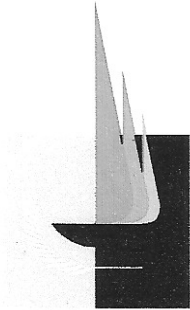


ANEXO I



Número de Proyecto:

Año:

(No llenar)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO: Relevamiento serológico de Leucosis Bovina Enzoótica en tambos de tres departamentos de la zona norte de La Pampa

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Básica - Aplicada - Desarrollo Experimental

BÁSICA: Consiste en trabajos experimentales o teóricos que se emprenden principalmente para obtener nuevos conocimientos acerca de los fundamentos de fenómenos y hechos observables, sin prever en darles ninguna aplicación o utilización determinada o específica.

APLICADA: Consiste también en trabajos originales realizados para adquirir nuevos conocimientos, pero fundamentalmente dirigidos hacia un objetivo práctico específico.

DESARROLLO EXPERIMENTAL: Consiste en trabajos sistemáticos basados en los conocimientos existentes, derivados de la investigación y/o la experiencia práctica, dirigidos a la producción de nuevos materiales, productos y dispositivos; al establecimiento de nuevos procesos, sistemas y servicios, o a la mejora substancial de los ya existentes, es decir, producir una tecnología.

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO

2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS

Departamento de Epizootiología y Salud Pública de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam.

2.2. OTRAS INSTITUCIONES:

2.3. EQUIPO de TRABAJO: (En el caso de tratarse de un Plan de Tesis Doctoral o Tesis de Maestría, complete solamente el cuadro 2.3.5.)

2.3.1 . INTEGRANTES

Apellido y Nombre	Título Académico	Categoría Investigativa	Responsabilidad (1)	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicac. Hs./Sem	Firma
Baruta, Daniel A. Ardoino, Silvia M.	MV MV	III IV	D CD	Enf. Infecciosas Enf. Infecciosas	Prof. Adjunto J.T.P.		

	Director Co-Director Tesista		
--	---	--	--

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: (Máximo 3 años)**3.1. FECHA de INICIO: 01 / 01 /2009 FINALIZACIÓN: 31 / 12/ 2011****4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)**

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) es una enfermedad infecciosa, crónica, viral, que afecta a los bovinos, de gran importancia en los tambos por las pérdidas económicas que ocasiona. La correlación entre animales serológicamente positivos al virus de Leucosis Bovina (VLB) y la persistencia de un elevado número de linfocitos en sangre, propondría una alternativa válida para la eliminación de estos animales, por ser los principales diseminadores de esta enfermedad. Esto se determinará a partir de un muestreo serológico en bovinos pertenecientes a los tambos de la zona en cuestión según datos de existencias provistos por el Censo Nacional Agropecuario 2002, INDEC (última edición publicada). Las muestras serán tratadas mediante la prueba de doble inmunodifusión en gel de agar (AGID). A los reaccionantes positivos se les realizará un nuevo sangrado y hemograma a fin de comprobar la presencia de linfocitosis persistente.

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES**5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA**

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) es una enfermedad linfoproliferativa producida por un virus perteneciente a la familia Retroviridae. Es una de las neoplasias más comunes en bovinos de leche, presente en un importante número de países (Theilen y Madewell, 1987). Es importante el control de esta enfermedad dada su incidencia desde el punto de vista económico, progresiva propagación y parecido con la Leucosis Linfoide humana (Johnson y Kaneene, 1992). El virus afecta a todo el ganado bovino adulto, pero fundamentalmente al de tambo. Teniendo en cuenta la incidencia de la LEB en los mercados de exportación, que requieren ganado libre de dicha enfermedad, resulta de suma importancia su identificación, control y erradicación. (Alejo, et.al., 2000).

Una vez establecida la infección con el VLB, esta no puede ser eliminada, enfermado clínicamente con linfocitosis persistente o linfosarcomatosis alrededor del 29% de animales (Monroy Basilio et al., 1993), comportándose los mismos como portadores asintomáticos, integrándose el virus al genoma de la célula infectada como provirus (por medio de una enzima reverso transcriptasa) (Beer, 1982).

Factores externos y/o genéticos pueden hacer aparecer el cuadro clínico. El virus se puede transmitir horizontalmente asociado a los linfocitos B portadores liberados al medio por secreciones de los animales: leche, calostro, semen y sangre. La sangre a través de insectos hematófagos, con una prevalencia estacional y a maniobras quirúrgicas (sangrías) utilizadas de un animal a otro, se constituyen como elementos de diseminación de mayor riesgo (Esteban, 1987). Cantidades de 0,01 ml sangre o 1000 linfocitos son suficientes para infectar un animal, siendo comprobado en el país el pasaje del VLB durante la premunización de bovinos (Esteban, 1988).

