICE Z

BIBLIOGRAFÍA

NA 0063:2009 *Leche cruda. Requisitos.*

NTP 202.001:2003 *Leche y productos lácteos. Leche cruda. Requisitos.*

COVENIN 903:1993 *Leche pasteurizada.*

NTC 506:1993. *Productos lácteos. Leche entera Pasteurizada.*

NTE INEN-CODEX 193:2013 *Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos*

CPE INEN CODEX 57, *Higiene para la leche y los productos lácteos*

United States Department of Agriculture Milk for Manufacturing Purposes and its Production and Processing Recommended Requirements Effective. September 1, 2005.

International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2005. *Microorganisms in foods 6. Microbial Ecology of food commodities.* Segunda Edición. Estados Unidos. Pág. 643-657.

International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2002. *Microorganisms in foods 7. Microbiological testing in food safety management.* Estados Unidos. Pág. 162-164.

International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2011. *Microorganisms in foods 8. Use of data assessing process control and product acceptance.* Segunda Edición. Pág. 135-138.

Martinez, E., *et al.* 1999. *Dinámica del sistema lechero mexicano en el marco regional y global.*

Primera edición. [visto 2014-12-20]. Disponible en:
https://books.google.com.ec/books?id=pZLbomndQPkC&pg=PA367&lpg=PA367&dq=%C2%B0H+punto+crioscopico&source=bl&ots=4_NbtEVf0D&sig=49apZWXfsPwgmKy7WipSYKCnqMI&hl=es-419&sa=X&ei=jxMcVYzfEoOnggTEtoGYBA&ved=0CCkQ6AEwAg#v=onepage&q=%C2%B0H%20punto%20crioscopico&f=true. Pág. 363-367.

Munguía, J. 2010. *Manual de procedimientos para análisis de calidad de la leche*. [visto 2015-01-10].

Disponible en:
<http://www.cuentadelmilenio.org.ni/cedoc/02negrural/02%20Conglomerado%20Pecuario/05%20Manuales/20%20Manual%20de%20Procedimientos%20para%20Análisis%20de%20calidad%20de%20la%20Leche.pdf>. Pág. 7-36

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento:	TÍTULO: LECHE CRUDA. REQUISITOS	Código ICS:
NTE INEN 9		67.100.01

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficialización con el Carácter de por Resolución No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio:
--	--

Fechas de consulta pública:

Comité Interno del INEN

Fecha de iniciación:

Fecha de aprobación:

Integrantes del Comité Interno:

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

PROYECTO A2

Otros trámites:

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de especificación

Oficializada como:	Por Resolución No.	Registro Oficial
No.		

Servicio Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno E8-29 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2)2 501885 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567815 Dirección Ejecutiva:
E-Mail: direccion@inen.gob.ec Dirección de Normalización: E-Mail: normalizacion@inen.gob.ec

Regional Guayas: E-Mail: inenguayas@inen.gob.ec

Regional Azuay: E-Mail: inencuenca@inen.gob.ec

Regional Chimborazo: E-Mail: inenriobamba@inen.gob.ec

[URL:www.normalizacion.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec)

Normativa INEN 1529-5 2006 Determinación de aerobios



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador



NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1529-5:2006

Primera revisión



FECHA DE CONFIRMACIÓN: 2012-10-29

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS.

DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS. REP.

Primera Edición

MICROBIOLOGICAL CONTROL IN FOODS. DETERMINATION OF THE QUANTITY OF AEROBIC MESOPHILIC MICROORGANISMS. PCA.

First Edition

DESCRIPTORES: Microbiología de los alimentos, ensayo, REP.

AL 01.05-303

CDU: 579.67

CIIU: 9320

ICS: 07.100.30:67.050

CDU: 579.67
ICS: 07.100.30:67.050

CIU: 9320
AL 01.05-303

Norma Técnica	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS.	NTE INEN
Ecuatoriana	DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS	1529-5:2006
Voluntaria	AEROBIOS MESÓFILOS. REP.	Primera revisión 2006-01

1. OBJETIVO

1.1 Esta norma establece el método para cuantificar la carga de microorganismos aerobios mesófilos en una muestra de alimento destinado al consumo humano o animal.

