

AUSENCIA DE TRANSMISIÓN VERTICAL DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA EN BECERROS DE VACAS POSITIVAS A LA INFECCIÓN

Absence of Vertical Transmission of the Bovine Leukemia Virus in Calves Born of Cows Positive to the Infection

Carlos Marín A.^{*1}, Nancy Medina de L.^{*}, Ramón Rodríguez^{***}, Carlos Marín R.^{**},
Luisa Palencia de A.^{*}, Morela Ramírez de R.^{*} y Oneyda J. Ramírez M.^{***}

^{*}Instituto de Investigaciones Veterinarias. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-Ceniap). ^{**}Instituto de Agronomía. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-Ceniap). Apartado 588. Maracay 2101. ^{***}Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV. Apartado 4563. Maracay 2101

^{****}Médico Veterinario Especialista en Reproducción Animal en Ejercicio Libre

Correo-E: cmarinap@hotmail.com

Recibido: 26/01/17 - Aprobado: 27/11/17

RESUMEN

La leucosis enzoótica bovina es una enfermedad oncogénica transmisible, producida por un retrovirus (Deltaretrovirus tipo C), virus de la leucosis bovina (VLB), causante de una infección subclínica en bovinos adultos y una forma pseudoleucémica linfoproliferativa (linfocitosis persistente); además, del 1 al 5% de los animales infectados desarrollan la forma tumoral multicéntrica. A pesar de los avances en el conocimiento de esta enfermedad, persisten controversias epidemiológicas, particularmente la transmisión transplacentaria. Para esclarecer dicha controversia, se hizo una investigación para la cual se seleccionaron 43 vacas gestantes seropositivas y 48 seronegativas, detectadas mediante la prueba de inmunodifusión en agar-gel (IDAG), induciéndoles el parto con prostaglandina-F_{2α}, para controlar el nacimiento de los becerros y evitar el contacto con el VLB en calostro y leche materna. Al nacer, se les extrajo sangre para serología. Un total de 91 becerros se distribuyeron en 3 grupos: Grupo I: 27 becerros de vacas seropositivas que no se les permitió mamar calostro ni leche. Grupo II: 16 becerros de vacas seropositivas que solo mamaron calostro. Grupo III: 48 becerros de vacas seronegativas que mamaron calostro y leche. Se

ABSTRACT

Bovine leukemia virus (BLV) is an oncogenic transmissible disease caused by the bovine leukemia virus, a type C delta-retrovirus, which provokes a subclinic infection in adult cattle and a type of proliferative pseudoleukemia (persistent lymphocytosis). Furthermore, 1 to 5% of the animals develop a multicentric tumoral form. Despite advances in the knowledge of this pathology, epidemiological controversies persist, particularly the transplacental transmission. To clarify them, 43 BLV-serological positive and 48 BLV-serological negative pregnant cows, detected by the agar-gel immune diffusion test (AGID) were selected. Parturition was induced with prostaglandin-F_{2α} to control calves birth and to avoid contact with BLV from cow's colostrum and milk. At birth, blood was collected for serology. A total of 91 calves were studied and randomly assigned to three groups: Group I: 27 calves born to serum positive cows that were not allowed to ingest milk or colostrum; Group II: 16 calves born to serum positive cows, which were only fed colostrum; Group III: 48 calves born to serum negative cows, which were fed colostrum and milk. A sterile and frozen colostrum pool was prepared from serum

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

preparó un banco de calostro estéril y congelado, de vacas seronegativas. Los grupos se aislaron durante 4 meses, alimentándose con sustitutos lácteos y posteriormente pastorearon en potreros libres de garrapatas y con control de moscas. Al finalizar el primer año del ensayo, todos los becerros de los tres grupos resultaron negativos a la IDAG. En el segundo año, del total de becerros, 83 (95,6%) mantuvieron resultados negativos a la IDAG y 8 (4,4%) mostraron seroconversión positiva. De éstos 4 becerros (2,2%) pertenecían al grupo II y los otros 4 (2,2%) al grupo III. El tiempo de aparición de la infección por VLB en becerros infectados fue 15 ± 4 meses. Se concluye que no ocurrió transmisión vertical del VLB, no representando la ingestión de calostro riesgo de infección.

