

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA
LEUCOSIS BOVINA UTILIZANDO LA PRUEBA DE ELISA
EN EL HATO LECHERO DEL INSTITUTO INDÍGENA
SANTIAGO, UBICADO EN LA ZONA 7 DE MIXCO,
DURANTE EL AÑO 2014**

ALEJANDRA MATTA MORALES

Médica Veterinaria

GUATEMALA, AGOSTO DE 2016

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LEUCOSIS
BOVINA UTILIZANDO LA PRUEBA DE ELISA EN EL HATO
LECHERO DEL INSTITUTO INDÍGENA SANTIAGO, UBICADO EN
LA ZONA 7 DE MIXCO, DURANTE EL AÑO 2014**

**TRABAJO DE GRADUACION
PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD**

**POR
ALEJANDRA MATTA MORALES**

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, AGOSTO DE 2016

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	MSc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Egdar Amílcar García Pimentel
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Marylin Eliza Reyes Valenzuela
VOCAL V:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

M.V. SERGIO FERNANDO VÉLIZ LEMUS
M.V. ALEJANDRO JOSÉ HUN MARTÍNEZ

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LEUCOSIS BOVINA UTILIZANDO LA PRUEBA DE ELISA EN EL HATO LECHERO DEL INSTITUTO INDÍGENA SANTIAGO, UBICADO EN LA ZONA 7 DE MIXCO, DURANTE EL AÑO 2014

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

A DIOS Y LA VIRGEN MARÍA: Quienes me han guiado durante toda mi vida por el camino correcto.

A MI HIJO: Santiago Sandoval por ser la fuente de mi alegría y mi inspiración para convertirme en una mejor persona y seguir creciendo como profesional.

A MIS OTROS DOS AMORES: Estuardo Sandoval y Matías Sandoval estar siempre para mí, regalándome su amor, alegría, apoyo y comprensión.

A MIS PADRES: Thelma Morales y Guillermo Matta por haberme apoyado durante toda mi carrera estudiantil, por ser siempre mis modelos a seguir y brindarme todo su apoyo, amor y protección.

A MIS HERMANOS: Raúl, Judy, Xime, Rodri y el chino, por siempre una fuente de alegría y amor.

A MIS ABUELOS: Mamalicia (Q.E.P.D) y Papa Mario por su inmenso amor y ser siempre una fuente de inspiración.

A MIS SOBRINOS: Diego y Damían, por ser mis primeros amores y enseñarme como ser una mejor mamá.

- A MIS TIOS Y PRIMOS:** Por siempre estar a mi lado y enseñarme lo importante que es que la familia sea unida.
- A MIS AMIGOS:** Ari, Dana, Link, Olson, Poncho, Pablito y demás por todos los momentos lindos que pasamos juntos en nuestra carrera y seguimos pasando a pesar de la distancia.
- A MIS ALUMNOS:** Porque muchos de ellos me enseñaron mas de lo que yo les enseñé a ellos.
- A LA ESTUDIANTINA
DE LA FMVZ USAC:** Por esos años de alegría musical y grandes experiencias.
- A MIS CATEDRATICOS:** Por todas sus enseñanzas y paciencia.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: Por ser parte fundamental de mi formación académica.

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA: Por la formación profesional que me brindo en sus aulas, viviendo buenos y difíciles momentos.

A MIS ASESORES: Por su ayuda, apoyo y paciencia en la realización de esta tesis.

A MIS CATEDRATICOS: Por todas sus enseñanzas y tiempo.

A MIS AMIGOS: Por los lindos momentos que pasamos juntos y sobre todo por siempre ser una fuente de apoyo.

A MI FAMILIA: Por su amor y apoyo incondicional.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
	3.1 Objetivos generales	4
	3.2 Objetivos específicos	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
	4.1 Leucosis Enzootica Bovina.....	5
	4.1.1 Etiología	6
	4.1.2 Epidemiología	6
	4.1.3 Predisposición genética	9
	4.1.4 Transmisión.....	9
	4.1.5 Formas de presentación	12
	4.1.6 Sintomatología	13
	4.1.7 Diagnóstico	13
	4.1.8 Diagnósticos diferenciales	15
	4.1.9 Control y erradicación	15
	4.2 Prueba de ELISA.....	16
	4.2.1 ELISA Directo.....	17
	4.2.2 ELISA Indirecto	18
	4.2.3 Pasos generales de un ELISA	19
	4.2.4 ELISA Sandwich “DAS” (Double Antibody Sandwich).....	19
	4.2.5 ELISA Sandwich “HADAS”	20
	4.2.6 ELISA Competitivo	21
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	24
	5.1 Materiales.....	24
	5.1.1 Recursos Humanos.....	24
	5.1.2 Recursos Biológicos.....	24
	5.1.3 Recursos de campo	24

5.1.4 Recursos de laboratorio	25
5.1.5 Gabinete.....	25
5.2 Métodos.....	25
5.2.1 Localización del estudio	25
5.2.2 Población del estudio	26
5.2.3 Metodología de campo.....	26
5.2.4 Metodología de laboratorio	27
5.2.5 Análisis estadístico.....	27
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
6.1 Resultados.....	28
6.2 Prevalencia.....	28
6.3 Análisis estadístico	28
6.4 Análisis y discusión de resultados.....	28
VII. CONCLUSIONES.....	30
VIII. RECOMENDACIONES	31
IX. RESUMEN.....	32
SUMMARY	33
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
XI. ANEXOS	36
10.1 Anexo 1	37
10.2 Anexo 2	38
10.3 Anexo 3	39
10.4 Anexo 4	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.1

Resultado de la prueba de ELISA, septiembre 2014 38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.1	
Mecanismos de Transmisión de la Leucosis Bovina	10
Figura No.2	
Fases de un proceso de ELISA directo	18
Figura No.3	
Fases de un proceso de ELISA indirecto.....	19
Figura No.4	
Fases de un proceso de ELISA competitivo	22
Figura No.5	
Hoja de Examen Clínico	37
Figura No.6	
Porcentaje de animales positivos y negativos según la prueba de ELISA, SEPTIEMBRE de 2014.....	39
Figura No.7	
Clasificación de los animales positivos a LEB según su edad, SEPTIEMBRE de 2014	39

I. INTRODUCCIÓN

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) es una enfermedad de distribución mundial, siendo de mayor incidencia en los sistemas de producción láctea en sistemas intensivos. Por esta razón países desarrollados o con gran interés en la exportación de lácteos, como Australia y Nueva Zelanda, tienen programas para su control y erradicación.