2. ALCANCE

2.1 Este método de ensayo solo permitirá cuantificar la presencia de grupos de microorganismos aerobios mesófilos.

3. DEFINICIONES

3.1 Microorganismos aerobios mesófilos son aquellos microorganismos que se desarrollan en presencia de oxígeno libre y a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una zona óptima entre 30°C y 40°C.

3.2 REP es el recuento de microorganismos aerobios mesófilos por gramo o centímetro cúbico de muestra de alimento.

4. RESUMEN

4.1 Este método se basa en la certeza de que un microorganismo vital presente en una muestra de alimento, al ser inoculado en un medio nutritivo sólido se reproducirá formando una colonia individual visible. Para que el conteo de las colonias sea posible se hacen diluciones decimales de la suspensión inicial de la muestra y se inocula el medio nutritivo de cultivo. Se incuba el inóculo a 30°C por 72 horas y luego se cuenta el número de colonias formadas. El conteo sirve para calcular la cantidad de microorganismos por gramo o por centímetro cúbico de alimento.

4 o obtenido puede no reflejar el número real de microorganismos vitales (viables) en la muestra debido a las siguientes condiciones:

L
i
m
i
t
a
c
i
o
n
e
s

4.2.1 Las células microbianas suelen agruparse formando cadenas, grumos, racimos o pares y no separarse a pesar de la homogeneización y dilución de la muestra, por tanto, una colonia puede provenir de una célula individual o de un agrupamiento bacteriano.

4.2.2 Las células microbianas que han sufrido graves lesiones son incapaces de multiplicarse;

4.2.3 Las condiciones inadecuadas de aerobiosis, nutrición y temperatura; la presencia de inhibidores y el uso incorrecto.

d
e
l

5. DISPOSICIONES GENERALES

m
é
t
o
d
o

5.1 Todo el material a utilizarse en la determinación debe estar perfectamente limpio y estéril.

5.2 El área de trabajo debe estar constituida por una mesa nivelada, de superficie amplia, limpia, desinfectada, bien iluminada, situada en una sala de aire limpio, libre de polvo y corrientes de aire.

S
e

d
e
b
e

(Continúa)

c
o
n
s
i
d
e
r
a
r

DESCRIPTORES: Microbiología de los alimentos, ensayo, REP.

q
u
e

e
l

v
a
l
o
r

n
u
m
é
r
i
c

5.3 La carga microbiana del aire debe ser controlada durante el ensayo y, para una exposición del medio de cultivo a él por 15 min, no debe exceder de 15ufc/placa; de superarse este valor los ensayos deben ser anulados.

5.4 Todas las demás áreas del laboratorio deben estar libres de polvo, de insectos y guardar protegidos el material y suministros.

6. MATERIALES Y MEDIOS DE CULTIVO

6.1 Materiales

6.1.1 Pipetas serológicas de punta ancha de 1, 5 cm³ y 10 cm³ graduadas en 1/10 de unidad.

6.1.2 Cajas Petri de 90 mm x 15 mm,.

6.1.3 Erlenmeyer y/o frasco de boca ancha de 100 cm³, 250 cm³, 500 cm³ y 1 000 cm³ con tapa de rosca autoclavable.

6.1.4 Tubos de 150 mm x 16 mm

6.1.5 Gradillas

6.1.6 Contador de colonias

6.1.7 Balanza de capacidad no superior a 2 500 g y de 0,1 g de sensibilidad.

6.1.8 Baño de agua regulado a 45°C ± 1°C.

6.1.9 Incubador regulable (25°C - 60°C)

6.1.10 Autoclave.

6.1.11 Refrigeradora para mantener las muestras y medios de cultivo

6.1.12 Congelador para mantener las muestras a temperatura de -15°C a -20°C

6.2 Medios de cultivo

6.2.1 Agar para recuento en placa (Plate Count Agar). Preparación (ver Agares en la NTE INEN 1529-1)

6.2.2 Agua peptonada al 0,1 % (diluyente). Preparación (ver diluyentes en la NTE INEN 1 529-1)

7. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

7.1 Preparar la muestra según uno de los procedimientos indicados en la NTE INEN 1 529-2

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Para cada dilución el ensayo se hará por duplicado. En cada una de las cajas Petri bien identificadas se depositará 1 cm^3 de cada dilución. Para cada depósito se usará una pipeta distinta y esterilizada.