(Palabras clave: Retrovirus; leucosis enzoótica bovina; VLB; linfocitosis persistente; calostro; transmisión vertical, becerros)

negative cows. All groups were isolated for 4 months, fed with dairy substitutes and grazed in tick-free, with a strict fly control. At the end of the first year of the trial, all calves from the three groups were negative to the AGID test. In the second year, of the total calves, 83 (95.6%) remained negative results to the IDAG and 8 (4.4%) showed positive serum conversion to BLV. Of these, 4 calves (2.2%) belonged to group II and the other 4 (2.2%) to group III. The time of appearance of BLV infection in infected calves was 15 ± 4 months. It is concluded that BLV vertical transmission did not occur and colostrum ingestion does not represent a risk of infection.

(Key words: Retrovirus; bovine enzootic leukosis; BLV; persistent lymphocytosis; colostrum; vertical transmission; calves)

INTRODUCCIÓN

El conocimiento cabal de la historia natural y, en particular, de los aspectos epidemiológicos de cualquier enfermedad, es indispensable para la implementación de estrategias sanitarias que permitan un control efectivo de la misma, más aún tratándose de enfermedades tan complejas como es el caso de la leucosis enzoótica bovina, la cual es producida por el virus de la leucosis bovina (VLB), el mismo que ocasiona el “linfoma maligno de los bovinos” [1]. Este virus pertenece a la familia Retroviridae, subfamilia Oncovirinae, género *Deltaretrovirus* tipo C. Constituye la neoplasia más común del ganado bovino, cuyo agente fue aislado e identificado al final de los años sesenta [2], y no fue sino hasta décadas recientes, cuando se tuvo un conocimiento más preciso de su caracterización patogénica e inmunobioquímica molecular [3, 4].

En la esfera inmunológica, los linfocitos son las células efectoras determinantes para que se produzca la infección y la transmisión por el VLB, la cual ocurre mediante penetración directa o indirecta con sangre o cualquiera de los líquidos orgánicos que contengan células linfoides infectadas, por lo cual el bovino permanecerá de por vida, produciendo

anticuerpos (Ac) específicos, sin desarrollar signos clínicos. Aproximadamente, un tercio (30%) de los bovinos infectados se caracterizan por manifestar un aumento permanente y constante de la fracción de linfocitos B no transformados, constituyendo esto, una expresión pseudoleucémica o preneoplásica, denominada “linfocitosis persistente”, en la cual el ADN del provirus se integra a numerosos sitios del ADN de los linfocitos, sin causar ninguna anomalía cromosómica [3, 4]. Además, solo del 1 al 5% de los animales infectados desarrolla tumores linfoides originados por linfocitos B transformados. Numerosas investigaciones se han realizado para determinar los mecanismos y formas de transmisión horizontal del VLB por transferencia de linfocitos infectados, bien por contacto estrecho a través de sangre, secreciones y excreciones (calostro, leche, semen, heces, orina, saliva, etc.) de bovinos infectados ó por picaduras de insectos y procedimientos iatrogénicos [5, 6].

Marín *et al.* [7, 8] demostraron la susceptibilidad natural a la infección del VLB, de especies afines al *Bos taurus* como el *Bos indicus* y de especies lejanas filogénicamente como búfalos (*Bubalus bubalis*) y ovejas (*Ovis aries*), cuando conviven con bovinos infectados, induciendo una seroconversión a la infección natural y actuando, entonces, como

reservorios o portadores del virus. Tal es el caso del chigüire o capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) que convive en forma extensiva con bovinos en sabanas, ríos y lagunas. En lo concerniente a la transmisión transplacentaria o vertical, existen muchas controversias en cuanto al papel que pudiera tener la placenta en la transmisión vertical del virus [9, 13].

En razón de lo arriba expuesto, el propósito de esta investigación fue demostrar mediante seguimiento serológico, la ausencia de transmisión vertical del virus de la leucosis bovina en becerros nacidos de vacas positivas a la infección. Se planteó la hipótesis de la ausencia de transmisión vertical del VLB, por lo que se diseñó una investigación epidemiológica de tipo prospectivo longitudinal para la detección de anticuerpos precipitantes específicos resultantes de la infección del VLB en becerros provenientes de vacas seropositivas y seronegativas, desde el momento del nacimiento hasta los 12 meses de edad, y su continuidad hasta los 24 meses.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Ensayo

El ensayo se realizó en la Estación Experimental “Santa María”, propiedad de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela y ubicada en la carretera nacional Cagua-Villa de Cura en el estado Aragua.

