

Real time-PCR, una herramienta útil para detectar copias del virus de la leucosis bovina

GUILLERMINA LAURA DOLCINI

Laboratorio de Virología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). Tandil, Buenos Aires, Argentina

gdolcini@vet.unicen.edu.ar

El virus de la leucosis bovina (BLV) es un retrovirus exógeno que pertenece al género *Deltaretrovirus* de la familia *Retroviridae*. Este virus envuelto infecta naturalmente a los linfocitos B causando la leucosis enzoótica bovina (LEB), una enfermedad que comúnmente afecta a los rodeos lecheros. Aproximadamente el 30 % de los bovinos infectados con BLV desarrollan linfocitosis persistente (LP), y entre el 1 y el 10 % de estos animales manifiestan linfosarcoma (LFS); el resto del ganado permanece asintomático. La LEB tiene una distribución mundial; en Argentina, la prevalencia individual y predial de infecciones por BLV es del 80-90 %. La infección tiene un impacto económico importante en la industria láctea, dado por pérdidas directas (muerte de animales, meses de lactancia, etc.) e indirectas (bajo rendimiento o performance productiva, pérdida de mercados, etc.). Además de afectar a los linfocitos B, el BLV altera el normal funcionamiento de los linfocitos T y monocitos; por otro lado, la infección podría conducir a una disfunción de la inmunidad mediada por células, por lo tanto el trastorno inmunológico resultante puede contribuir al desarrollo de infecciones oportunistas en el ganado infectado. Luego de la infección por BLV, no existe viremia detectable, pero sí una fuerte y persistente respuesta inmune humoral a proteínas

estructurales: la glicoproteína de la envoltura gp51 y la proteína de la cápside p24. El diagnóstico se basa en métodos serológicos para la detección de anticuerpos dirigidos contra dichas proteínas, con técnicas de difusión en gel de agar o ELISA. Técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son herramientas útiles y sensibles para la detección rápida y temprana del ADN proviral del BLV en células sanguíneas, semen, órganos y muestras tumorales. Utilizando una *real time-PCR* (qPCR), en nuestro grupo de trabajo hemos determinado que existen dos perfiles de infección. Uno de ellos es el formado por animales que desarrollan alta carga proviral (ACPV), con más de 100.000 copias de provirus/microgramo de ADN, que poseen elevados títulos de anticuerpos anti-gp51 y anti-p24; en este grupo se encuentran los bovinos infectados que desarrollan LFS y LP, además del 40 % de los infectados asintomáticos. El segundo perfil está integrado por animales con menos de 1000 copias de provirus/microgramo de ADN y los clasificamos como de baja carga proviral (BCPV), poseen títulos de anticuerpos anti-gp51 significativamente inferiores respecto a los de ACPV y anticuerpos anti-p24 indetectables; en este grupo se encuentra el 60 % de los bovinos infectados asintomáticos. Dado que los animales con BCPV poseen exigua cantidad de linfocitos infectados, la transmisión del virus a partir de ellos es prácticamente nula y su permanencia en el rodeo constituye una ventaja. Desde hace varios años, nuestro grupo se ha abocado al estudio de la respuesta inmune frente al virus en los bovinos con los distintos perfiles de infección. Los animales con ACPV presentan un perfil anti-apoptótico y pro-proliferativo, mientras que los animales de BCPV pueden ser controladores de la infección/diseminación viral, ya que mantienen un estado pro-apoptótico, relacionado a una menor respuesta proliferativa, junto a una mayor expresión de citoquinas de perfil Th1. Esta expresión diferencial de citoquinas también se evidenció a nivel de glándula

mamaria. Por otro lado, frente al estrés calórico, los animales con ACPV presentan una mayor alteración en la homeostasis que los de BCPV, lo cual se traduciría en una deficiencia de su sistema inmunológico. Aún no existe una vacuna efectiva contra el BLV. Los programas de control de la LEB se basan en la detección de animales serológicamente positivos y su eliminación, segregación o manejo diferencial. Dadas las prevalencias de infección por BLV en nuestro país, estas prácticas no son viables. Utilizando la qPCR, proponemos como posible alternativa de control la selección de animales según su carga proviral, reemplazando a los animales infectados de ACPV por animales de BCPV, ya que estos últimos, además de poseer una respuesta celular más eficaz, serían menos eficientes para transmitir el virus.

Palabras clave: virus de la leucosis bovina, carga proviral, *real time-PCR*.