La LEB es provocada por un virus, el cual puede llegar a infectar a un elevado porcentaje de los bovinos de un hato. Sin embargo, solo un porcentaje pequeño desarrollan síntomas clínicos. Uno de los síntomas por la que está caracterizada esta enfermedad es por la presencia de tumores, siendo en estos casos mortal. El resto de los animales que no desarrollan síntomas, son la principal fuente de contagio, ya que son portadores del virus el resto de sus vidas. Su transmisión es de forma horizontal y rara vez de forma vertical. El método de diagnóstico es por la determinación de la presencia de anticuerpos.

La prueba de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) es un técnica serológica, que puede ser usada para detectar cualquier anticuerpo o antígeno conocido. Combina la especificidad de los anticuerpos con la sensibilidad de un ensayo enzimático, mediante el uso de anticuerpos o de antígenos unidos a una enzima fácilmente detectable. La detección es posible gracias a la conversión enzimática de un sustrato en un producto coloreado.

En el hato del Instituto Indígena Santiago se cuenta con certificado libre de Brucelosis y Tuberculosis extendido por el MAGA. Entre las enfermedades que mas frecuentemente se presentan y que podrían estar asociados a la LEB tenemos papilomatosis, anaplasmosis, piroplasmosis y mastitis.

Este proyecto de investigación pretendió detectar anticuerpos contra LEB en el hato lechero del Instituto Indígena Santiago, por medio de la prueba de ELISA y para determinar si la enfermedad está presente en el hato.

II. HIPÓTESIS

Los animales del hato lechero perteneciente al Instituto Indígena Santiago presentan anticuerpos contra Leucosis Bovina.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivos generales

- Contribuir con el diagnóstico de enfermedades del hato bovino en el Instituto Indígena Santiago.
- Establecer la presencia de Leucosis Enzootica Bovina en el hato bovino del Instituto Indígena Santiago.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia de anticuerpos de Leucosis bovina por medio de la prueba de ELISA.
- Establecer si existe asociación entre la edad y el resultado de la prueba a LEB.
- Determinar la presencia de síntomas clínicos correspondientes al cuadro clínico de LEB.
- Establecer la prevalencia de LEB en el hato bovino.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Leucosis Enzoótica Bovina

La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una enfermedad de distribución mundial, siendo de mayor incidencia en los sistemas de producción de leche. Es por esta razón que los países desarrollados o con interés en la exportación de lácteos, como Australia y Nueva Zelanda, tienen programas para su control y erradicación. (Mangold, Maciel, Abdala & Castelli, 1999)

El agente etiológico de la LEB es un virus que puede llegar a infectar a un elevado porcentaje de los bovinos de un hato. Sin embargo solo un número bajo de ellos, generalmente mayores de tres años, pueden desarrollar síntomas clínicos de la enfermedad, caracterizada por la presencia de tumores (linfosarcomas) y siendo mortal en estos casos. El resto de los bovinos infectados que no desarrollan la enfermedad clínica constituyen el principal foco de infección, puesto que son portadores de por vida del virus. La forma de detectarlos es determinando la presencia de anticuerpos. De los bovinos que tienen anticuerpos contra el virus de la LEB, en un 30% está incrementado el número de glóbulos blancos (fundamentalmente linfocitos) en sangre circulante y se les denomina bovinos con linfocitosis persistente. Es importante su detección porque representan una elevada fuente de contagio. (Mangold et al.,1999)

Existen algunas evidencias de que las vacas infectadas y sin síntomas clínicos de la enfermedad pueden tener una menor producción de leche y una disminución de la respuesta inmunológica a otras enfermedades. Además, es una limitante para la exportación de vacunos y la comercialización del semen y embriones. (Mangold et al.,1999)

4.1.1 Etiología

Es causada por un virus ARN de la familia Retroviridae tipo “C”, de la subfamilia Oncoviridae y género Deltavirus, que causa linfosarcomas. El virus es morfológicamente similar a los virus de la leucemia de otras especies y puede crecer en cultivo tisular. Se presenta con mayor frecuencia en los animales mayores de tres años, con una morbilidad alta en mayores de ocho años y con menos frecuencia en animales menores de tres años y rara vez ocurre en animales menores de dos años. La mortalidad varía de 2 al 5%. La incidencia es mayor en rebaños grandes que en pequeños. (González, Oliva & Etcheverrigaray, 1998)

El virus de la LEB, como otros retrovirus, está compuesto por ARN, proteínas, glicosiladas y no glicosiladas, además de una enzima ADN polimerasa-ARN dependiente (transcriptasa reversa). (Cano & Camacho, 2010)

Inmunológicamente está relacionado con el virus de la Leucosis Ovina, una enfermedad probablemente idéntica a LEB y con los virus de las leucemias humanas a células T (HTLV-1 y HTLV). (Cano et al., 2010)

4.1.2 Epidemiología

Los bovinos son los únicos animales que se infectan en forma natural y se consideran como el principal y mas importante hospedero del virus de la LEB. La infección no extiende de bovinos a ovinos cuando estos animales están mezclados, ni lo hace en forma experimental entre ovinos infectados y no infectados. (Ochoa, 1998)

Se han encontrado y se han registrado muertes debido al linfosarcoma, pero estos casos han sido tan raros que se han tratado como el resultado de una

transmisión accidental de LEB mas que una evidencia de que las ovejas tengan una reserva significativa del virus.

En bovinos, la infección por LEB es permanente, y no se ha demostrado que ocurra recuperación espontanea. Esto probablemente se debe a la localización del virus en linfocitos en un estado no manifiesto ni productivo, lo que causa incapacidad para formar anticuerpos para detener la infección. La multiplicación del virus no es necesaria para su supervivencia o transmisión. Además de su localización, el virus es capaz de sufrir cambios antigénicos periódicos, para así escapar al control que ejercen los mecanismos de inmunidad. Por tanto, el animal infectado sigue siendo fuente de infección durante largos lapsos, quizá toda su vida, independientemente de la existencia simultánea en el animal de anticuerpos específicos. (Ochoa, 1998)

En los países templados, las conversiones serológicas de los animales son mas numerosas al final del verano. Los casos tumorales aparecen en cualquier momento del año.

4.1.2.1 Fuentes del virus

La fuente del virus casi exclusiva está representada por los bovinos infectados. El virus de la LEB está presente en los linfocitos de los animales infectados, así que toda materia extraída de los un bovino infectado y que contenga linfocitos, puede ser virulenta.

4.1.2.1.1 La sangre

Solamente en la fracción celular de la sangre se alberga el virus. No obstante en el caso de almacenamiento prolongado de la muestras, el virus puede aislarse también en plasma sanguíneo, debido a la lisis celular. El nivel de viremia

puede apreciarse investigando la cantidad mínima de sangre de un bovino infectado necesaria para transmitir la enfermedad: 1/100 de gota puede ser suficiente. Se ha demostrado que la sangre de un bovino puede ser infecciosa hasta, más o menos quince días antes de la aparición de los anticuerpos séricos. La transmisión de la infección se asegura en forma mas eficaz con la ayuda de los linfocitos infectados que con una suspensión de partículas virales. (Ochoa, 1998)

4.1.2.1.2 Calostro y la leche

El virus se ha puesto en evidencia en la leche y en el calostro de vacas infectadas.