Animales

Inicialmente, se contaba con un rebaño de 250 vacas Holstein puras, con elevados índices ($\geq 58\%$) de infección por el VLB [14]. Se diseñó la presente investigación epidemiológica para hacerle seguimiento a la detección de anticuerpos precipitantes específicos resultantes de la infección del VLB. Para ello, fueron seleccionados becerros provenientes de vacas seropositivas y seronegativas, evaluados serológicamente, desde el momento del nacimiento hasta los 12 meses de edad, y su continuidad hasta los 24 meses; y así, su comportamiento en pastoreo abierto en el ambiente de la misma finca. Para ello, se realizaron pruebas de detección de Ac anti-VLB en un lote de 43 vacas seropositivas en gestación, con altos títulos de Ac contra la infección por el VLB y en 48 vacas gestantes seronegativas.

Procesamiento de las Muestras y Evaluación Serológica

A todas las vacas positivas se les indujo el parto aplicándoles una dosis de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PG- $F_{2\alpha}$) para controlar el nacimiento de los becerros y, de esa forma, evitar estos que mamaran de la madre, eliminando así cualquier posibilidad de contacto con el VLB. Para determinar el posible paso del virus y/o seroconversión anti VLB de los becerros de ambos grupos de vacas, desde el nacimiento hasta los 12 meses de edad, se efectuaron tomas de sangre por venopunción de la vena yugular, cada 15 d, usando tubos Vacutainer® de 10 mL con anticoagulante y cerrados al vacío. Las muestras fueron enviadas refrigeradas al Laboratorio de Anatomía Patológica del Instituto de Investigaciones Veterinarias (INIA-Ceniap) y se mantuvieron a 4°C, para su posterior análisis. La seropositividad se comprobó por el método de inmunodifusión en agar-gel (IDAG), utilizando como antígeno (Ag) la glicoproteína 51-gp51 (*Leukassay B* Pitman Moore, Inc. Washington Cross NJ). Los sueros para la detección de anticuerpos anti-VLB se procesaron siguiendo cuidadosamente las indicaciones recomendadas por el fabricante para la utilización del *Leukassay B* (IDAG). Para la preparación del agar-gel, se utilizaron los mismos componentes y en las proporciones establecidas en las indicaciones para el uso de la prueba. Una vez elaborado el agar, al alcanzar una temperatura entre 50 a 56°C, se distribuyó en placas de *Petri* de 90 mm de diámetro, colocando 14 mL de agar en cada placa. Con un molde especial se cortó, quedando 4 conjuntos del molde por placa, los cuales se numeraron de izquierda a derecha, en el sentido del movimiento de las agujas del reloj, quedando los huecos del 1 al 6 en la periferia y el número 7 en el centro de cada molde. En los huecos 1, 3 y 5, se colocaron los sueros positivos controles; en los huecos 2, 4 y 6, los sueros para diagnóstico y en el centro (7), el antígeno patrón. La lectura definitiva para todos los grupos se realizó a las 72 h, con lecturas intermedias a las 24 y 48 h.

Diseño Experimental

Para la realización del ensayo, se utilizaron 91 becerros recién nacidos, distribuidos en 3 grupos, a saber: Grupo I: 27 becerros nacidos de vacas positivas al VLB, a los cuales no se les permitió

mamar calostro ni leche de la madre. Grupo II: 16 becerros provenientes de vacas positivas al VLB, a los cuales se les permitió mamar desde el momento del nacimiento solamente el calostro de la madre. Grupo III: 48 becerros de vacas seronegativas a la infección por el VLB, los cuales consumieron calostro y mamaron normalmente desde el nacimiento. Se preparó un banco de calostro a partir de vacas que resultaron negativas a la prueba serológica, el cual se mantuvo en condiciones estériles y en congelación a -4°C .

Los grupos I y II se mantuvieron aislados durante los cuatro primeros meses, lactando con un sustituto lácteo (leche en polvo homogeneizada), con excepción del grupo III. Posteriormente, para observar el comportamiento eco-epidemiológico de la infección en el área de la finca, los animales fueron mantenidos en condiciones de pastoreo a campo, por tratarse de un ambiente libre de garrapatas y con estricto control de moscas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La variable respuesta fue medida en escala dicotómica y se le asignó la siguiente categoría: negativa (-), significando ausencia de reactividad al VLB y positiva (+), significando presencia de reactividad al VLB en el suero de los becerros. Los datos fueron tabulados como frecuencia de becerros negativos y becerros positivos al VLB, en la hoja electrónica de cálculo Microsoft© Excel v.10.