8.2 Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas aproximadamente 20 cm^3 de agar para recuento en placa–PCA, fundido y templado a $45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. La adición del medio no debe pasar de más de 45 minutos a partir de la preparación de la primera dilución.

(Continúa)

8.3 Cuidadosamente, mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén: 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y 5 veces en el contrario.

8.4 Como prueba de esterilidad verter agar en una caja que contenga el diluyente sin inocular. No debe haber desarrollo de colonias.

8.5 Dejar reposar las placas para que se solidifique el agar.

8.6 Invertir las cajas e incubarlas a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 a 75 horas.

8.7 No apilar más de 6 placas. Las pilas de placas deben estar separadas entre sí, de las paredes y del techo de la incubadora.

8.8 Pasado el tiempo de incubación seleccionar las placas de dos diluciones consecutivas que presenten entre 15 y 300 colonias y utilizando un contador de colonias, contar todas las colonias que hayan crecido en el medio, incluso las pequeñas, pero, se debe tener cuidado para no confundirlas con partículas de alimentos o precipitados, para esto, utilizar lupas de mayor aumento.

8.9 Las colonias de crecimiento difuso deben considerarse como una sola colonia si el crecimiento de este tipo de colonias cubre menos de un cuarto de la placa; si cubre más la placa no será tomada en cuenta en el ensayo.

8.10 Anotar el número de colonias y la respectiva dilución.

9. CALCULOS

9.1 Caso general (placas que contienen entre 15 y 300 colonias).

9.1.1 Calcular el número N de microorganismo por gramo o cm^3 de producto como la media ponderada de dos diluciones sucesivas utilizando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

En donde:

Σc = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas:

V = Volumen inoculado en cada caja Petri;

n_1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada:

n_2 = Número de placas de la segunda dilución seleccionada:

* = Factor de dilución de la primera diluciónseleccionada ($d = 1$ cuando se ha inoculado muestra líquida sin diluir).

9.1.2 Redondear los resultados obtenidos a dos cifras significativas. Cuando la tercera cifra comenzando por la izquierda es menor que 5, mantener inalterada la segunda cifra. Si la tercera cifra es mayor o igual a cinco, incrementar en una unidad la segunda cifra. Expresar como un número entre 1,0 y 9,9 multiplicado por 10^x , donde x es la correspondiente potencia de 10.

Ejemplo:

Se obtiene los siguientes resultados (dos placas por dilución):
 primera dilución seleccionada (10- 2): 225 y 178 colonias,
 segunda dilución seleccionada (10- 3): 25 y 15 colonias,

(Continúa)

$$N = \frac{225 + 178 + 25 + 15}{1(2 + 0,1 \times 2)10^{-2}}$$

$$= 443$$

$$N_{0,022}$$

$$** = 20136$$

Redondeando:

$$20\ 000 = 2,0 \times 10^4$$

9.2 Recuentos estimados

9.2.1 Si dos placas inoculadas con muestra no diluida (productos líquidos), o con la suspensión inicial (otros productos) o con la primera dilución inoculada o retenida contienen menos de 15 colonias, calcular el número estimado N_E de microorganismos presentes por gramo o cm^3 de producto como una media aritmética m de las colonias contadas en las dos placas utilizando la siguiente ecuación:

$$N_E = \frac{\Sigma c}{V \times n \times d}$$

Σc = suma de las colonias contadas en las dos placas;

V = volumen inoculado en cada placa;

n = número de placas seleccionadas (en este caso, $n = 2$).

d = factor de dilución de la suspensión inicial o de la primera dilución inoculada o seleccionada ($d = 1$ cuando se inocula un producto líquido sin diluir).

Ejemplo:

Se obtiene los siguientes resultados:

Primera dilución retenida (10- 2): 12 y 13 colonias.

$$N_E = \frac{12+13}{1 \times 2 \times 10^{-2}}$$

$$N_E = \frac{25}{0,02}$$

$$N_E = 1250$$

Redondeando

$$N_E = 1300$$

$$N_E = 1,3 \times 10^3$$

(Continúa)

En los productos líquidos, $N_E = m$

9.2.2 Si las dos placas inoculadas con la muestra sin diluir (productos líquidos), o con la primera dilución o con la suspensión inicial (otros productos) no presentan colonias, expresar los resultados de la siguiente manera:

$$N_E \leq \frac{1}{d}$$

En donde:

N_E = cantidad de microorganismos por gramo o por centímetro cúbico

d = factor de dilución (ver numeral 9.2.1)

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Informar como número N de microorganismos por g ramo o cm^3 de muestra utilizando solo dos cifras significativas, según lo indicado en el numeral 9.1.