No es frecuente la transmisión transplacentaria, siendo poco probable la infección por semen o trasplante embrionario (no infecta gametos). Otros autores señalan que el virus puede atravesar la barrera placentaria en un 18 % de portadoras de virus (Castelli, et.al., 1999).

Mientras que el diagnóstico de los bovinos con linfosarcoma es relativamente sencillo para el veterinario clínico, la detección de los animales con linfocitosis persistente y de los bovinos infectados sin signos clínicos requiere de la ayuda del laboratorio. Las técnicas para la detección de animales infectados pueden ser la prueba de inmunodifusión en gel de agar (AGID) y el Enzimo-inmunoensayo (ELISA).

La prueba de AGID, sencilla y de uso muy difundido para la detección de anticuerpos tiene algunas limitaciones, en relación a la detección de anticuerpos como mínimo seis semanas después de la infección; no debe ser utilizada para detección de anticuerpos un mes antes del parto, y debe usarse después de los seis meses de edad, porque antes revela anticuerpos maternos. (Miller y Van der Maaten, 1977). Actualmente es la prueba oficial de SENASA para la certificación de establecimientos libres de leucosis (SENASA, res. 337/94) y para la exportación de ganado en pie.

El test de ELISA tiene las mismas limitantes que la anterior cuando se usa en terneros. El ELISA tiene la ventaja de detectar la presencia de anticuerpos antes que AGID. Además, se puede realizar en forma automatizada y el resultado se obtiene dentro de las 24 horas (Nguyen y Maes, 1993).

Para el diagnóstico de bovinos con linfocitosis persistente se debe hacer el recuento de glóbulos blancos y la fórmula leucocitaria relativa con sangre de animales serológicamente positivos. Aquellos que presenten un marcado incremento en el número de linfocitos, indicaría mayor capacidad para dispersar la enfermedad. Este sería un método complementario de la detección de anticuerpos para definir la eliminación de animales infectados. (Castelli, et.al., 1999).

El virus se puede detectar usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica permite revelar la presencia del ADN del virus en la sangre (Ballagi-Pordány, et.al., 1992).

En nuestro país se ha implementado un sistema voluntario de erradicación de la LEB (SENASA, 2006). La resolución N° 337/94 de SENASA establece las normas y procedimientos para la certificación de establecimientos libres de leucosis. Como primera medida se debe hacer el diagnóstico de la situación inicial por medio de AGID a todos los animales del rodeo mayores de 6 meses. De esta forma se puede clasificar el rodeo en "libre" o "infectado". En el primer caso se realizarán recertificaciones anuales del rodeo. En el caso de pertenecer a la categoría infectado, de acuerdo al número de animales afectados, se puede optar por la eliminación simultánea o gradual de los positivos. En este caso, el plan de saneamiento depende de la categoría a la cual pertenece el establecimiento: Clase A (1 a 15 % de positivos); Clase B (15 a 30 % de positivos); Clase C (mayor de 30 % de positivos) y a las posibilidades económicas del productor.

En Argentina las prevalencias más altas se dan en las cuencas de mayor producción lechera. En La Pampa hasta el momento existen muy pocos datos con respecto a la prevalencia de esta enfermedad (Fort et al., 2004), y si bien no es una zona de alta producción lechera, es de esperar que a medida que se supere la coyuntura actual la actividad se recupere de manera paulatina. En nuestro país los datos son dispares, estudios realizados en el norte de la provincia de Corrientes evidenciaron una prevalencia del 50% de la enfermedad, en cuencas lecheras en desarrollo (Jacobo y col., 2006) Este dato coincide con lo expresado por otros autores a nivel mundial, que estiman que la presencia de le enfermedad puede afectar entre el 30 y el 50% de los animales de rodeos lecheros (Brownlie y col. 1994)

Es evidente que al mediano y largo plazo la LEB puede ser utilizada como una traba en la comercialización de productos y subproductos de origen animal (Lovera et.al., 1997).

El objetivo del presente trabajo es establecer la relación existente entre los animales que han generado anticuerpos contra el virus y aquellos que han desarrollado linfocitosis persistente en los Departamentos Realicó, Chapaleufú y Maracó, ubicados en la zona norte de la Provincia de La Pampa, a fin de estimular a los productores a mantenerse libres de la enfermedad o adherirse a planes de control y saneamiento.

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

Problema:

En la Provincia de la Pampa existen relevamientos serológicos en los Departamentos Capital y Toay para tratar de establecer la prevalencia de la LEB. Si bien los valores obtenidos fueron muy bajos, los únicos casos positivos encontrados pertenecían a rodeos lecheros, y sólo se llevaron a cabo en éste estudio pruebas de inmunodifusión. Teniendo en cuenta que en los Departamentos Maracó, Realicó y Chapaleufú se desarrolla más actividad lechera que en los dos antes mencionados, se orienta la búsqueda de anticuerpos en tambos de ésta zona, y especialmente aquellos animales con linfocitosis persistente, que son los que más riesgo epidemiológico presentan.