Las pruebas estadísticas empleadas para analizar los datos fueron las siguientes: i. Ji al cuadrado (*Chi-square*, versión en Inglés), como prueba de independencia entre las variables, según sus frecuencias relativas (%). Se consideró el estadístico G^2 de máxima verosimilitud ($MV-G^2$), el cual es muy robusto a la presencia de celdas con frecuencia igual a 0; ii. Además, se aplicó la corrección por estratos de tiempo a los 12 y 24 meses de nacidos los becerros, según la prueba de *Cochran-Mantel-Haenszel*; iii. Análisis de correspondencias múltiples (ACM), a partir del cual se generó un gráfico de tres dimensiones, para visualizar las interrelaciones entre las categorías, según Greenacre [15].

También, se consideró el tiempo de duración (meses después de nacidos) de los Ac pasivos en becerros del grupo II y el tiempo de aparición (meses de nacidos) de la infección por VLB, mediante la media aritmética, su respectiva desviación estándar y el coeficiente de

variación (%). El programa estadístico utilizado para realizar las pruebas citadas fue el Infostat v. 2008, de la Universidad Nacional de Córdoba, República de la Argentina [16, 17].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los becerros del grupo I, resultaron negativos a la prueba de IDAG, al no detectarse Ac precipitantes específicos contra la infección por el VLB durante ese período (Cuadro 1). En contraste, todos los becerros del grupo II, mostraron casi de inmediato a la ingestión de calostro, Ac anti-VLB pasivos, cuyos títulos séricos fueron declinando paulatinamente en el curso de 5 a 6 meses (Cuadro 4). En referencia al grupo III, 44 becerros (91,6%) del total de becerros provenientes de vacas seronegativas, resultaron negativos a la prueba de IDAG durante el período del ensayo, a excepción de cuatro animales (8,4%), que a partir de los 11 meses comenzaron a mostrar seroconversión positiva a la infección por el VLB.

De acuerdo con los resultados mostrados en el Cuadro 1, se observa que durante el primer año de muestreo (12m), todos los becerros asignados a los tres grupos establecidos en el ensayo, fueron negativos a la presencia de infección por VLB, confirmando la hipótesis de que la transmisión vertical del VLB no se produjo de las madres positivas a sus becerros.

En el período de 12 a 24 meses, los becerros del grupo I se mantuvieron negativos a la infección por el VLB y sólo 4 becerros del grupo II y 4 del grupo III resultaron positivos a la infección, lo que equivale al 4,4% de los becerros en sus respectivos grupos, que es una proporción muy pequeña y estadísticamente diferente de la proporción de becerros negativos a la infección (95,6%) a un nivel de $p=0,0160$, según la prueba de Ji al cuadrado mostrada en el Cuadro 2. Este porcentaje es aún más pequeño cuando se observa en los grupos II y III (2,2% para cada uno). Estas proporciones están por debajo del nivel $P=0,05$ establecido dentro del margen de error del ensayo; por lo que estos resultados pueden atribuirse a factores aleatorios, consecuencia del manejo a campo abierto de los becerros. Esto fue confirmado por la prueba de *Cochran-Mantel-Haenszel*, al comparar las proporciones de becerros negativos en el estrato de tiempo de 12 meses y 24 meses, el cual es significativamente diferente de la proporción de becerros positivos a la infección por el VLB.

Cuadro 1. Frecuencias absolutas de anticuerpos precipitantes específicos en becerros negativos y positivos al VLB, a los 12 y 24 meses de nacidos, en los grupos experimentales, en la Estación Experimental Santa María

Grupos	I: M+		II: M+		III: M-		Total
	Sin calostro		Con calostro		Sin leche		
Meses de nacido	B (-)	B(+)	B (-)	B (+)	B (-)	B (+)	
12	27	0	16	0	48	0	91
24	27	0	12	4	44	4	91
Total	54	0	28	4	92	4	182

M+: madres positivas al VLB; M-: madres negativas al VLB. B (-): becerros negativos al VLB; B (+): becerros positivos al VLB

Cuadro 2. Análisis de independencia basado en la prueba del Ji al cuadrado, corregida por estratos de tiempo y por el estadístico MV-G², de las frecuencias relativas de becerros negativos B (-) y positivos B (+) al VLB, de los grupos experimentales, en la Estación Experimental “Santa María”

Beceros	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	Frecuencias Relativas (%)
	M+ Sin calostro	M+ Con calostro	M- Con calostro	
B (-)	29,6	15,4	50,6	95,6
B (+)	0,0	2,2	2,2	4,4
Total	29,6	17,6	52,8	100,0

Grupo I: madres positivas (M+) al VLB, sin ingesta de calostro ni leche de la madre por el becerro;
 Grupo II: madres positivas (M+) al VLB, con ingesta de calostro por el becerro;
 Grupo III: madres negativas (M-) al VLB, con ingesta de calostro y leche de la madre por el becerro.