4.1.2.1.3 El esperma

Parece que el esperma no es virulento en condiciones normales. No obstante, las lesiones traumáticas o inflamatorias podrían permitir, en ciertos casos, su contaminación por intermedio de los linfocitos. (Ochoa, 1998)

4.1.2.1.4 Otras Secreciones

En orina y heces la investigación del virus por la inoculación al cordero, se ha mostrado siempre negativa.

Se ha demostrado que la virulencia de la saliva es de un 30%.

El virus se ha aislado de la fracción celular del liquido de lavado bronquial en el 66% de los casos. En el 33% de los casos, la secreciones nasales se han revelado virulentas (fracción celular únicamente). Estos resultados no son

sorprendentes por la razón de flujo permanente que existe entre la circulación general y el pulmón. (Ochoa, 1998)

4.1.3 Predisposición genética

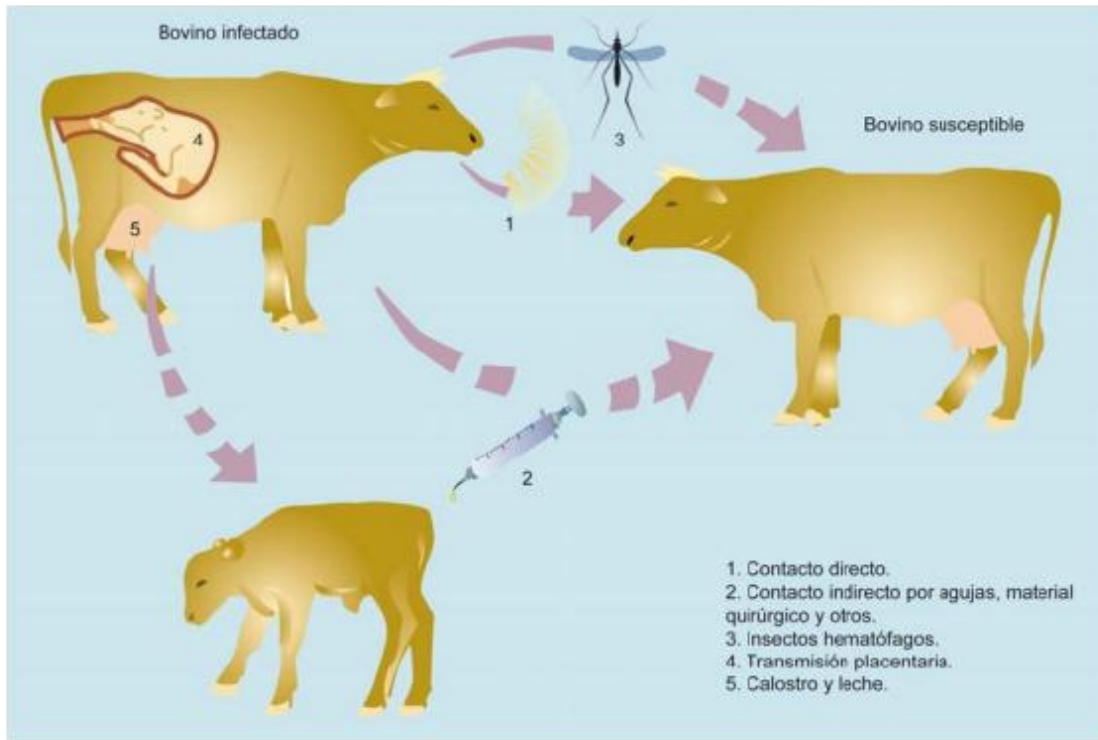
Existe una notable tendencia familiar a la enfermedad, y si bien el mecanismo no es del todo claro, hay pruebas preliminares de que la resistencia a la infección por el virus de la LEB está determinada por factores genéticos. El desarrollo de tumores entre los animales infectados con el virus de la LEB está influenciado por factores virológicos, genéticos e inmunológicos. (Ochoa, 1998)

Se ha reconocido por largo tiempo que existe la posibilidad que factores genéticos que influyan en el desarrollo de tumores en animales infectados con LEB, ya que se ha registrado numerosos casos de tumor dentro de ciertas familias. Estudios han confirmado esta susceptibilidad genética en la formación de tumores. Estos también proporcionan evidencia que la linfomatosis persistente como una respuesta a la infección por el virus de la LEB puede estar relacionada con factores hereditarios (Ochoa, 1998)

4.1.4 Transmisión

La transmisión de la enfermedad puede ser horizontal (de bovino a bovino) o vertical (de la madre a hijo). Los artrópodos hematófagos parásitos de los bovinos (tábanos, mosca brava) podrían ser otra vía de diseminación de la infección.

Figura No. 1 Mecanismos de Transmisión de la Leucosis Bovina



Fuente: infortambo,1999

Cuando el número de bovinos y la carga animal por unidad de superficie son altos la transmisión horizontal se ve facilitada porque el hacinamiento favorece el contacto físico y la transmisión del virus. (Servicio Agrícola Ganadero, 2000)

4.1.4.1 Transmisión directa

El bovino infectado es la fuente de diseminación del virus, por lo que la transmisión horizontal es la más importante y la que produce mayor cantidad de nuevos infectados. Esta ocurre por el traspaso de los glóbulos blancos (linfocitos) infectados con el virus de un bovino enfermo o portador a otro sano. En las secreciones y fluidos biológicos (sangre, leche, calostro, secreción nasal, saliva, semen y orina) se puede encontrar linfocitos infectados, pero la mayor proporción de ellos se encuentra en la sangre de los bovinos enfermos o portadores. Por lo tanto, todas las prácticas tales como extracción de sangre, vacunación castración,

descorne, inyección de medicamentos, cirugía, palpación rectal, tatuaje, etc. que se realicen sin respetar las medidas higiénicas, son las vías más importantes de transmisión. (Mangold et al., 1999.)

4.1.4.1.1 Vía oral

La transmisión oral a un ternero por el calostro o leche ha sido demostrada en condiciones experimentales. El papel de la leche y el calostro, a pesar de su carácter potencialmente virulento, parece limitado en condiciones naturales en relación a los factores de contacto. (Bolaños, 1983)

4.1.4.1.2 Vía respiratoria

La instilación de un aerosol virulento vía intranasal permite reproducir la infección. La inoculación intratraqueal de 5-10% de linfocitos ha provocado en un 100% la infección de los bovinos.