10.1.1 El resultado obtenido en el ejemplo indicado en 9.1.2 se expresaría de la siguiente manera:

o N de microorganismos/g o $\text{cm}^3 = 2,0 \times 10^4$

10.1.2 El resultado obtenido en el ejemplo indicado en 9.2.1, se expresaría de la siguiente manera:

d N_E de microorganismos/g ó $\text{cm}^3 = 1,3 \times 10^3$

10.1.3 El resultado obtenido en el ejemplo indicado en 9.2.2 se expresaría de la siguiente manera:

- N_E de microorganismos/g ó $\text{cm}^3 \leq 1,0/d$

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-1:1999	<i>Control microbiológico de los alimentos. Preparación de medios de cultivo.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:1999	<i>Control microbiológico de los alimentos. Preparación de muestras.</i>

Z.2 BASES DE ESTUDIO

International Standard ISO 7218:1996 and *Amendment 1:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations*. International Organization for Standardization. Geneva, 1996.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 1529-5 **TÍTULO:** CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS. REP. **Código:** AL 01.05-303

ORIGINAL:

Fecha de iniciación del estudio:

REVISIÓN:

Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo

Oficialización con el Carácter de

por Acuerdo No. de

publicado en el Registro Oficial No. de

Fecha de iniciación del estudio:

Fechas de consulta pública: de

a

Comité Interno del INEN

Fecha de iniciación: 2005-01-12

Fecha de aprobación: 2005-01-12

Integrantes del Comité Interno:

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Dr. Ramiro Gallegos (Presidente)

DIRECTOR DEL ÁREA TÉCNICA
DE SERVICIOS TECNOLÓGICOS
ÁREA TÉCNICA DE SERVICIOS
TECNOLÓGICOS

Dra. Hipatia Navas

ÁREA TÉCNICA DE CERTIFICACIÓN
ÁREA TÉCNICA DE NORMALIZACIÓN

Dr. Hugo Ayala

Ing. Gonzalo Arteaga (Secretario Técnico)

Otros trámites: Esta NTE INEN 1529-5:2006 (Primera revisión), reemplaza a las NTE INEN 20:1973; NTE INEN 170:1975; NTE INEN 304:1980; NTE INEN 734:1985

Esta NTE INEN 1529-5:2006 (Primera revisión), ha sido confirmada en 2012-10-29

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2005-10-26

Oficializada como: Voluntaria

Por Acuerdo Ministerial No. 06-004 de 2006-01-02

Registro Oficial No. 188 de 2006-01-16 |

**Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno E8-29 y Av. 6 de
Diciembre Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2)2 501885 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567815
Dirección General: E-Mail:furresta@inen.gov.ec**

Área Técnica de Normalización: E-Mail:normalizacion@inen.gov.ec

Área Técnica de Certificación: E-Mail:certificacion@inen.gov.ec

Área Técnica de Verificación: E-Mail:verificacion@inen.gov.ec

Área Técnica de Servicios Tecnológicos: E-Mail:inencati@inen.gov.ec

Regional Guayas: E-Mail:inenguayas@inen.gov.ec

Regional Azuay: E-Mail:inencuenca@inen.gov.ec

Regional Chimborazo: E-Mail:inenriobamba@inen.gov.ec

URL:www.inen.gov.ec

Valores normales del conteo hemático.