Estadísticos para la tabla marginal

Estadístico	Valor	GL	p
Ji Cuadrado Pearson	7,50	2	0,0236
Ji Cuadrado MV-G ²	8,27	2	0,0160

El ACM resultó muy robusto y potente, puesto que con la extracción de tres ejes de coordenadas, se explicó el 92,61% de la variación total (Cuadro 3). Mediante este análisis, fue posible observar gráficamente las interacciones entre madres, ingesta de calostro y becerros, las cuales están representadas en la Figura 1.

En la Figura 1, se aprecia que las madres positivas al VLB (M+) con becerros que ingirieron calostro (grupo II), están estrechamente asociadas a becerros negativos a la infección por VLB, al igual que las madres negativas al VLB (M-) con becerros que ingirieron calostro y leche (grupo III). La estrecha relación de ambos grupos se debe a que coinciden con una muy baja proporción de becerros positivos a la infección por VLB (<5%), sólo después de los 12 meses. Además, las M+ cuyos becerros no ingirieron calostro ni leche (grupo I), siempre estuvieron asociadas a becerros negativos a la infección tanto a los 12 como a los 24 meses.

En el Cuadro 4, se confirman los resultados

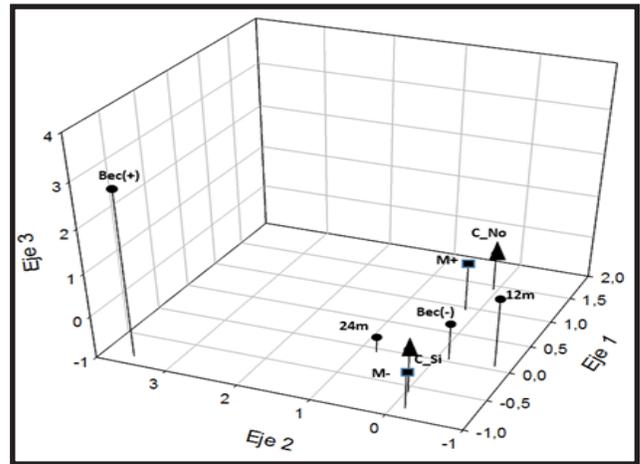


Figura 1. Representación tridimensional de las categorías de becerros negativos Bec (-) y positivos Bec (+) al VLB, a los 12 y 24 meses de nacidos, según el grupo experimental. Grupo I: madres positivas al VLB (M+) sin ingesta de calostro por el becerro (C_No); Grupo II: madres positivas al VLB (M+) con ingesta de calostro por el becerro (C_Si); Grupo III: madres negativas al VLB (M-) con ingesta de calostro por el becerro (C_Si)

Cuadro 3. Contribución de los autovalores al ACM, a partir de las frecuencias obtenidas en el cuadro 1

Autovalor	Inercias	Ji cuadrado	(%)	% acumulado
1	0,65	392,21	42,48	42,48
2	0,55	279,80	30,31	72,79
3	0,45	182,99	19,82	92,61

obtenidos al revelarse que los casos positivos a la infección por VLB, ocurrieron en un intervalo comprendido entre los 11 y 19 meses de nacidos, con un promedio de 15 meses (± 4), prueba evidente de que la infección ocurrió en la segunda fase del ensayo, a campo abierto y atribuible a factores aleatorios eco-epidemiológicos en una zona de alta prevalencia de la infección. Por otro lado, en el mismo cuadro, se observó que la duración de los Ac pasivos en becerros del grupo II osciló entre los 3 y 9 meses de nacidos, con una media de seis meses (± 3), lo cual es coherente con los resultados mostrados en los Cuadros 1 y 2.