Siendo las materias de expectoración de los bovinos infectados son potencialmente virulentas y juegan un papel importante en la transmisión.

Experimentalmente la infección se logra por inyección subcutánea, intradérmica y por infusión intratraqueal y no por vía oral. La transmisión experimental de bovinos a ovinos es tan fácil que se ha convertido en la técnica de elección para demostrar la presencia del virus. Se produce con éxito la transmisión experimental utilizando tumores o virus del cultivo tisular en bovinos, ovinos y caprinos, formándose solamente tumores en los rumiantes.

4.1.4.1.3 Vía venérea

Parece existir un agente espermático inactivante del virus, lo que explicaría las dificultades de aislamiento del virus en el espermatozoide de los bovinos infectados.

El papel de esta vía en la transmisión es menor. Por otra parte no existe ninguna publicación que manifieste actualmente que ha habido casos de transmisión venérea en condiciones naturales. (Ochoa, 1998)

El virus no se ha detectado en semen, u ovocitos ni en embriones bovinos.

4.1.4.1.4 Trasmisión intrauterina

La transmisión vertical es de menor importancia, ya que menos del 10% de los terneros nacidos de vacas infectadas son seropositivos gracias a la barrera placentaria.

4.1.5 Formas de presentación

4.1.5.1 Leucosis esporádica

Es de causa desconocida y se presenta de tres formas: leucosis del ternero o multicéntrica (casos aislados, no transmisible), leucosis tímica en animales jóvenes hasta un año de edad y leucosis cutánea en jóvenes y adultos (Servicio Agrícola Ganadero, 2000)

4.1.5.2 Leucosis tumoral

Se observan procesos proliferativos que afectan a órganos o tejidos productores de células sanguíneas como médula ósea, bazo y ganglios linfáticos. (Servicio Agrícola Ganadero, 2000)

4.1.5.3 Leucosis enzoótica del tejido linfático

Es la presentación más frecuente, los linfonodos aumentados de volumen se encuentran infiltrados con células leucocitarias o tumorales. Hay esplenomegalia con puntillado blanquecino por filtración celular. La ruptura del bazo produce hemorragia interna y muerte súbita del animal. También se describe protusión del globo ocular, corazón con infiltración en velos valvulares y nódulos en riñones e intestino. (Servicio Agrícola Ganadero,2003)

4.1.6 Sintomatología

Se caracteriza por múltiples casos en un mismo rebaño de linfosarcomas multicéntricos en bovinos adultos. Estos se desarrollan rápidamente en muchos sitios, provocando diversos síntomas. Se pueden encontrar tumores firmes de color blanco en cualquier órgano. En animales jóvenes los tumores pueden encontrarse en riñón, timo, hígado, bazo y en nódulos linfáticos internos y periféricos. En adultos es común encontrarlos a nivel de corazón, abomaso y médula espinal. También se puede encontrar el aumento del volumen de los nódulos linfáticos palpables e internos, crecimiento que puede ser a simple vista o mediante palpación rectal, y linfocitosis persistente. (Cano et al.,2010)

4.1.7 Diagnóstico

El diagnóstico de los bovinos con linfosarcoma es relativamente sencillo para el Médico Veterinario clínico. La detección de los animales con linfocitosis persistente y de los bovinos infectados sin signos clínicos, requiere de la ayuda de un laboratorio. Las técnicas para la detección de los animales infectados puede ser:

4.1.7.1 Detección de anticuerpos

4.1.7.1.1 Prueba de inmunodifusión en agar gel (IDA)

Es sencilla y la de uso mas difundido para la detección de anticuerpos. Esta prueba tiene algunas limitaciones

- Solo detecta la presencia de anticuerpos seis semanas después de la infección.
- No debe de ser utilizada para la detección de anticuerpos un mes antes del parto.
- Utilizarla después de los seis meses de edad (porque antes revela anticuerpos maternos)
- Se necesitan 48 horas para obtener el resultado. (Manual Merk de Veterinaria, 2007)

4.1.7.1.2 Enzimo-inmunoensayo (Prueba de ELISA)

Tiene las mismas limitaciones que la anterior cuando se usa en terneros. La prueba de ELISA tiene la ventaja de detectar la presencia de anticuerpos antes que la prueba de IDA. Además, se puede realizar de forma automatizada y el resultado se obtiene dentro de las 24 horas. (Mangold et al.,1999)

Para el diagnóstico de bovinos con linfocitosis persistente, se debe hacer el recuento de glóbulos blancos y la fórmula leucocitaria relativa en la sangre de los animales con serología positiva. Aquellos que presenten un marcado incremento en el número de linfocitos, indicaría mayor capacidad para dispensar la enfermedad. Este sería un método complementario de la detección de anticuerpos para definir la eliminación de animales infectados. (Manual Merk de Veterinaria, 2007)

4.1.7.2 Detección del virus

4.1.7.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica permite detectar la presencia del ADN del virus en la sangre con anterioridad a la detección de anticuerpos. Su costo y complejidad la restringe a ser utilizada en los trabajos de investigación. (Mangold et al., 1999)

4.1.8 Diagnósticos diferenciales

Los principales diagnósticos diferenciales de los cuadros clínicos de linfosarcoma son Tuberculosis, Paratuberculosis, Reticulopericarditis Traumática y Carbunco Bacteriano (por la ruptura y/o el tamaño del bazo).

4.1.9 Control y erradicación

La metodología a seguir para el control y la erradicación depende de: la edad de los animales afectados, el porcentaje de los animales infectados en el hato, la estructura y las prácticas de manejo. (Manual Merck de Veterinaria, 2007)

Si la tasa de infección es baja (menor del 10%), es conveniente eliminar a los animales positivos, implementar medidas de manejo higiénico-sanitarias estrictas y realizar el control serológico cada tres meses para ir descartando animales positivos. (Manual Merck de Veterinaria, 2007)

Cuando no haya animales con serología positiva, se realizará un control anual, manteniendo siempre las medidas de higiene en las prácticas semiológicas y quirúrgicas habituales. (Manual Merck de Veterinaria, 2007)

En los casos donde todos los animales hayan dado resultado negativo en dos controles consecutivos, el establecimiento podrá declararse libre de leucosis.

A partir de ese momento se hará un seguimiento serológico anual. Todos los bovinos que se incorporen deben ser serológicamente negativos y se mantendrán aislados del resto. Si a los tres meses resultasen negativos a una nueva prueba podrán incorporarse al resto. (Manual Merck de Veterinaria, 2007)

Si el porcentaje de animales positivos es alto (mayor al 10%), se deberán establecer estrictas medidas de control en todas aquellas prácticas que involucren transferencia accidental de cualquiera de los fluidos biológicos. (Manual Merck de Veterinaria, 2007)

Una vez identificados los animales seronegativos, se deberá ordeñar a las vacas infectadas al final.