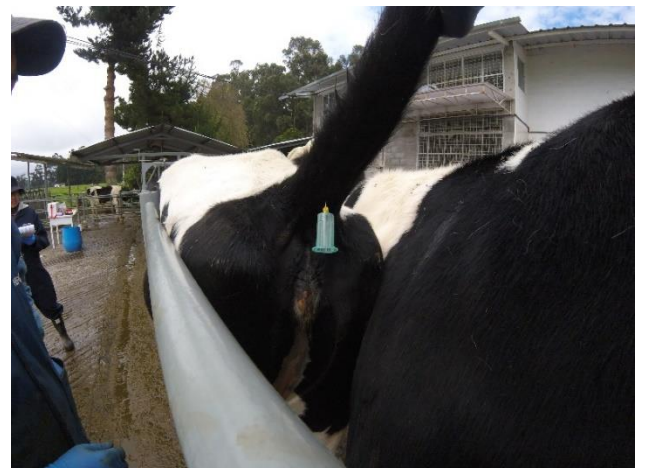
Componente	Unidad (S.I.)	Bovino
Hematócrito	$\times 10^{-2}$ l/l	24-46
Hemoglobina	$\times 10$ g/l	8-15
Eritrocitos	$\times 10^{12}$ /l	5-10
Recuento plaquetas	$\times 10^{11}$ /l	1-8
Leucocitos	$\times 10^9$ /l	4-12
Linfocitos	$\times 10^9$ /l	2-7
Monocitos	$\times 10^9$ /l	0.02-0.85
Eosinófilos	$\times 10^9$ /l	0-2.4
Basófilos	$\times 10^9$ /l	0-0.2

HEMATOLOGÍA	Unidad	BOVINOS
Hematíes	mill/mm ³	5 - 10
Leucocitos	/mm ³	4.000 - 12.000
Hematocrito	%	24 - 46
Hemoglobina	gr./dl	8 - 15
V.C.M.	fl	40 - 60
H.C.M.	pg	11 - 17
C.H.C.M.	%	30 - 36
Plaquetas	$\times 10^3$ /ul	100 - 800
Eritrosedimentación	mm	30': 0 60': 0
Fórmula leucocitaria		
Neutrófilos segmentados	%	15 - 45
Neutrófilos en cayado	%	0 - 2
Eosinófilos	%	2 - 20
Linfocitos	%	45 - 75
Basófilos	%	0 - 2
Monocitos	%	2 - 7

MATERIALES



TOMA DE MUESTRA SANGRE





Recepción de muestras y procesamiento en el laboratorio.

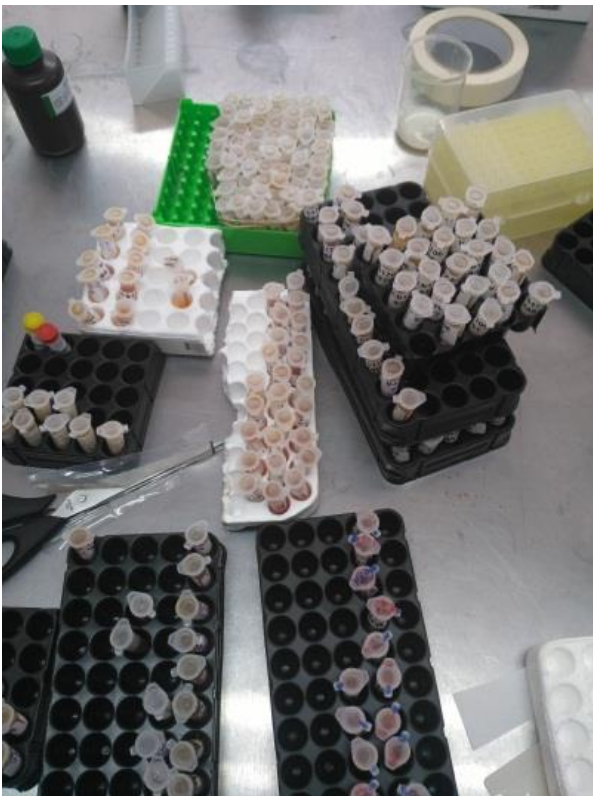


Foto 3 Corrido de la prueba -Test ELISA Competitivo- Indirecto.