El análisis de los resultados obtenidos en los tres grupos de becerros del ensayo, permite concluir que no hubo transmisión transplacentaria del VLB. Puede considerarse que los dos animales de 11 meses de edad que comenzaron a mostrar reactividad positiva a la prueba de IDAG, probablemente tuvieron dicha respuesta inmune, como consecuencia de la presencia de diferentes insectos hematófagos, principalmente Tabanideos, al encontrarse el rebaño del ensayo en pastoreo a campo abierto. Se descartan también medios iatrogénicos por el preciso adiestramiento, además del manejo higiénico-sanitario impartido al personal veterinario y auxiliar encargado de manejar los animales durante el ensayo. También se debe descartar la posible contaminación durante el acto del parto debido a traumas, por la respuesta inmunológica negativa demostrada durante los 10 primeros meses de vida de estos animales reactores positivos. Por otra parte, parece razonable que el hecho de que el VLB fuera encontrado solamente en linfocitos y que no haya habido presencia de virus libres en sangre ni en tejidos, queda entendido que durante los años en que un bovino permanece infectado, es de considerar que el contacto estrecho por sí solo no es suficiente para la transmisión de la infección. En este mismo sentido, cabe señalar que en el intercambio de materiales biológicos contaminados con el VLB debe haber suficientes linfocitos infectados. Asimismo, el grado de infectividad de tejidos, secreciones y excreciones pudiera encontrarse limitado si la cantidad de

linfocitos portadores de virus presentes en ellos no es ponderable, para que se produzca una infección consistente.

Por lo general, estos terneros consumieron calostro de sus respectivas madres seropositivas. En este caso, la mayor parte de los Ac del calostro se originan de una desviación de inmunoglobulinas que circulan en la sangre de la madre, hacia la glándula mamaria, en el último período del parto. Así pues, Ac contra cualquier agente infeccioso frente a los cuales la madre fue expuesta, en este caso frente al VLB, aparecen en el calostro y luego de ser ingeridos por el ternero recién nacido, dentro de las primeras 12 a 24 h de ocurrido el parto. Los terneros cuyas pruebas séricas resultan positivas como consecuencia de consumo de calostro, rara vez son realmente positivas porque esa reactividad positiva se debe a la presencia de anticuerpos pasivos que desaparecen entre 4 a 6 meses de su ingestión volviéndose seronegativos [20]. Estos Ac pasivos al VLB [8, 20-22], al igual que como ocurre con otros virus bovinos en terneros [23, 24], mostraron declinación gradual durante los primeros 6 o 7 meses de vida, volviéndose seronegativos, a menos que ocurriera una infección activa sobrevenida por el VLB. En este sentido, Jacobsen *et al.* [19] encontraron que 4 a 8% de terneros de madres seropositivas de rebaños infectados naturalmente, están infectados al nacer, por una probable exposición transplacentaria al VLB durante el período de gestación.

Esta conclusión se basa en el hecho de que estos terneros se hicieron seropositivos cuando las muestras de suero se tomaron minutos después de ocurrido el nacimiento. A este respecto, Lovera *et al.* [12] demostraron que 20 terneros alimentados con calostro de vacas seropositivas durante 12 sem, resultaron negativos a la detección de Ac y del provirus, mientras que de 12 terneros que fueron privados de calostro, 33% resultaron positivos a la presencia de Ac y a la presencia del provirus, cuando sus sueros fueron sometidos a las pruebas de ELISA y PCR; concluyendo que el calostro

Cuadro 4. Valores de estadística descriptiva, expresados en meses, del tiempo de duración de los anticuerpos pasivos y del tiempo de aparición del VLB, en becerros del grupo II, desde el nacimiento, en los casos positivos después de los 12 meses de edad

Estadísticos	Ac pasivos (td) ¹	Detección del VLB (ta) ²
Media	6	15
Desviación estándar	±3	±4
Coef. variación (%)	50	27

¹td: meses de duración de los anticuerpos pasivos

²ta: tiempo de aparición del virus de la leucosis bovina

disminuye significativamente el riesgo de infección por el VLB.

No podría esperarse que aquellos terneros que se infectan por otros medios, como traumas durante el parto, tengan IDAG positivos hasta por lo menos 2 a 3 sem del postparto, que sería el tiempo mínimo requerido para que una respuesta inmune primaria pueda detectarse. Por lo tanto, estos terneros no desarrollarán un IDAG gp51 negativo sino a los 6 o 7 meses de edad; y aunque sus Ac pasivos declinen, la propia respuesta inmune del ternero a la infección por el VLB, provocaría que los títulos de Ac se mantengan positivos en forma persistente [21].