Objetivos:

Objetivo general

Determinar la presencia de animales con serología positiva a LEB y linfocitosis persistente en tambos de tres Departamentos de la zona norte de la Provincia de La Pampa, con el fin de identificar aquellos que presentan más riesgo de eliminar el virus al medio ambiente.

Objetivos específicos

- Comprobar mediante la técnica de inmunodifusión en gel de Agar (AGID), la existencia de anticuerpos contra el virus de la LEB en tambos de los departamentos Realicó, Chapaleufú y Maracó.
- Poner en evidencia los animales con linfocitosis persistente a través de la realización de hemogramas (fórmula leucocitaria relativa).

Hipótesis

Basándonos en la bibliografía existente y los datos aportados por ésta se espera establecer la presencia de linfocitosis persistente en un 30 % de los animales con serología positiva.

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS.

Se harán determinaciones serológicas para establecer la presencia de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Bovina (BLV), en sangre proveniente de bovinos de leche. Posteriormente a los animales que arrojen resultados de serología positiva se les realizarán hemogramas para poner en evidencia la linfocitosis persistente.

MATERIALES:

Muestras de sangre:

- Vaquillonas
- Vacas secas
- Vacas en ordeño
- Toros

Las muestras de sangre se obtendrán de la totalidad de los animales de las categorías antes mencionadas, de cada uno de los tambos seleccionados.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para el tamaño de la muestra se tendrá en cuenta el Censo Nacional Agropecuario 2002, último publicado a la fecha por el INDEC. Según el mismo las existencias de tambos en los tres departamentos mencionados se elevan a 59, siendo el total de animales en estos establecimientos 17105, incluyendo todas las categorías. Es de esperar que en la actualidad las existencias reales sean menores (La Arena, 2009). Sin embargo para el cálculo del tamaño de la muestra se tomaron estos datos como base, determinándose el tamaño de la misma en 1645 animales, trabajando con una prevalencia esperada del 50%, un $p=0.01\%$ y una precisión del 3% (Thursfield, 1990). Se evaluará la totalidad de los animales de cada establecimiento encuestado, y los tambos serán seleccionados al azar.

El análisis de los resultados se hará tomando por separado cada una de las diferentes categorías (Vaquillonas, Vacas secas, Vacas en ordeño y Toros) dentro del mismo establecimiento

El acceso a los tambos con el fin de obtener las muestras se gestionará a través de uno de los integrantes del proyecto que es quien realiza la sanidad en los mismos.

METODO DE DIAGNOSTICO:

Para realizar las experiencias se trabajará con muestras sanguíneas provenientes de los diferentes tambos.

Se utilizará como método diagnóstico la prueba de AGID según técnica descrita en el Manual OIE, para determinar la cantidad de animales seropositivos a VLB.

A su vez se verificará la fórmula leucocitaria relativa en los bovinos positivos a VLB, con el hemograma correspondiente.

El antígeno y sueros control serán provistos por SENASA.

6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS

La importancia de determinar individuos serológicamente positivos a LEB en los tambos de la zona norte de la Provincia de La Pampa permitirá reconocer la presencia de esta enfermedad en los mismos.

Por otra parte, poniendo en evidencia a los animales con linfocitosis persistente se identificarán aquellos que son capaces de difundir la enfermedad con mayor facilidad.

La LEB produce gran disminución en la producción de leche, que redundará en un alto impacto económico sobre los productores.

Una vez obtenidos estos datos se podrán organizar tareas de extensión tendientes a concientizar a los productores de la importancia de la enfermedad, el acceso al diagnóstico de la misma y la importancia sanitaria y económica de adherirse a los planes de control y erradicación. Dada la actual situación de la producción láctea de la provincia, la cual ha disminuído notablemente la cantidad de establecimientos productores es el momento ideal para que cuando la situación se normalice lo haga en un mejor estado sanitario, lo que redundará en beneficios económicos para el productor y de calidad de leche para el consumidor.

6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

AÑO 2010

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Preparación del												
Proyecto	X	X	X	X								
Sangrado					X	X	X	X	X	X	X	X
AGID								X	X	X	X	

AÑO 2011

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Sangrado					X	X	X	X	X	X	X	X
AGID	X	X	X	X	X	X	X	X				

Hemograma	X	X	X	X	X	X	X
-----------	---	---	---	---	---	---	---

AÑO 2012

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Procesamiento de Resultados	X	X	X									
Análisis de Resultados				X	X	X	X					
Elaboración de Conclusiones								X	X			
Presentación del Trabajo/Informe final									X	X	X	

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO**7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:**

--

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

--

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

--

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN:

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual) *

Equipamiento e Infraestructura	\$2.500,00
Bienes de Consumo	\$9.000,00
Bibliografía	\$
Viajes	\$3.000,00
Personal de Apoyo	\$
Otros (especifique) Gastos de toma de muestras.....	\$500,00
Total	\$15.000,00

* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.