Se realizará un control serológico periódico a todos los animales seronegativos mayores de seis meses, y los animales positivos se deberán eliminar lo mas pronto posible. (Manual Merck de Veterinaria, 2007)

4.2 Prueba de ELISA

El ELISA se basa en el uso de los 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 lo tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico, y al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. (Vizcaíno, 2004)

Los diferentes tipos de ELISA son los que se enumeran a continuación:

1. Anticuerpos marcados:
 - ELISA Directo
 - ELISA Indirecto
 - ELISA Sandwich Doble (DAS)
 - ELISA Sandwich Heterólogo (HADAS)

2. Antígeno marcado:
 - ELISA competitivo

4.2.1 ELISA Directo

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble (“tapizado”) de antígenos específicos. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición de anticuerpos marcados (“conjugados”) con una enzima. Si los anticuerpos reaccionan con los antígenos, el complejo quedará solubilizado. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionando.
- Adición de un sustrato 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. (Vizcaíno, 2004)

Figura No.2 Fases de un proceso de ELISA directo



Fuente: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>

4.2.2 ELISA Indirecto

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición del suero problema, de tal forma que sus anticuerpos reaccionarán específicamente con los antígenos fijados al soporte. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de anti-anticuerpos conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los anticuerpos específicos añadidos en el paso anterior y que se encuentran fijados a los antígenos. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de un sustrato 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. (OIE, 2004)

Figura No.3 Fases de un proceso de ELISA indirecto



Fuente: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>

4.2.3 Pasos generales de un ELISA

1. Tapizado del pocillo con el antígeno o anticuerpo.
2. Adición de la muestra problema con la mezcla de antígenos o anticuerpos.
3. Unión del antígeno o anticuerpo específico al anticuerpo o antígeno tapizado en el pocillo.
4. Lavado del pocillo para eliminar el exceso de antígeno o anticuerpo no unido.
5. Adición del anticuerpo secundario marcado con la enzima.
6. Unión del anticuerpo secundario al antígeno o anticuerpo.
7. Lavado del pocillo para eliminar el exceso de la enzima no unida.
8. Adición del sustrato.
9. Unión del sustrato a la enzima.
10. Desarrollo del color (OIE, 2004)

4.2.4 ELISA Sandwich “DAS” (Double Antibody Sandwich)

Consta de las siguientes etapas:

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

- Adición de la muestra problema (extracto vegetal, sangre, suero, plasma, etc.), de tal forma que si está presente el agente patógeno de diagnóstico (antígeno), reaccionará específicamente con los anticuerpos fijados al soporte. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados.
- Adición de anticuerpos específicos del antígeno a detectar (deben tener un epítipo diferente de los anticuerpos con los que se han tapizado el soporte) conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra problema y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionando.
- Adición de un sustrato 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. (Vizcaíno, 2004)

4.2.5 ELISA Sandwich “HADAS”

Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición de la muestra problema (extracto vegetal, sangre, suero, plasma, etc.), de tal forma que si está presente el agente patógeno de diagnóstico (antígeno), reaccionará específicamente con los anticuerpos fijados al soporte. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados.
- Adición de anticuerpos específicos del antígeno a detectar (deben tener un epítipo diferente de los anticuerpos con los que se han tapizado el soporte), los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra

problema y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos que no hayan reaccionado.

- Adición de anticuerpos conjugados con una enzima anti-anticuerpos empleados en el paso anterior. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de un sustrato 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 (OIE, 2004)

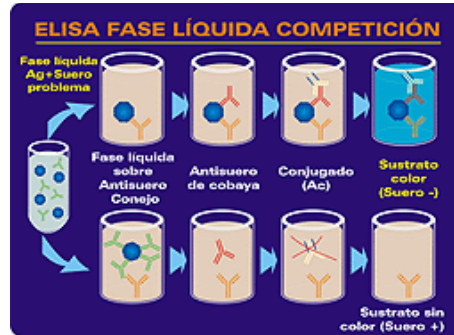
4.2.6 ELISA Competitivo

Consta de las siguientes etapas:

- 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. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado.
- Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcada. 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 tiene 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 de la muestra. (OIE, 2004)

Figura No.4 Fases de un proceso de ELISA competitivo



Fuente: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>

Todos los tipos de ELISAs descritos se pueden resumir en dos grandes grupos:

- ELISAs para detectar antígenos: ELISAs Sandwich.
- ELISAs para detectar anticuerpos: ELISAs indirectos.

La fase sólida debe ser de un tipo que permita un fácil manejo (especialmente en los procesos de lavado) y la reproducibilidad de la unión de los antígenos o anticuerpos sobre su superficie. Las microplacas de 96 pocillos y un volumen de 350 microlitros son especialmente ventajosas para procesar un elevado número de muestras y una vez tapizadas, el material inmovilizado permanece reactivo mucho tiempo siempre que se mantenga seco y a baja temperatura. Normalmente se utilizan microplacas de poliestireno de fondo plano que pueden adquirirse estériles y con o sin tapa. (Cultek, 2006)

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 pueden realizarse manualmente con micropipetas o con

equipamiento para la automatización de todas y cada una de las etapas.
(Cultek,2006)

Esta completa automatización se justifica por la necesidad de procesar y analizar un gran número de muestras y necesita una elevada repetitividad de resultados. (Vizcaíno, 2004)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos Humanos

- Tesista
- Médicos Veterinarios encargados del laboratorio de inmunología
- Técnicos
- Asesores

5.1.2 Recursos Biológicos

- Muestras sanguíneas de 22 bovinos

5.1.3 Recursos de campo

- Jeringas de 10ml
- Agujas #18
- Tubos de ensayo sin anticoagulante
- Hielo
- Lazos
- Nariguera
- Libreta
- Lapicero
- Termómetro
- Reloj
- Estetoscopio

5.1.4 Recursos de laboratorio

- Kit de ELISA para Leucosis bovina (ELISA indirecto)
- Micropipetas
- Pocillos
- Cronómetro
- Centrífuga
- Recipientes para jabón
- Recipientes para sustrato

5.1.5 Gabinete

- Marcador permanente
- Block de notas
- Lapicero
- Computadora
- Impresora
- Hojas de papel bond

5.2 Metodología

5.2.1 Localización del estudio

El instituto Indígena Santiago se encuentra ubicado en el Km 15 de la Calzada Roosevelt, zona 7 de Mixco, apartado 17 “B”-01903 en la Ciudad de Guatemala, Guatemala.

El instituto cuenta con un hato de ganado bovino lechero que consta de 22 animales en total (3 terneras, 5 novillas, 12 reproductoras y un semental). En este hato han estado presentes enfermedades como anaplasmosis, piroplasmosis,

mastitis y papilomatosis, pero también está declarado por el MAGA que es un hato libre de brucelosis y tuberculosis.