Son numerosos los investigadores que se han ocupado del tema de la transmisión horizontal y vertical del VLB experimental o natural [6-8, 10, 20, 22, 25-28]. Sin embargo, en lo que concierne a la transmisión transplacentaria, aún existe controversia acerca de la cuantificación porcentual del posible paso del virus de la madre al feto. A este respecto, Jaworski [29] concluye que el papel del calostro y leche en la transmisión natural del VLB al recién nacido permanece sin definir, a pesar de que diferentes autores han publicado resultados que hasta la fecha no esclarecen si estas secreciones juegan un papel primario protector o infectivo. Los resultados obtenidos por Meas *et al.* [30] permiten concluir que la transmisión transplacentaria no ocurre o de producirse, es insignificante.

Si bien es cierto que algunos de estos trabajos fueron de tipo experimental, es probable que los realizados sobre transmisión vertical hasta ahora no hayan sido hechos con un riguroso método epidemiológico longitudinal de seguimiento y evaluación durante un tiempo prudencial y con un número significativo de vacas VLB+ y sus descendientes, suficientes para

evaluar una respuesta precisa acerca de la dinámica de la infección en la pesquisa de anticuerpos anti-VLB en la circulación materno-fetal, en el calostro, para luego observar el comportamiento de estos mismos animales expuestos a factores de riesgo ambientales para contraer la infección por el VLB. Los resultados obtenidos en este ensayo, confirman la hipótesis de que no hay transmisión vertical de la infección por el VLB *in útero*, lo cual puede ser de utilidad práctica en un rebaño con baja a mediana tasa de infección, para la reposición sistemática de animales positivos por animales libres del virus obtenidos de madres seropositivas, para lo cual se recomienda implementar un modelo basado en un diseño similar al descrito en el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Veterinarias, por su elevado espíritu de colaboración en pro de la investigación científica, al poner a nuestra disposición el rebaño Holstein de la Finca “Santa María”, seriamente amenazado por esta grave enfermedad: Al personal veterinario encargado de realizar parte de las actividades del Proyecto a nivel de la finca, representado por el Dr. Ramón Rodríguez, técnicos y obreros, en razón de su alta responsabilidad en el cumplimiento de las tareas asignadas, que fue decisiva para que esta investigación culminara con los resultados antes expuestos.

APORTE DE LOS AUTORES AL TRABAJO

CMA: Revisión bibliográfica, análisis de los resultados y redacción del manuscrito. NMdeL: Revisión bibliográfica, procesamiento de datos, análisis de los resultados. RR: Recolección de datos, manejo del ensayo en campo. CMR: Diseño experimental y análisis estadístico. LPdeA: Revisión bibliográfica y redacción del manuscrito. MRdeR: Redacción del manuscrito. OR: Revisión bibliográfica, materiales y métodos y redacción del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Bendixen HJ. Leukosis enzootica bovis with special regard to diagnosis, epidemiology, and eradication. PhD thesis. Royal Vet Agr Col. 1963; 164 p.

2. Miller JM, Miller LD, Olson C, Gillette KG. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocytes cultures with references to bovine lymphosarcoma. *J Natl Cancer Inst.* 1969; 49:1297-1305.
3. Burny A, Bruck C, Chanhenne H, Cleuter Y, Dekegel D, Ghisdael J, *et al.* Bovine Leukemia Virus: Molecular Biology. Raven Press, New York, NY. 1980; 231-278.
4. Gillet N, Florines A, Boxus M, Burteau C, Nigro A, Vandermeers F, *et al.* Mechanism of leukemogenesis induced by the bovine leukemia virus: prospects for novel therapies retrovirals in humans. *Retrovirology* 2007; 4:18. <http://www.retrovirology.com/content/4/1/18>.
5. Johnson R, Gibson CD, Kaneene JB. Bovine leukemia virus: a herd-based control strategy. *Preventive Vet Med.* 1985; 3:339-349.
6. Marín C, de López N, de Álvarez L. Humoral spontaneous response to bovine leukemia virus infection in zebu, sheep, buffalo and capybara. In: Fourth International Symposium on Bovine Leukosis, Bologna, 1980.
7. Marín C, de López N, de Álvarez L. Humoral spontaneous response to bovine leukemia virus infection in zebu, sheep, buffalo and capybara [Ed. by O.C. Straub] The Hague, Netherlands; Martinus Nijhoff.
8. Marín C, López N, Álvarez L, Lozano O, España W, Castaños H *et al.* Epidemiology of enzootic Bovine Leukemia in Venezuela. 1978; *Ann Rech Vet* 9:743-446.
9. Detilleux JC, Freeman AE, Miller LD. Comparison of natural transmission of bovine leukemia virus in Holstein cows of two genetic lines selected for high and average milk production. 1991; *Am Vet Res* 52:1551-1555.
10. Di Giacomo RF. Horizontal transmission of the bovine leukemia virus infection 1992; *Vet Med* 87:263-271.
11. Di Giacomo RF. Vertical transmission of the bovine leukemia virus infection 1992; *Vet Med* 87:258-262.
12. Lovera HJ, Yaciuk RE, Giraudo JA. Presencia y duración de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Bovina en terneros durante su primer año de vida. 1994; *Rev Med Vet* 79(4):298-302.
13. Nagy DW, Tyler JW, Kleiboeker SB. Decreased periparturient transmission of bovine leucosis in colostrum-fed calves. 2007; *J Vet Intern Med* 21: 1104-7.
14. Agresti A. Categorical Data Analysis. John Wiley & Sons, Inc., New York. 1990; 368 p.
15. Greenacre, MJ. Theory and Applications of Correspondence Analysis. London: Academic Press. 1984; 254 p.
16. Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Casanoves F, Di Rienzo JA, Robledo CW. Infostat. Manual del Usuario, Edit. Brujas, Córdoba, Argentina. 2008; 336 p.
17. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2008.
18. Thurmond MC, Carter RL, Puhr DM, Burrige MJ; 1982. Decay of colostral antibodies to bovine leukemia virus with application to detection to the calfhood infection. *Am J Vet Res.* 1982; 43:1152-1155.
19. Jacobsen KL, Bull RW, Miller JM, Herdt T, Kaneene JB. Transmission of bovine leukemia virus: prevalence of antibodies in precolostral calves. *Preventive Vet Med.* 1983; 1:265-272.
20. Johnson R, Kaneene JB, Anderson SM. Bovine leukemia virus: duration of BLV colostral antibodies in calves from commercial dairy herds. *Preventive Vet Med.* 1987; 4:371-376.
21. Hopkins SG, Di Giacomo. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1988; 13:107-28.
22. Straub OC. The role of colostrum and milk in transmission of enzootic bovine leucosis. Agriculture Proceedings 5th Intl Symp Bov Leucosis European Communities. Luxembourg. 1984; pp: 272-279.
23. Onuma H. Natural transmission of bovine leukemia virus among cattle. *Microbiol Immunol.* 1980; 24:1121-1125.
24. Everman J, DiGiacomo RF, Hopkins S. Bovine leucosis virus understanding viral transmission and control. *Vet Med.* 1987; 82:1051-1058.
25. Hopkins S, Everman JF, Di Giacomo. Experimental transmission of bovine leucosis virus by simulated rectal palpation. *Vet Rec.* 1988; 122:389-391.
26. Onuma H, Watarai S, Ishijo S, Ishijara K, Otan T, Soneda M, Mukami T, Izawa H, Konishi T. Natural transmission of bovine leukemia virus among cattle. *Microbiol Immunol.* 1980; 24:1221-1125.
27. Piper CE, Ferrer JF, Abt DA, Marshak RR. Postnatal and prenatal transmission of bovine leukemia virus under natural conditions. *J Natl Cancer Inst.* 1979; 62:165.
28. Shettigara J. Control of bovine leukemia virus infection in dairy herds by agar-gel immunodiffusion test and segregation of reactors. *Can J Vet Res.* 1989; 53:108-110.
29. Jaworski JP, Porta NG, Gutierrez G, Politzki RP, Alvarez I, Galarza R, *et al.* Relationship between the level of bovine leukemia virus antibody and provirus in blood and milk of cows from a naturally infected herds. 2016; *J Dairy Sci* [Documento en línea, consultado en diciembre 2016] En: [<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10813>]
30. Meas S, Usui T, Oshashi K, Sugimoto Ch, Onuma M. Vertical transmission of bovine leukemia virus (BLV) and bovine immunodeficiency (BIV). *Vet Microbiol* 2002; 84:275-282.
31. Miller, JM, Van Der Maaten, MJ. Bovine leukosis its importance to dairy industry in United States. 1982. 65:(11):2194-2203. [Documento en línea, consultado en diciembre 2016] En: [[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82482.X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82482.X)]