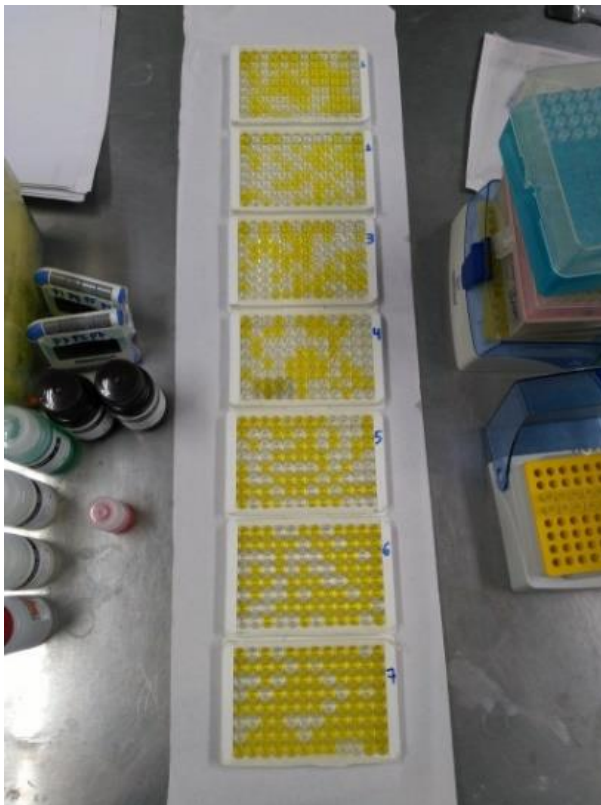


Foto 4 Resultados Biometría Hemática

 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASESORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRICULTOR	LABORATORIOS DE LA DIRECCIÓN DE DIAGNÓSTICO ANIMAL Vía Intercolectiva Km. 143 y Elay Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Telf: 02-2372-842/2372-844/2372-845	PGT/DA/09-FO01
	INFORME DE ANÁLISIS	

Informe N°: 1M-P-1b17-428
Fecha emisión Informe: 03/07/2017

DATOS GENERALES	
Cliente: MARITZA SEMA Propietario: AGRIOLA SAN AGUSTIN Nombre del predio: AGRICOLA SAN AGUSTIN Provincia: COTACACHI Parroquia: MULLAJO Motivo del Análisis: FEVS Fecha de recepción de la muestra: 22/06/2017 Fecha de muestreo: 22/06/2017 Fecha de inicio del análisis: 22/06/2017	Dirección: AV. AMAZONAS Y RAFAEL ANZOBI N° de Orden de Trabajo: DA-2017-CGLS-1472 Gajón o factura: 0196 M Dirección Financiera/VIA SAN AGUSTIN DE CALLO Cantón: LATACUNGA Especie: BOVINO N° y Tipo de muestra: 100 SANGRE + EDTA Muestreado por: MARITZA SEMA - MIGUEL GUTIERREZ Diagnóstico solicitado: BIOMETRIA HEMATICA Fecha finalización del análisis: 03/07/2017

Identificación del Animal (si aplica): N/A

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

TÉCNICA: BIOMETRIA HEMATICA MÉTODO: PEE/P/L

Nro.	CÓDIGO DE MUESTRA DEL LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA DE CAMPO	CGR x 10 ¹² /L	Hcto %	Hb g/dl	VCM fl	HCM Pz	CHCM g/dl	CGR 10 ¹² /L	N %	L %	M %	PQT /mm ³	OBSERVACIONES
1	PAb1706-2196	3220	7,24	34,31	11,7	47	16,2	34,2	8,55	4,35	47,6	1,7	621	
2	PAb1706-2197	1604	5,06	22,93	8,1	45	16,1	35,6	8,74	1,67	73,8	7,1	224	
3	PAb1706-2198	2205	9,08	39,6	13,9	44	15,3	35	8,17	5,28	32,1	3,2	337	
4	PAb1706-2199	1447	6,22	29,54	10,5	47	16,8	35,5	7,01	3,95	41,5	2,3	529	
5	PAb1706-2200	2038	6,9	30,12	10,5	44	15,7	34,8	10,73	3,95	78,1	0,9	322	
6	PAb1706-2201	2224	8,31	38,17	11,1	46	15,8	34,4	10,36	7,09	30,3	1,4	364	
7	PAb1706-2202	2248	7,99	35,88	12,9	45	16,2	35,9	8,86	6,5	25,5	1,1	95	
8	PAb1706-2203	2195	7,16	32,74	11,5	49	18	35,6	11,14	5,38	48,3	3,3	599	
9	PAb1706-2204	1998	9,33	42,41	14,7	45	15,7	34,6	18,39	7,15	52,3	6,8	255	

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. No se prohíbe la reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.