Además se cuenta con otras especies de animales como aves de postura, de engorde, de traspatio, faisanes, codornices, pavo reales, conejos, pericas chocoyas, porcinos, ovinos, tortugas.

5.2.2 Población del estudio

Se emplearon los 22 bovinos del hato de ganado lechero del Instituto Indígena Santiago.

5.2.3 Metodología de campo

- Las muestras y el examen clínico se realizaron en los corrales donde se encuentra el ganado, con la ayuda del Médico Veterinario y los técnicos del Instituto.
- Se les realizó examen clínico de nódulos linfáticos palpables y sus constantes fisiológicas. (**ver anexo 1**)
- Las muestras sanguíneas fueron obtenidas de la vena yugular, mamaria o caudal, luego fueron colocadas en los tubos de ensayo sin anticoagulante debidamente identificados con los números y/o nombres de los animales.
- Las muestras fueron colocadas en una superficie a 45° para la obtención del suero.
- Estas muestras fueron colocadas en la hielera con hielo para su posterior transporte.

5.2.4 Metodología de laboratorio

- Primero se colocaron 50 microlitros de los sueros control en los fositos, siendo los primeros dos de la primera columna negativos y los dos siguientes positivos.
- Se colocó 50 microlitros de las muestras (suero).
- Se colocó 50 microlitros de buffer #1.
- Se tapó con papel de aluminio, e incubamos a 21°C por 1 hora.
- Se lavó 3 veces con jabón.
- Se agregó el conjugado.
- Se incubó por 30 minutos a 21°C.
- Se lavó 3 veces con jabón.
- Se colocó el sustrato #5.
- Se incubó por 20 minutos a 21°C.
- Se llevó al espectrofotómetro.
- Se ingresaron los datos que nos pide el programa.
- Se esperó unos minutos por el resultado.
- Se interpretaron los resultados.

5.2.5 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de estadística descriptiva y graficas.

La prevalencia describe la proporción de la población que padece de la enfermedad, que queremos estudiar en un momento determinado.

Para ello debemos saber el numero total de población, el numero de casos y sustituirlo en la siguiente ecuación: $P = \frac{\text{número de casos}}{\text{total de la población}}$

Y para determinar la asociación se utilizó la prueba de *Chi Cuadrada*.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Resultados

Se muestrearon a los 22 animales del hato y 9 de ellos salieron seropositivos a LEB. (**ver anexo 2**)

Ninguno de los animales tenía los nódulos linfáticos infartados y sus constantes fisiológicas estaban dentro del rango normal.

6.2 Prevalencia

La prevalencia establecida fue:

$$P = \frac{9}{22} = 0.41 = 41\%$$

6.3 Análisis estadístico

Al realizar el análisis estadístico, no se encontró asociación estadística significativa ($P > 0.53$) entre la edad y el padecimiento de LEB, es decir, todas las edades fueron susceptibles de padecerla.

6.4 Análisis y discusión de resultados

Se examinó clínicamente y se realizó el análisis de 22 muestras sanguíneas correspondientes a todo el hato bovino lechero perteneciente al Instituto Indígena Santiago, ubicado en el kilómetro 15 de la Calzada Roosevelt, zona 7 de Mixco. El grupo de animales estaba compuesto por 21 hembras de distintas edades y 1 semental.

En el examen clínico se revisaron los nódulos linfáticos palpables a todos los animales, para ver si alguno se encontraba infartado como se describe en la literatura. De todos los animales examinados, ninguno presentó linfadenopatía.

En los resultados obtenidos se encontró que en 9 de los 22 animales (41%) hay presencia de anticuerpos contra LEB, los cuales fueron detectados por medio de la prueba de ELISA. Las edades más afectadas fueron 3 años con el 50%, 4 años con 40% y 7 años con el 100% de la población positiva. (**ver anexo 3 y 4**)

Los animales menores de 2 años que se encuentran positivos, no fueron infectados de forma vertical, pues las madres de ellas no se encontraban positivas, lo que concuerda con la teoría, pues se habla que menos del 10% se contagian de forma vertical. En este caso, la forma de transmisión más importante en el hato es la horizontal. Durante el tiempo que duró el estudio no se observó problema de ectoparásitos, pues se cuenta con un buen plan profiláctico contra ellos. Es probable que la transmisión se haya dado por malas prácticas de ordeño, debido a que no solo los técnicos encargados eran los que ordeñaban sino también los alumnos del instituto y muchas veces lo realizaban sin supervisión del técnico. Debemos tomar en cuenta que la LEB se transmite por cualquier tejido o fómite que lleve linfocitos B de algún animal seropositivo.

Debido a que la enfermedad está presente en el hato sin sintomatología lo ideal es eliminar a todos los animales positivos para poseer un hato libre de LEB y así evitar la diseminación de la enfermedad.

VII. CONCLUSIONES

- A la población del hato bovino lechero del Instituto Indígena Santiago se le detectaron anticuerpos contra LEB por medio de la prueba de ELISA.
- No se encontró asociación estadística significativa ($P > 0.53$) entre la edad y el resultado de la prueba de Elisa, todas las edades son susceptibles de padecer LEB
- No hay presencia de sintomatología correspondiente a LEB en ningún animal perteneciente a el hato lechero.
- La prevalencia de la LEB en el Instituto Indígena Santiago es de 41%.
- La LEB se esta propagando dentro del hato de forma horizontal, pues las terneras seropositivas son hijas de animales seronegativos.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la eliminación de los animales positivos a LEB para evitar la propagación de la enfermedad tanto dentro del hato como fuera de el.
- Establecer estrictas medidas de control en todas aquellas prácticas que involucren transferencia accidental de cualquiera de los fluidos biológicos.
- Al momento del ordeño dejar de ultimo a las vacas seropositivas para evitar la propagación de la enfermedad.
- Evitar el contacto de algún animal seropositivo con otro animal con las defensas bajas para no permitir que la enfermedad se transmita.
- Realizar periódicamente exámenes serológicos para asegurarse que la enfermedad no se esté transmitiendo.

IX. RESUMEN

La Leucosis enzoótica bovina es una enfermedad de distribución mundial, la cual puede infectar a un alto porcentaje de animales en el hato. Aunque solo un pequeño porcentaje presenta síntomas clínicos, el resto de animales infectados serán portadores de la enfermedad de por vida.

La prueba de ELISA es una técnica de inmunoensayo, en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color.

En este proyecto se le corrió a todo el hato bovino una prueba de ELISA y un examen clínico, con el propósito de detectar anticuerpos contra Leucosis bovina, para así contribuir con el diagnóstico de las enfermedades presentes en el Instituto Indígena Santiago y así evitar la diseminación de la mismas.