8.1. BIBLIOGRAFÍA

Alejo, D.; Gutiérrez, S.; Dolcini, G.; Esteban, E.; Odeón, A.; Fernández Sainz, I.; Casaro, A. 2000. Prevalencia de la infección por el virus de la Leucosis Bovina (BLV) en tambos de los partidos de General Pueyrredón y Balcarce. Revista Argentina de Producción Animal Vol. 20 N° 1: 77-83.

Ballagi-Pordány A, Klintevall K, Merza M, Klingeborn B, Belák S. Direct Detection of Bovine Leukemia Virus Infection: Practical Applicability of a Double Polymerase Chain Reaction. J Vet Med B 1992; 39: 69-77.

Beer, J. 1983. Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos. Ed. Acribia. Tomo 1. 196-206.

Brownlie, J.; Collins, M. ;Heaton, P. 1994. Bovine immunodeficiency-like virus - a potential cause of disease in cattle?, *Vet. Rec.* 289-291.

Castelli, M.E. 1994. Prevalencia de anticuerpos contra Rinotraqueítis y la Leucosis viral bovina en vaquillonas holando argentino preservicio del Centro de Santa Fe y este de Córdoba. VII Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina.

Castelli, M.; Mangold, A. ; Maciel, M.; Abdala, A. 1999 Leucosis Bovina: diagnóstico, transmisión, control y prevención. *Infortambo*, 128, , Pág 68.

Diario La Arena. 2009. 2009: La crisis de la producción láctea. 05-12-2009-. Versión electrónica:

http://www.laarena.com.ar/la_arena_del_campo2009_la_crisis_de_la_produccion_lactea-41795-7.htm

Fort M C; Miranda A. O; Pérez, L R; Esain, F H; Cañon, M. 2004. Brucelosis y Leucosis Bovina Enzoótica. Prevalencia serológica – Dptos. Toay y Capital –Provincia de La Pampa – Argentina. Boletín de Divulgación Técnica N° 79: Investigación en producción animal 2002-2003. Región subhúmeda y semiárida pampeana. INTA Anguil. 145-148 ISSN 0325-2167 .
www.inta.gov.ar/anguil/info/boletines/bol79/pdf/cap24.pdf

INDEC. Censo Agropecuario 2002. Cuadro 6.10. La Pampa. Bovinos. EAP con límites definidos. EAP con instalaciones tamberas, tambos instalados, EAP con rodeo de tambo y existencias, según departamento.

www.indec.mecon.gov.ar/agropecuario/Datos/4206010.xls

Jacobo, R. A. - Storani,C. A. - Cipolini, M. F.Martínez, D. E. - Martínez, I. E. - Cardozo, R. O. 2006. Leucosis bovina en rodeos lecheros de dos departamentos del noroeste de la provincia de Corrientes. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2006. Universidad Nacional del Nordeste. Resumen V-001.

Johnson, R.; Kaneene, J.B. 1992. Bovine Leukaemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. *Veterinary Bulletin*, Vol 62. N 4.

Lovera, H.J.; Yaciuk, R.E.; Giraudo J.A. 1997. Leucosis enzoótica bovina: situación prevalencial en cuencas lecheras del centro-sud de la Provincia de Córdoba. *Therios*. vol.26 N138.

Monroy Basilio, J.I.; Trigo Tavera, F.J.; Aluja, A. de S.; García Escamilla, R.M. (1993). Estudio comparativo entre las pruebas de ELISA e inmunodifusión en el diagnóstico de la Leucosis Bovina Enzoótica. *Vet. Méx* 24(1)21:25

Nguyen,V.K., Maes, R.F. 1993. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine leukemia virus in serum and milk. *J Clin Microbiol*. 31: 4. 979-981.

OIE Terrestrial Manual 2008. Chapter 2.4.11.- Enzootic bovine leukosis. 736-737

SENASA. Manual de procedimientos Leucosis Bovina Enzoótica. 2006. Versión electrónica:
<http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=924&io=3978>

SENASA. Resolución ex SENASA N° 337/94. 1994. Versión electrónica:
<http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=924&io=3979>

Theilen, G.; Madewell, B. 1987. Hematopoietic neoplasms, sarcomas and related conditions. Bovine. Veterinary Cancer Medicine, second edition. Lea and Febiger, Philadelphia.

Thrusfield, M. 1990. Epidemiología Veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza, España. P 195.