TOMA DE MUESTRA LECHE

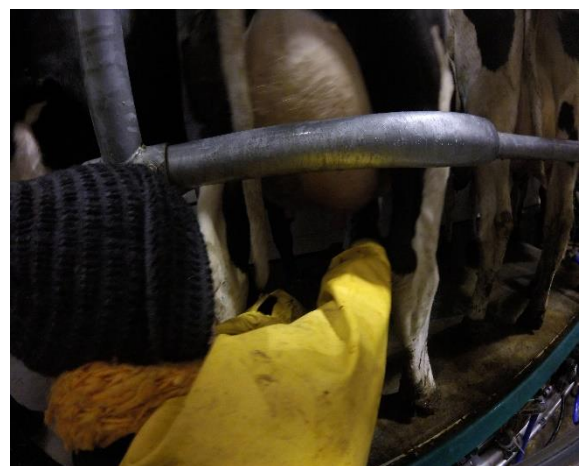
Embaces nuevos, estériles, agrupados en fundas de 20 recipientes



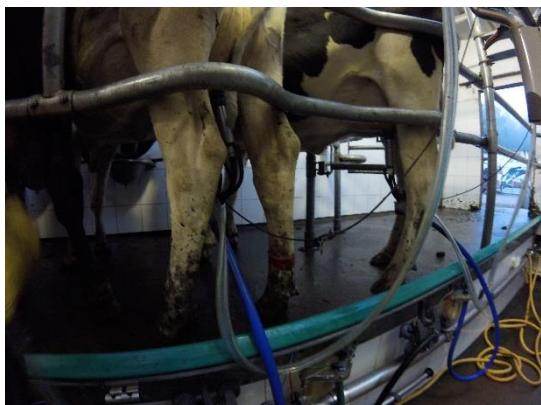
Sistema de Ordeño automatico “Westfalia”



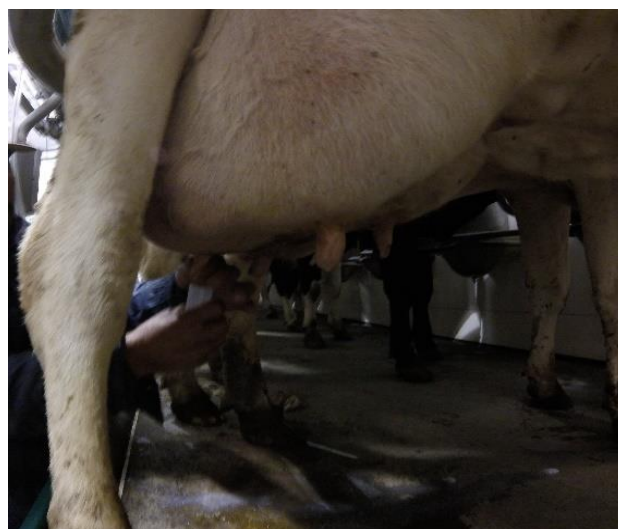
Limpeza y desinfección de las ubres y despunte.



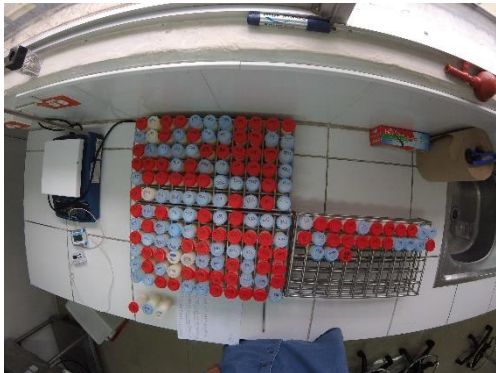
Colocación de pezoneras, y rango de 3 minutos pendiente de ordeño para retirada y toma de muestra.



Toma de muestra de cada pezón.



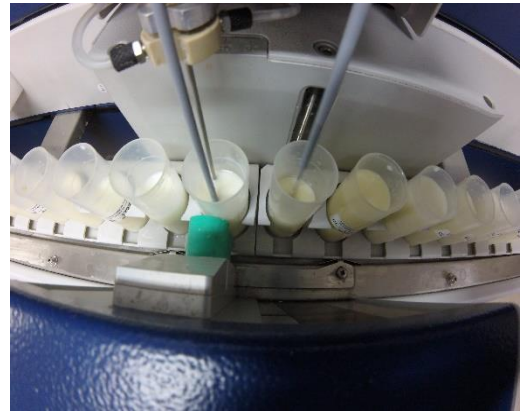
PRPCESO DE MUESTRA DE LECHE EN EL LABORATORIO





ANALISIS EN FOSSOMATIC





ANÁLISIS EN MILCOSCAN





BACTO SCAN