Se les realizó un examen clínico y se les tomó una muestra sanguínea a la totalidad del hato lechero, se extrajo el suero y fue transportado al laboratorio de Microbiología de la FMVZ USAC, en donde se les corrió la prueba de ELISA para LEB. Luego los resultados serán interpretados con un espectrofotómetro.

De los 22 animales muestreados, al 41% se le detectaron anticuerpos contra LEB, pero ninguno de ellos presentó síntomas al momento de realizárseles el examen clínico. Los porcentajes más altos de animales infectados se encuentran en las edades de 4, 3 y 7 años.

SUMMARY

The enzootic bovine leukosis (EBL) is a worldwide spread virus, with a high percentage of infection throughout the herd. Although, only a small percentage of animals has shown clinical symptoms, the rest of them will carry the disease for life.

The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is a test that uses a solid-phase enzyme immunoassay to detect the presence of an immobilized antigen. This can be detected by an antibody that is linked to an enzyme producing a signal, most commonly a color change in the substrate.

For this project the ELISA test and a clinic test were performed throughout the herd with the purpose of detecting antibodies that will fight EBL and will contribute to the diagnose of current diseases at the Instituto Indigena Santiago and avoid the dissemination of such.

Clinic test and blood sample was taken from the dairy cattle. The serum was extracted and sent to the FMVZ USAC microbiology Laboratory where the ELISA test was run to screen for EBL. Then, the results will be interpreted with an spectrophotometer.

Of the 22 animals that were sampled, 41% presented EBL antibodies but none of them had symptoms by the time the clinic test was taken. The highest percentage of infected animals was found between the ages of 4, 3 and 7.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bolaños, J.D. (1983). *Estudio hematológico para el diagnóstico de leucosis enzootica bovina en vacas lecheras del municipio de Nahulingo, departamento de Sonsonate, El Salvador, C.A.* Tesis de Licenciatura, FMVZ/USAC: Guatemala.

Cano, J., Camacho, L., (2010). *Leucosis Viral Bovina*. Recuperado de www.fmvz.unam.mx/fmvz/.../LEUCOSIS%20VIRAL%20BOVINA.doc

Cultek. (2006). *Fundamentos y tipos de ELISAs*. Recuperado de <http://www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf>

Giraud, J., Bérnago, E., Schneider, M., Magnano, G., Macias, A., Sticotti, E., y Mació, M. (2010). *Leucosis Enzootica Bovina*. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciones/bovinos_en_general/24-leucosis_enzootica.pdf

Gonzalez, T., Oliva, G. y Etcheverrigaray, M. (1998). *Leucosis bovina: principales características del agente etiológico y enfermedad*. Recuperado de http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/4918/4802_vccxffv-

Mangold, A., Maciel, M., Abdala, A., y Castelli, M. (1999). *Leucosis Bovina*. Recuperado de <http://rafaela.inta.gov.ar/revistas/inf0999.htm>

Manual Merck de Veterinaria.(2007). *Leucosis bovina*. Barcelona, España: Oceano.



Ochoa, D.R. (1998). *Estudio serológico sobre leucosis viral bovina enzoótica a través de la prueba de inmunodifusión en agar gel en tres fincas de ganado de cría del parcelamiento el Pilar, la democracia, Escuintla*. Tesis de Licenciatura, FMVZ/USAC: Guatemala.

Organización Mundial de Sanidad Animal. (2004). *Leucosis Enzootica bovina*. Recuperado de http://web.oie.int/esp/normes/manual/pdf_es/2.3.04_Lecosis_bovina.pdf

Servicio Agrícola y Ganadero, División de Pecuaria. (2000). *Leucosis Enzootica Bovina*. Recuperado de <http://historico.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hMMVT7CcdlYGkqbEUrBdDus%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=37826>

Toma, B., Eliot, M., Y Savey, M. (1990). *Las enfermedades animales por retrovirus: leucosis bovina enzoótica, anemia infecciosa de los équidos, artritis/encefalitis caprina*. Recuperado de <http://www.oie.int/doc/ged/d9426.pdf>

Universidad Nacional Autónoma de México. (2008). *Leucosis bovina*. Recuperado de http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04LeucosisBovina.pdf

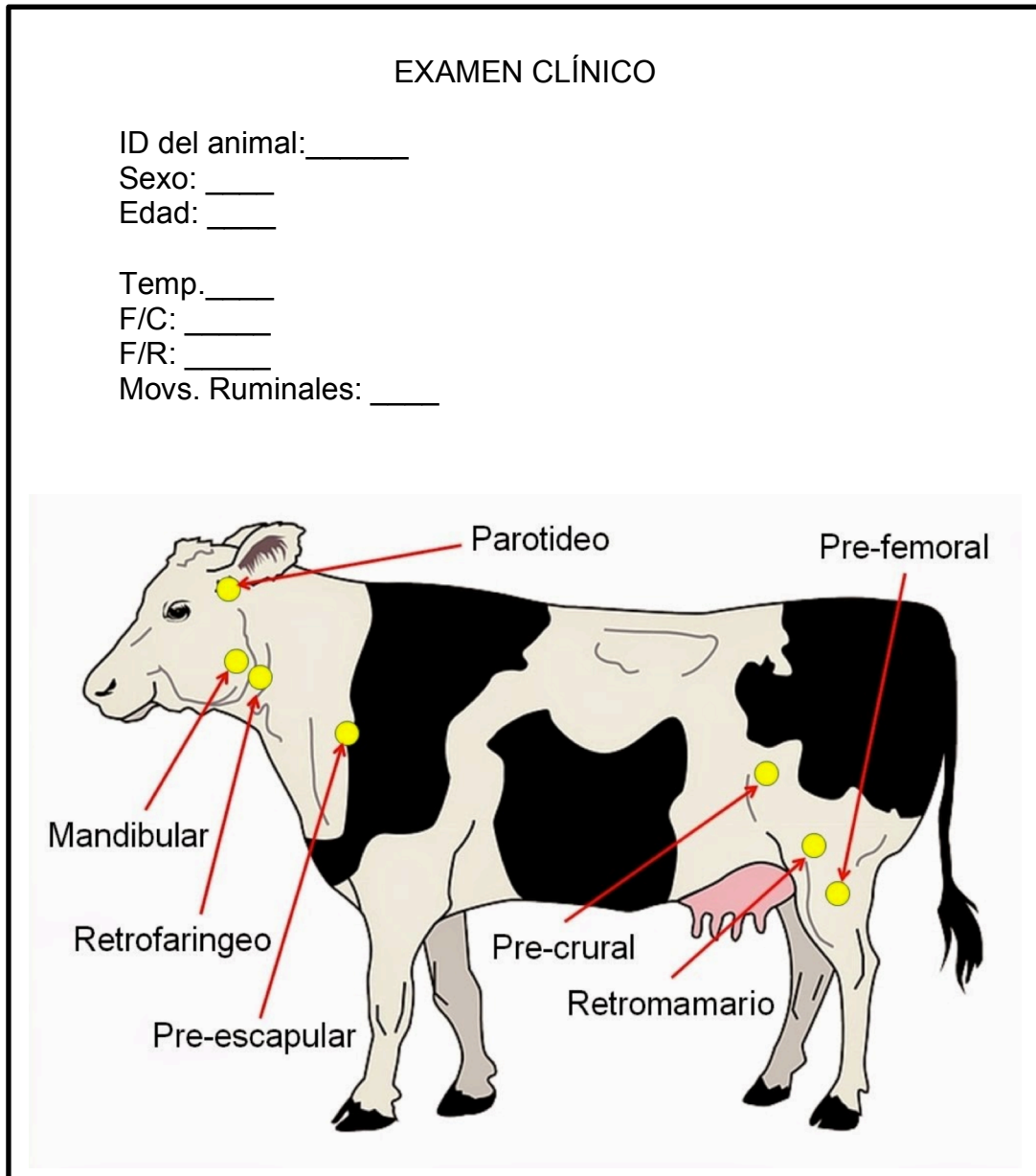
Vizcaíno, J. (2004). *Como se estudian las inmunoglobulinas*. Recuperado de <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>



XI. ANEXOS

10.1 Anexo 1

Figura No. 5 Hoja de Examen Clínico



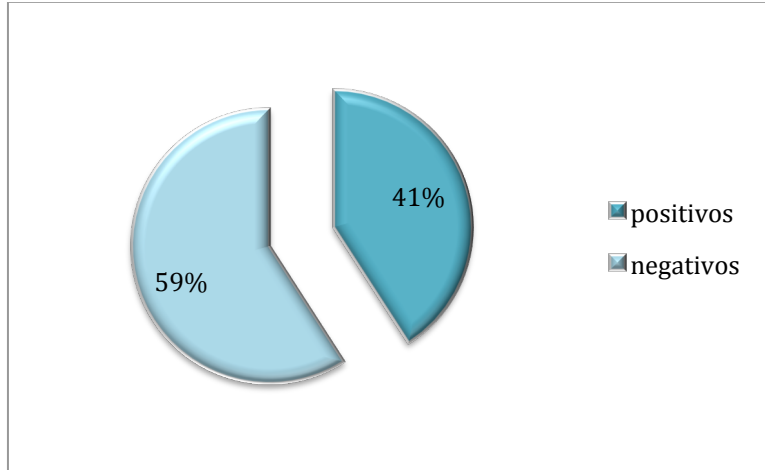
10.2 Anexo 2

Cuadro No.1 Resultado de la prueba de ELISA, septiembre 2014

Número	ID	Sexo	Edad	Color	Raza	Resultado
1	10	F	4 ^a	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
2	189	F	2 ^a 3M	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
3	182	F	4 ^a 6M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
4	07	F	3 ^a 9M	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
5	184	F	1 ^a 10M	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
6	23	F	11M	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
7	11	F	3 ^a 3M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
8	25	F	11M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
9	185	F	2 ^a 11M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
10	188	F	4 ^a	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
11	179	F	7M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
12	04	F	7 ^a	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
13	16	F	2 ^a 3M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
14	JOSE	M	4 ^a	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
15	178	F	7M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
16	13	F	3 ^a 3M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
17	15	F	3 ^a 9M	Overo de negro	Holstein	POSITIVO
18	14	F	1 ^a 8M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
19	180	F	5M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
20	21	F	1 ^a 2M	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
21	17	F	4 ^a	Overo de negro	Holstein	NEGATIVO
22	183	F	7 ^a	Overo de negro	Holstein	POSITIVO

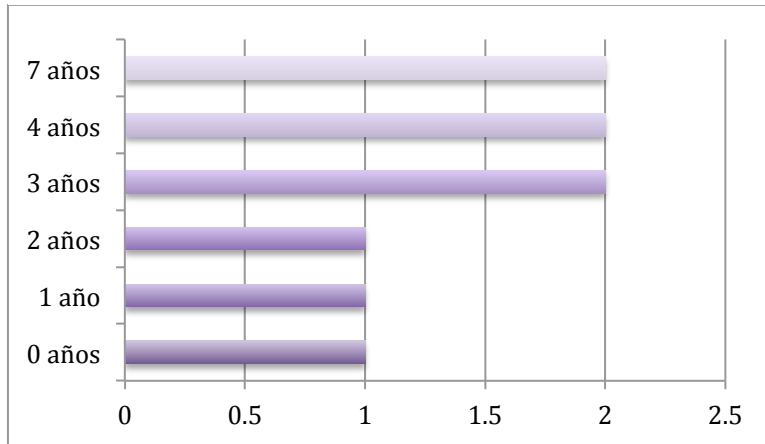
10.3 Anexo 3

Figura No.6 Porcentaje de animales positivos y negativos según la prueba de ELISA, SEPTIEMBRE de 2014



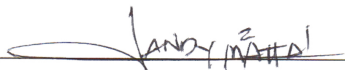
10.4 Anexo 4

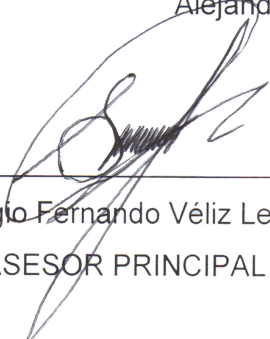
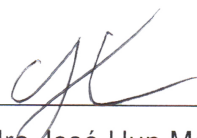
Figura No.7 Clasificación de los animales positivos a LEB según su edad, SEPTIEMBRE de 2014

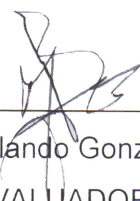


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

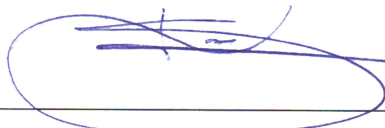
DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LEUCOSIS BOVINA
UTILIZANDO LA PRUEBA DE ELISA EN EL HATO LECHERO DEL
INSTITUTO INDÍGENA SANTIAGO, UBICADO EN LA ZONA DE 7 DE
MIXCO, DURANTE EL AÑO 2014

f. 
Alejandra Matta Morales

f.  f. 
M.V. Sergio Fernando Véliz Lemus M.V. Alejandro José Hun Martínez
ASESOR PRINCIPAL ASESOR

f. 
M.Sc. Fredy Rolando González Guerrero
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. 
M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO

