

Sienra R. (1)
Guarino H. (2)
Gil A. (3)

(1) DV, MMV. Departamento de Rumiantes y Suinos: Facultad de Veterinaria.

(2) DV, MSc. Area de Virologia. Facultad de Veterinaria.

(3) DV, MSC., PhD. Area de Biostatística. Facultad de Veterinaria.

INFLUENCIA DE LA INFECCION POR LEUCOSIS BOVINA ENZOOTICA SOBRE LA PRODUCCION Y REPRODUCCION DE RODEOS LECHEROS

FPTA 199

Período Ejecución: Dic., 1993-Dic., 1997

1. INTRODUCCION

1.1 Características generales de la Enfermedad

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad contagiosa del ganado bovino que se manifiesta clínicamente

por el desarrollo de neoplasias malignas del tejido linfoide ^(2,25,35). La LBE en condiciones naturales afecta exclusivamente a la especie bovina, y en particular al ganado lechero, debido a condicionantes de manejo, exigencias productivas, estratificación etaria y, probablemente, predisposición genética ^(25,35).

La enfermedad se encuentra distribuida en prácticamente todo el mundo, con variados grados de prevalencia, según regiones y establecimientos. Se observa en países tan disímiles como EE.UU. ⁽⁶⁾, Canadá ⁽¹⁷⁾, Brasil ⁽¹⁾, Israel ⁽³⁾, Argentina ⁽²¹⁾, Australia ⁽¹²⁾ y Chile ⁽²²⁾. En Uruguay sucede algo similar, con establecimientos en condición de negativos y otros con prevalencia superior al 60% ^(8,16,45).

Las pérdidas económicas directas por la forma tumoral de la enfermedad son, en general, de escasa importancia, salvo en algunos rodeos individuales en que se ha

RESUMEN

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) constituye una importante enfermedad del ganado, que ha concentrado el interés de muchos países en los últimos años. Su importancia económica radica en las restricciones que ciertos mercados imponen al ganado en pie o material genético infectado, así como en posibles pérdidas de productividad de los animales infectados.

Con la finalidad de estudiar este último aspecto se realizó un estudio prospectivo sobre cuatro establecimientos lecheros, que abarcó un período de tres años. Para el diagnóstico de la enfermedad se utilizaron las técnicas serológicas IDGA (Inmunodifusión en gel de agar) y ELISA (enzima ligada a un inmunoabsorbente). Los parámetros productivos analizados fueron: producción total de leche y grasa por lactancia ajustada, concentración de proteínas y recuento de células somáticas. Los indicadores reproductivos evaluados fueron: intervalo interparto, intervalo parto-primer servicio y servicios por concepción.

También se consideró la tasa de refugos y la ocurrencia de enfermedades asociadas al parto, así como aspectos relevantes de la epidemiología de la infección.

Los resultados indicaron que las vacas seropositivas presentaron un intervalo interparto significativamente más prolongado que las negativas (416,6 ± 63,9 días frente a 389,1 ± 46,34 días), lo que se asoció a una marcada tendencia a requerir un mayor número de servicios por concepción (2,02 y 1,67 respectivamente). Ninguna otra diferencia significativa pudo ser detectada entre ambas subpoblaciones de vacas. Desde el punto de vista epidemiológico se destaca la ausencia de la condición de la madre o de la cría al nacimiento con la posterior adquisición de la infección. Los anticuerpos pasivos de origen calostroal se mantuvieron hasta el 7^{mo}. mes de edad y la alimentación precoz con mezcla de calostro pareció influir en la seropositividad de un cierto porcentaje de terneras hijas de vacas negativas. Estos resultados son discutidos en relación a los observados en otras investigaciones y al encare de las posibles medidas de control a aplicar en los establecimientos infectados.

Se concluye la necesidad de profundizar la investigación nacional sobre el tema y de sensibilizar a las autoridades sanitarias sobre las posibles consecuencias negativas derivadas de la ausencia de una política contra esta enfermedad.

Palabras Clave: Bovinos, Leucosis, Retrovirus, Enfermedades Infecciosas.

evidenciado una inusual frecuencia de casos clínicos ^(6,37). Ello ha sido observado en un tambo del departamento de Soriano, que culminó con la clausura de la explotación como consecuencia de la alta incidencia de casos de linfosarcoma¹.

La LBE ha adquirido especial importancia como consecuencia de las restricciones impuestas por el mercado internacional, así como por el costo de los programas de control que se instrumentan en numerosos países ⁽²⁵⁾. A partir de 1988 la Unión Europea (en ese tiempo, Comunidad Económica Europea) ha instrumentado una campaña obligatoria de erradicación en todos sus países miembros (Directivas n.88.406 del 14 de junio de 1988 y n.90.422 del 26 de junio de 1990) ^(9,32). Como consecuencia de esa política, la incidencia ha disminuido a niveles muy bajos en la mayoría de los países miembros: Alemania 0,01% ⁽²⁵⁾, Bélgica 0,7% ⁽²⁶⁾ y Francia 0,9% ⁽⁹⁾. Dinamarca se encuentra libre desde 1990,

Irlanda y Holanda desde 1992, y Austria desde 1993 ⁽²⁾. Programas voluntarios de control se realizan en numerosos países, incluyendo EE.UU. y Canadá ⁽⁶⁾, Australia ⁽¹²⁾ y Chile ⁽⁴⁴⁾.

Resulta claro que la LBE es una afección relacionada directamente con sistemas de manejo intensivo, con estrecho contacto físico entre los animales y una importante participación del ser humano ⁽³⁵⁾.

Existe una clara tendencia a que la tasa de infección se incremente con la edad, siendo escasa, en general, la incidencia en individuos menores de dos años ^(3,17). Ello supone un índice importante de seroconversión asociado con la madurez sexual e inclusive con el parto ⁽²⁰⁾. Una mayor susceptibilidad en animales con alto potencial lechero también ha sido demostrada ⁽¹¹⁾. La transmisión natural en rodeos lecheros se produce en forma más lenta en aquellos en los que existe una baja prevalencia, mientras que difunde mucho más rápidamente en establecimientos con alta tasa de infección ⁽⁷⁾. La edad a la que se contagian los animales está influida por la situación epidemiológica dentro del rodeo, ya que en aquellos con altas prevalencias, se favorece la aparición de la infección en individuos más jóvenes ⁽²⁵⁾.

En condiciones naturales el virus de la Leucosis Bovina (vLB) se presenta íntimamente asociado a linfocitos, siendo muy raro encontrarlo en forma libre ^(4,14,25). La vía más importante de transmisión es el contacto, ya que el agente puede estar presente en prácticamente todas las secreciones y excreciones ^(12,18,29). Sin embargo, sólo la sangre y, en menor grado, la leche y el calostro, pueden contener concentraciones de virus importantes como para transmitir la enfermedad ⁽²⁵⁾.

Desde el momento en que el agente se encuentra en las células sanguíneas, todas los materiales que puedan contener sangre representan factores de riesgo. Prácticas de manejo que facilitan la transmisión horizontal incluyen el estrecho contacto entre las categorías y maniobras que puedan vehiculizar sangre

¹ Dr. R. Saavedra, comunicación personal.

contaminada de un animal a otro: inyecciones, castración, descorne, tatuajes, caravanas, premunición, cirugía ^(18,35).

El rol de la leche y del calostro como vías de contagio de la LBE está sujeto a algunas controversias. La ingestión de anticuerpos calostrales maternos en hijos de vacas positivas ejercería, en términos generales, un rol protector ⁽¹⁹⁾. Estos anticuerpos pasivos se mantienen en niveles detectables por las técnicas de rutina hasta los 8-10 meses de edad aproximadamente ^(25,35,52). Por otra parte, se ha demostrado que la administración de leche de vacas positivas a terneros de madres negativas favorece la instalación de nuevas infecciones ⁽¹²⁾. La transmisión vertical de la enfermedad posee un rol secundario, siendo responsable de entre 8 y 14 % de los casos ^(3,18,52).

Existen además factores genéticos relacionados con la susceptibilidad individual frente al vLB, al igual que para el desarrollo de linfocitosis persistente (LP), lo que está en relación con el antígeno linfocitario bovino (BoLA) ⁽²⁵⁾. El vLB es un ARN virus oncogénico exógeno, perteneciente a la familia *Retroviridae*, y dentro de ella conforma un grupo junto al HTLV-I y HTLV-II humanos ⁽¹⁴⁾.

En la actualidad el agente ha sido secuenciado en su totalidad, es decir, se conoce toda la secuencia de nucleótidos del genoma viral y las zonas que codifican para las distintas proteínas virales. Las secuencias más conservadoras son las que se utilizan para los iniciadores en la técnica de PCR, como las de los genes GAG, y POL (genes del virus de LBE).

Se posee un gen codificado por una proteasa que relaciona los genes GAG y POL, que se lee en los *open reading frame* SOR-LOR, activando la transcripción de los ARN mensajeros virales ⁽¹⁹⁾. Los elementos antigénicos de mayor interés son la proteína interna del virión, o antígeno p24, y la glicoproteína de la cubierta, antígeno gp51. Luego del contagio, el virus se aloja en los linfocitos, integrado en el genoma bajo forma de provirus, y la infección persiste de por vida. En la gran mayoría de los casos no se observa ninguna respuesta por parte

del huésped, salvo el desarrollo de anticuerpos específicos (seroconversión) ⁽²⁵⁾. En ciertas circunstancias, aproximadamente en el 30% de los seropositivos se produce una linfocitosis persistente (LP) debida especialmente a un incremento de linfocitos B ⁽⁷⁾. El desarrollo de la forma neoplásica de la enfermedad, linfosarcoma, es un resultado relativamente raro de la infección y se observa tan solo en el 3 al 5% de los animales infectados ⁽³⁵⁾.

De las numerosas técnicas utilizadas en el diagnóstico de la LBE, las más importantes son la inmunodifusión en gel de agar (IDGA) y de enzima ligada a un inmunoabsorbente (ELISA) ^(14,25). La técnica de ELISA ha demostrado ser más sensible que la IDGA, con la ventaja de que puede realizarse además en *pool* de muestras de suero o leche ^(5,8,26,41). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite la identificación del provirus, y constituye un método directo de detección, sumamente importante para los estudios epidemiológicos de la enfermedad ⁽¹⁸⁾. Al no disponerse hasta el presente de vacunas eficaces, el control de la LBE se debe hacer mediante identificación de positivos e instrumentación de medidas de manejo tendentes a evitar la difusión ⁽⁶⁾.

Dependiendo de las tasas de infección y de las limitantes económicas, se han postulado estrategias de control de la enfermedad mediante pruebas serológicas y eliminación, segregación o descarte selectivo ⁽³³⁾. Esta última, que se basa en la eliminación de los animales de mayor riesgo de contagio, puede constituir una opción interesante a considerar en la actual situación epidemiológica de la LBE.

En el Uruguay, la primera observación de Leucosis Bovina fue realizada por Quiñones y Casas (1963). Estudios clínicos y hematológicos fueron posteriormente efectuados por el Dr. Marco Podestá y col. (1971). A partir de entonces se constató un creciente interés por el tema, en particular luego de la introducción de la IDGA (1977) como técnica de diagnóstico. La preocupación de productores y autoridades sanitarias, rela-

cionadas fundamentalmente con restricciones en la exportación de bovinos lecheros (especialmente hacia el Brasil), centró la atención sobre la LBE a fines de la década del '80 e inicios del '90.

Las investigaciones nacionales realizadas hasta el presente se han centrado en la descripción de casos clínicos (Sienna, Bonnevaux, Martino 1983)⁽⁴⁵⁾, caracterización de nuevas técnicas de diagnóstico (Guarino, Saizar y Sienna, 1989)⁽¹⁵⁾, estudios de *cross section* sobre prevalencia (Guarino, Capano y Gil, 1991; Sienna y Guarino, 1991; Collazo y col., 1996; Mederos y col. 1998)^(8,16,31,41), alteraciones citogenéticas (Llambí y col. 1996)⁽²⁸⁾; seguimiento epidemiológico (Sienna y col. 1996a y 1996b)^(46,47) y caracterización hematológica (Sienna y col. 1998)⁽⁴⁹⁾. No existen hasta el presente en el Uruguay, antecedentes de publicaciones referidas al posible impacto productivo y reproductivo de la enfermedad.

1.2. Importancia Económica de la LBE

El efecto de la enfermedad sobre la producción ha sido objeto de discusión y con frecuencia se han observado resultados experimentales contradictorios. Las posibles pérdidas económicas pueden ser directas e indirectas. Las pérdidas directas son los costos asociados a la infección: disminución de la producción en animales clínica y subclínicamente afectados, costos de asistencia técnica para el diagnóstico de LBE y costos de los reemplazos por causas de muerte o refugio. Las pérdidas indirectas se relacionan con la disminución de los ingresos por trabas a la exportación de ganado o material genético y costos derivados de los sistemas sanitarios de regulación e investigación sobre la enfermedad⁽³⁷⁾.

Existen pocas dudas respecto a las pérdidas económicas que ocasiona la forma clínica de la enfermedad. Sin embargo, y salvo casos excepcionales, la incidencia de linfosarcoma es muy baja aún en establecimientos con elevada prevalencia de LBE⁽⁶⁾. Con respecto al real

impacto de la infección subclínica sobre los principales parámetros productivos y reproductivos, la bibliografía presenta informaciones contradictorias⁽³⁷⁾.

1.2.1. Producción de Leche

En un estudio realizado en dos rodeos lecheros de pedigree, Langston y col. (1978) encontraron que las vacas seropositivas presentaron una mayor producción por día y por lactancia frente a las negativas, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas⁽²⁷⁾. El seguimiento de un rodeo lechero durante 4 años realizado por Huber y col. (1981) no permitió establecer diferencias en producción con relación a la enfermedad, eficiencia reproductiva y longevidad⁽²⁰⁾.

En Chile, Reinhardt y col. (1988) constataron una reducción en la producción total por lactancia de 3,5% de las seropositivas frente a las negativas. Brenner y col. (1989), en un estudio caso-control apareado en edad y establecimiento, observaron una disminución similar de 3,5% en las vacas seropositivas que resultó ser estadísticamente significativa⁽⁴⁾. En un ensayo sobre 219 vacas servidas por 50 diferentes toros, Wu y col. (1989) no observaron diferencias en producción entre vacas positivas y negativas a la infección por el vLB. Sin embargo, aquellas vacas seropositivas que presentaron linfocitosis produjeron menos leche que lo esperado de su potencial lechero⁽⁵²⁾.

Luego de analizar 14 diferentes variables en un total de 61 rodeos tomados al azar, Jacobs y col. (1991), no pudieron detectar diferencias que fueran originadas como consecuencia de la infección por el vLB⁽²⁴⁾. Emanuelson y col. (1992) analizaron retrospectivamente un total de 14.424 establecimientos lecheros en Suecia y concluyeron que la producción lechera en aquellos establecimientos infectados resultó ser 2,5% inferior en relación a los negativos⁽¹³⁾. En otro estudio retrospectivo sobre un rodeo donde periódicamente se realizaban estudios hematológicos y serológicos (IDGA) para LBE, Da y col. (1993) evidenciaron que

los animales con LP presentaron menor producción de leche en relación al resto, aunque no observaron diferencias entre seropositivos sin LP y seronegativos ⁽¹⁰⁾.

1.2.2. Composición de la leche

Rusov y col. (1989) encontraron un incremento en el recuento de células somáticas (RCS) en vacas positivas y con LP frente a aquellas libres de la infección ⁽⁴²⁾. En un estudio retrospectivo, que abarcó un período de 8 años, Scott y col. (1990) también destacaron que las vacas positivas presentaron un RCS significativamente superior frente a sus congéneres negativas ⁽⁴³⁾. Similares observaciones fueron comunicadas por Jacobs y col. (1991), quienes destacaron que las diferencias desaparecieron luego de realizar los correspondientes ajustes por edad, días de lactancia y establecimiento ⁽²³⁾. En el ensayo de Heald y col. (1992) no pudieron detectar las diferencias en RCS previamente comunicadas por otros autores, entre las vacas positivas y negativas a la enfermedad ⁽¹⁷⁾. Sin embargo, Jacobs y col. (1995), en un importante relevamiento realizado en un total de 150 establecimientos, verificaron RCS superiores en la subpoblación de vacas seropositivas ⁽²⁴⁾.

Respecto a la composición de la leche, Wu y col. (1989) concluyeron que las vacas seropositivas y con LP presentaron un significativo descenso en la concentración de grasa butirométrica ⁽⁵³⁾. Similares resultados fueron obtenidos por Da y col. (1993) respecto al tenor graso de aquellas vacas infectadas que presentaron LP ⁽¹⁰⁾.

1.2.3. Desempeño Reproductivo

Los relevamientos realizados por Langston y col. (1978), y Huber y col. (1981) no evidenciaron ningún efecto de la infección sobre el desempeño reproductivo ^(19,27). En el estudio efectuado en Israel por Brenner y col. (1989) se constató un intervalo parto-concepción 48 días mayor en las vacas seropositivas, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ⁽⁴⁾. Similares observaciones fueron comunicadas por Ema-

nuelson y col. (1992), al analizar el desempeño reproductivo entre rodeos positivos y negativos ⁽¹³⁾.

Por otra parte Heald y col. (1992), en un estudio sobre un millar de vacas y 268 establecimientos, detectaron que las vacas positivas poseían un intervalo interparto 0,47 meses significativamente mayor que el de las seronegativas ⁽¹⁷⁾. Idénticas observaciones habían sido ya formuladas por Reindhart (1988) y Jacobs y col. (1995) ^(24,41).

1.2.4. Refugos

Ensayos realizados por Huber y col. (1981) y Heald y col. (1992) no pudieron detectar diferencias atribuibles a la enfermedad con relación a la tasa de refugo entre vacas positivas y negativas ⁽¹⁹⁾. Sin embargo, Thurmond y col. (1985), en un estudio retrospectivo de un rodeo con alta prevalencia de infección por el vLB, establecieron que las vacas seronegativas tenían una permanencia significativamente mayor en el rodeo, señalando que ello indicaba un incremento de refugos en el grupo positivo ⁽⁵⁰⁾.

Brenner y col. (1989) encontraron una tasa de refugo muy superior en las positivas (38,6%) frente a las negativas (10,7%), la cual resultó altamente significativa ⁽⁴⁾. También Emanuelson y col. (1992) destacaron una mayor tasa de refugo en los rodeos infectados frente a los negativos a la enfermedad ⁽¹³⁾.

Pollari y col. (1992) comunicaron que el grupo de refugo seropositivo y con linfosarcoma, tenía mayor producción que el refugo negativo durante su última lactación; pero aquellas con linfocitosis presentaban una producción inferior ⁽³⁸⁾. En un nuevo estudio Pollari y col. (1993) señalaron que el riesgo de ser refugado se incrementaba con la edad en el grupo seropositivo, lo que no acontecía en el negativo ⁽³⁹⁾. Finalmente Jacobs y col. (1995) constataron que el ganado adulto seropositivo era refugado a una tasa mayor con relación al negativo, aunque dicha diferencia no resultó estadísticamente significativa ⁽²⁴⁾.

El objetivo de la presente investigación fue establecer el efecto de la infección por

el vLB sobre el comportamiento reproductivo, la producción y la composición de la leche, y la incidencia de enfermedades asociadas y tasa de refugos. Asimismo, fueron analizados algunos aspectos epidemiológicos referidos a la dinámica de la enfermedad dentro de los rodeos.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Establecimientos

El ensayo se realizó en 4 establecimientos lecheros comerciales, que fueron seleccionados en base a los siguientes criterios:

- Existencia de antecedentes de LBE en el predio.
- Disponibilidad de adecuados registros reproductivos y productivos.
- Motivación del productor que ofrece el establecimiento y colabore en la toma de muestras y de información.
- Contar con asesoramiento veterinario permanente.

Los establecimientos eran remitentes a la Cooperativa Nacional de Productores de Leche, y se ubicaban en Maldonado y Soriano.

2.2. Animales

En el estudio de los parámetros reproductivos y productivos se incluyeron solamente vacas, excluyéndose las vaquillonas de primera cría. Las vacas, debidamente identificadas, fueron distribuidas en dos grupos según su condición serológica: seronegativas y seropositivas. Ambos grupos fueron objeto de un seguimiento que se extendió por un período de tres años.

Con la finalidad de establecer aspectos epidemiológicos relevantes de la dinámica de la enfermedad, se realizó el seguimiento de las terneras nacidas de las vacas incluidas en el ensayo.

2.3. Técnicas de Laboratorio

2.3.1. Diagnóstico de la Infección

El diagnóstico de la infección por el virus de la LBE se realizó mediante las técnicas de IDGA y ELISA (Guarino, Saizar y Sienra, 1989) ⁽¹⁵⁾:

-InmunoDifusión en Gel Agar (IDGA). Se realizó en suero sanguíneo, mediante el método en placa con el empleo de kits comerciales² en base a antígeno dual p24 y gp 51. Las lecturas se efectuaron mediante apreciación visual a las 48 horas.

- EnzimoInmunoAnálisis (ELISA). Tanto en suero como en leche, se usaron kits comerciales³ para técnica indirecta en microplaca de 96 pocillos, realizando la lectura mediante lector automático de microplacas⁴. Se consideraron sueros positivos a aquellos que a 405 nm evidenciaron lecturas superiores a la del suero control positivo (límite de positividad).

2.3.2. Composición de la leche

Al momento del control lechero se tomaron muestras de leche, con Bronopol como conservador, para estudiar en laboratorio los siguientes parámetros: conteo de células somáticas, proteínas y tenor de grasa. Para proteínas y materia grasa se utilizó la técnica automática mediante Milkoscan \hat{a} ⁴, mientras que el RCS se realizó con el método de Wisconsin.

2.3.3. Perfiles Metabólicos

Al inicio del ensayo, se efectuaron en las vacas las determinaciones séricas de los siguientes parámetros, mediante las técnicas de rutina: albúminas, globulinas, calcio, fósforo, proteínas totales, lípidos y urea.

2.3.4. Inmunoglobulinas séricas

Las concentraciones de inmunoglobulina G (IgG) de las terneras, fueron evaluadas mediante las técnicas de turbidez del Na₂SO₃ e InmunoDifusión Radial (IDR).

² Instituto Pourquier (Francia).

³ Elisa Test bovino Leucosis Serodiagnosis, Instituto Pourquier (Francia).

⁴ Multiskan MS., ver 08, Labsystem (Finlandia).

2.4 Registros Reproductivos y roductivos

Durante el ensayo se realizó un continuo seguimiento de los animales, incluyendo todos los registros individuales de sanidad y producción. La producción lechera se ajustó en base al programa de control lechero de la Asociación Rural del Uruguay (ARU).

2.5. Análisis Estadístico

El estudio se realizó en base al seguimiento prospectivo de cohortes (grupos de individuos que poseen un factor distintivo, en este caso el carácter positivo o negativo a la enfermedad; a diferencia de los estudios llamados caso-control, en los que primero se determina presencia o ausencia de la enfermedad para conformar los grupos, en los estudios de cohorte primero se selecciona la población y luego se establece su condición de sano o enfermo.

Se validaron los datos correspondientes a lactancias completas sin modificaciones de la condición serológica. Aquella lactancia de vacas que seroconvirtieron durante el transcurso de la misma fueron eliminadas del estudio. Para la producción de leche se realizó un análisis de varianza a través del uso de modelos lineales. Se ajustaron los datos por número de lactación y establecimiento, que podrían actuar como factores de confusión.

La producción de grasa y el contenido proteico se evaluaron a través de modelos lineales generales. Los datos se ajustaron por establecimiento y número de lactancia, para remover los efectos residuales de lactación que podían generar diferentes estructuras productivas en los establecimientos.

En el análisis de conteo de células somáticas se categorizaron los animales en dos grupos: menos de 200.000 y mayor o igual a 200.000 células/ml. Se relacionó en una tabla de 2 x 2 condición serológica y RCS.

Para el intervalo parto-primer servicio se realizó un análisis de varianza a través

del uso de modelos lineales. Se ajustaron los datos por número de lactación y establecimiento, los cuales podrían actuar como factores de confusión. Debido a que el factor establecimiento no tuvo significación, éste fue posteriormente considerado en el modelo de la evaluación del factor enfermedad. Se comparó el número de servicios necesarios por preñez en los animales positivos y negativos mediante el test de Chi cuadrado.

Se analizó la relación entre servicios y lactaciones, así como entre lactación y leucosis. Al demostrarse que actuaban independientemente unos de otros, no fue necesario estratificar para estos factores y pudieron ser tratados en forma cruda.

Para el intervalo interparto (IIP) se realizó un análisis de varianza a través del uso de modelos lineales. Se ajustaron los datos según número de lactancia y establecimiento, elementos que podrían actuar como factores de confusión.

Para la comparación del efecto de la infección con respecto a los perfiles metabólicos en las vacas y a los niveles de IgG en terneras, se utilizó el test de t de Student para muestras independientes.

Las otras variables discretas, tales como refugos y enfermedades asociadas al parto, también fueron evaluadas mediante el test de Chi cuadrado. En todos los casos se consideraron como niveles de significación estadística aquellos con $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Producción y composición de la leche

3.1.1. Producción Lechera

La producción de leche de las vacas fue ajustada por edad y por días de lactancia, mediante el programa de Control Lechero de la ARU. En total, fueron validadas 473 lactancias, 211 de vacas negativas y 262 de positivas. En un análisis simple de varianza la producción total por lactancia ajustada fue de

6173.5±1535.1 litros para las negativas y 6333.3±1618.3 litros para las positivas (F = 1,19 correspondiendo a p = 0,28 n.s.).

A los efectos de determinar la influencia de los diferentes factores se realizó un análisis de regresión lineal, en el que se determinó el efecto de la enfermedad, el establecimiento y el número de lactación (cuadros 10 y 11). Como resultado del mismo se observó una F = 0, lo que indica que no se constató ninguna influencia de la enfermedad sobre la producción de leche. Por el contrario, y tal como era de esperar, se apreció una influencia significativa del factor establecimiento.

3.1.2. Grasa Butirométrica

La producción total de grasa ajustada por lactancia fue analizada en 260 vacas, 98 negativas y 162 seropositivas. En un análisis inicial general de varianza se observó una producción de 218,51±45,7 kg para las negativas y 218,49±54,3 kg en las positivas, lo que fue equivalente a F = 0 (n.s.).

En el análisis más detallado, utilizando los modelos lineales se verificó que, igual a lo sucedido con la producción total de leche, existió un claro efecto de establecimiento, e independencia respecto a lactación y enfermedad (F = 1.09 n.s.).

3.1.3. Proteínas Totales

La determinación de las proteínas lácteas totales corresponde al seguimiento de 96 animales negativos y 83 positivos. Se realizó una determinación mensual de cada animal durante 4 meses, y el promedio individual constituyó la base

del cálculo para comparar el efecto de la enfermedad.

El análisis general de varianza evidenció una concentración de proteínas de 3,157±0,249g % en las negativas, y 3,111±0,216 g % en las positivas, lo que correspondió a F=1,73 (n.s.). A los efectos de un estudio más profundo, con la finalidad de establecer el grado de influencia de las diferentes variables, se efectuó un análisis de regresión lineal, considerando el efecto de la enfermedad, el establecimiento y número de lactancia. Como resultado del mismo se obtuvo una F = 1,04, lo que indica ausencia de significación estadística. Ello expresa que en el estudio realizado no se detectó ningún efecto derivado de la condición serológica de los animales sobre las concentraciones de proteínas lácteas totales. Tampoco aquí se observó un efecto atribuible a los establecimientos, aunque sí existió influencia derivada del número de lactancia.

La relación entre producción total por lactancia, producción de materia grasa y porcentaje de proteínas con relación a la enfermedad se presenta en el cuadro 1.

3.1.4. Recuento de Células Somáticas

Para el estudio de las células somáticas en leche se hicieron un total de cuatro observaciones por vaca, y se realizaron luego los correspondientes promedios individuales. Posteriormente los datos individuales se distribuyeron en dos grupos: grupo 0 correspondiendo a contajes menores a 200.000 células, y grupo 1 con contajes de 200.000 células/ml o mayores.

Cuadro 1. Principales parámetros productivos en relación a la condición serológica de las vacas.

Parámetro	Condición serológica		p
	Negativa	Positiva	
Lactancia Total (l) (x±s)	6.173± 1.535	6.333± 1.638	n.s.
Grasa Total (kg) (x±s)	218 ± 45,7	218 ± 54,3	n.s.
Proteínas (g %) (x±s)	3,16 ± 0,3	3,11 ± 0,2	n.s.

Cuadro 2 Asociación entre recuento de células somáticas en leche y condición serológica de las vacas.

RCS Somáticas (n° /ml)	Condición serológica	
	Negativa	Positiva
< 200.000	42	4
200.000 o >	49	2

Chi-cuadrado 0,97; p = 0,33

El análisis de Chi-cuadrado evidenció ausencia de asociación entre contaje celular en leche y condición serológica de las vacas (cuadro 2).

3.2. Parametros reproductivos

3.2.1. Parto Primer Servicio

El intervalo entre el parto y el primer servicio (PPS) fue analizado en 217 vacas, 91 negativas y 126 positivas. Dicho período se presentó similar en ambos grupos: $92,3 \pm 41,2$ días en las negativas frente a $96,4 \pm 47,3$ días para las positivas. En un análisis preliminar de varianza se verificó que las diferencias detectadas entre ambas poblaciones de vacas carecen de significación estadística. En el análisis de regresión lineal se verificó la ausencia del efecto de la infección sobre el intervalo PPS, arrojando una $F = 0,44$ que corresponde a $p = 0,51$ (n.s.)

3.2.2. Servicios por Concepción

La relación Servicios/Concepción fue establecida con la información proveniente de aquellas vacas en las cuales se realizó diagnóstico de preñez por palpación

rectal y que, posteriormente, parieron en la fecha prevista. Ello determinó la no-consideración de animales incluidos en el cronograma de seguimiento y que completaron una única lactancia. Tampoco se incluyeron vacas refugadas por diferentes causas -a pesar de tener resultado positivo al tacto-, ni las que seroconvirtieron durante el período de servicios (cuadro 3).

Se incluyeron en el registro 151 vacas, 66 seronegativas y 85 seropositivas. En el análisis crudo de la información se observa que en las vacas seronegativas se requirieron 1,67 servicios por preñez, mientras que en las positivas la relación fue de 2,02 lo cual en una primera evaluación resultó en una diferencia manifiesta. Para su análisis más detallado los datos fueron agrupados en dos categorías: vacas que requirieron uno o dos servicios, y animales con tres o más servicios por concepción. Como se puede observar en el cuadro 4, existió un chi-cuadrado de 3,65 que se encuentra muy próximo a la significación estadística y que refleja una clara tendencia de las vacas seropositivas a requerir un mayor número de servicios por preñez. Ello representó un $OR=2,20$.

Cuadro 3. Vacas que requirieron menos de 3 y más de 2 servicios por concepción, según condición serológica.

Número de Servicios	Condición Serológica	
	Negativa	Positiva
1 - 2	56	61
> 2	10	24

Chi-cuadrado 0,37; p = 0,

Cuadro 4. Efecto de la infección por el vLB sobre los principales indicadores reproductivos.

Parámetro	Condición serológica		p
	Negativa	Positiva	
Parto – 1er Servicio (x±s)	92,3 ± 41,2	96,4 ± 47,3	n.s.
Servicios / Concepción.	1,67	2,02	n.s.
Intervalo Interparto (x±s)	389 ± 46	417 ± 64	0,02

El análisis de la relación entre número de lactación y servicios/concepción reveló que éste no fue un factor asociado que influyera significativamente. Para su análisis, las lactancias fueron agrupadas en menos de tres y más de tres, resultando un Chi-cuadrado de 0,74 equivalente a $p = 0.38$.

3.2.3. Intervalo Inter Parto (IIP)

Las observaciones validadas para analizar este parámetro correspondieron a un total de 142 vacas (70 negativas y 72 positivas), sobre las cuales se efectuó el seguimiento durante dos lactancias completas. En la estadística descriptiva general, se observó que la población de vacas negativas presentó un IIP de 389,1 ± 46,34 días, mientras que en el caso de positivas el mismo fue de 416,6 ± 63,9 días. En un análisis más detallado, mediante la aplicación de regresión lineal, se investigó la participación de los diferentes factores sobre el IIP. Los resultados indican la influencia de los factores establecimiento y enfermedad, así como la independencia del número de lactancia. Realizados los ajustes correspondientes, se obtuvo que la enfermedad con relación a IIP presenta una $F = 5,58$ lo cual es altamente significativo y representa $p = 0,02$. Los principales parámetros reproductivos con relación a la con-

dición serológica de las vacas se presentan en el cuadro 4.

3.3. Enfermedades asociadas y tasa de refugos

3.3.1. Enfermedades Asociadas

Si bien se estableció la incidencia de las principales patologías registradas en las vacas durante sus lactancias, sólo se reportan como de interés -por su frecuencia- aquellas asociadas con el parto. El análisis incluye las observaciones obtenidas de un total de 331 partos, correspondientes a 122 vacas negativas y 209 positivas.

Las alteraciones presentaron una frecuencia general de 7,6% y se distribuyeron en tres grupos: Retención de Placenta, Distocia y Mastitis Aguda Posparto (cuadro 5). Aquellos problemas que determinaron la muerte de animales no se incluyen, ya que se encuentran considerados dentro de las muertes en la sección de refugos.

3.3.2. Tasa de Refugos

En un primer análisis se incluyen como refugos todas aquellas vacas que, estando presentes al inicio del ensayo, no concluyeron el periodo de seguimien-

Cuadro 5. Frecuencia de alteraciones Posparto con relación a la condición serológica de las vacas.

Grupo de Vacas	Nº	Ret. Placenta	Distocia	Mastitis	Total
Seronegativo	122	6	2	1	9
Seropositivo	209	8	6	2	16
Total	331	14	8	3	25

to. En este sentido amplio se encuentran tanto animales que murieron o que fueron eliminados del tambo por diferentes motivos. El número de refugos se presentó superior en el lote seropositivo, pero la prueba de Chi cuadrado evidenció la ausencia de asociación significativa entre los refugos verificados en cada grupo de vacas ($p=0,18$) (cuadro 6). Si bien no existieron variaciones de significación respecto a los refugos, las causas - especialmente la infertilidad- no se presentaron similares entre ambos grupos (cuadro 7).

3.4. Perfiles metabólicos e inmunitarios

3.4.1. Perfiles Metabólicos de las Vacas

Los principales parámetros metabólicos fueron estudiados en un total de 144 vacas en ordeño (64 seronegativas y 80 seropositivas) de un mismo establecimiento. En la totalidad de los parámetros analizados no se verificó ninguna diferencia significativa entre los grupos negativo y positivo (cuadro 8).

Cuadro 6. Número de vacas refugadas con relación a su condición serológica.

Condición del ganado	Seronegativas	Seropositivas	Total
Permanencia en el rodeo	88	99	187
Refugadas	17	30	47
Total	105	129	234

Chi-cuadrado = 1,80 $p < 0,18$.

Cuadro 7. Motivos de Refugo según la condición serológica de las vacas.

Grupo	Causa del Refugo						Total
	Muerte	Infert.	Ubre	Patas	Otras	Edad	
Seronegativo	6	1	2	0	2	6	17
Seropositivo	8	6	4	3	4	5	30
Total	14	7	6	3	6	11	47

Cuadro 8. Parámetros serológicos analizados en el perfil metabólico de ambos grupos de vacas.

Parámetro Estudiado	Grupo Seronegativo		Grupo Seropositivo	
	x + s	p	x + s	p
Albúmina	2,90 ± 0,33	ns	2,93 ± 0,50	ns
Calcio	8,87 ± 0,49	ns	9,10 ± 0,55	ns
Fósforo	4,48 ± 0,69	ns	4,33 ± 0,59	ns
Globulinas	3,76 ± 0,42	ns	3,85 ± 0,54	ns
Lípidos	3,99 ± 0,98	ns	3,87 ± 0,70	ns
Proteínas	6,66 ± 0,45	ns	6,78 ± 0,51	ns
Rel. Ca/P	2,05 ± 0,31	ns	2,14 ± 0,32	ns
Urea	0,226 ± 0,05	ns	0,230 ± 0,04	ns

3.4.2. Inmunoglobulinas Séricas en las Terneras

En la técnica del sulfito de sodio, de las 97 muestras analizadas, los resultados de precipitación frente a las tres diluciones de Na_2SO_3 son expresados en el cuadro 9. En la misma se observa que tan solo dos animales se diagnosticaron como serológicamente inmunodeficientes y ambos pertenecieron al grupo de terneras seronegativas.

Desde el punto de vista estadístico, la prueba de Chi cuadrado confirmó la inexistencia de asociación entre Inmunoglobulinas séricas evaluadas cualitativamente mediante sulfito de sodio y la condición serológica de las terneras al nacimiento (Chi-cuadrado= 2,15 p = 0,341).

En la técnica de la inmunodifusión radial, la determinación de las concentraciones de IgG fue efectuada mediante IDR sobre las mismas terneras que se evaluaron cualitativamente mediante sulfito de sodio. Las terneras negativas presentaron concentraciones de 4795 ± 1965 mg/dl, mientras que las positivas presentaron concentraciones algo superiores: 5184 ± 1507 . Los dos animales evidenciados como inmunodeficientes con el sulfito también lo fueron en esta prueba, con concentraciones séricas < 800 mg/dl. El resto de los animales presentaron niveles normales de IgG, y no existieron diferencias significativas entre ambos grupos.

3.5. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad

3.5.1. Relación entre la condición Serológica de las madres y sus crías

La condición serológica de las terneras al nacimiento fue evaluada frente a la constatada en sus madres un mes antes del parto. Sobre un total de 138 terneras estudiadas, 70 descendían de madres seropositivas y 68 de seronegativas. La serología de las crías luego del nacimiento y del consumo de calostro en relación con la condición materna se presenta en el cuadro 10.

En el análisis estadístico, la prueba de chi-cuadrado mostró una asociación altamente significativa entre la serología materna y de la cría (chi-cuadrado = 39.86, $p < 0,0005$). Sin embargo, se debe destacar que un 25,7% de terneras hijas de madres positivas no evidenciaron presencia de anticuerpos pasivos luego del nacimiento. Por otra parte, el 20% de las terneras hijas de vacas seronegativas resultaron positivas a la IDGA.

3.5.2. Transmisión Vertical de la Enfermedad

De las 138 terneras incluídas en el ensayo, 7(5%) se mantuvieron seropositivas desde el nacimiento hasta el año de edad, lo que indica una persistencia se-

Cuadro 9. Prueba del Sulfito de Sodio en ambos grupos de terneras.

GRUPO	N°	18%	16%	14%
Seronegativo	49	2	5	42
Seropositivo	48	0	4	44
TOTAL	97	2	9	86

Cuadro 10. Relación entre la condición serológica de las terneras respecto a sus madres.

Condición Serológica	Madre Positiva	Madre Negativa	Total
Ternera positiva	52	14	66
Ternera negativa	18	54	72
TOTAL	70	68	138

rológica originada por una infección activa. En 5 casos las madres fueron seropositivas, y en los 2 restantes seronegativas. Ello significaría que, al menos en algunos de estos casos, se trató de infecciones horizontales previas a la baja natural de los anticuerpos calostrales pasivos.

3.5.3. Persistencia de los Anticuerpos Pasivos Calostrales

El seguimiento de 51 terneras que fueron seropositivas al momento de la primera muestra, y que luego se negativizaron, permitió establecer el tiempo de persistencia de los anticuerpos calostrales. Utilizando la técnica de IDGA, los anticuerpos pasivos decrecieron con la edad de los animales, no siendo detectados más allá del 8° mes de vida. La relación entre la edad y la presencia de anticuerpos maternos se establece en el cuadro 11.

3.5.4. Nuevas Infecciones

Transmisión Horizontal. En el transcurso del primer año de vida, el seguimiento de las 138 terneras permitió detectar un total de 20 infecciones horizontales, caracterizadas por seroconversión a partir de su negatividad previa. Esta transmisión horizontal del agente de la LBE se presentó en forma independiente de la condición de la madre y de la cría al momento del parto (cuadro 12).

4. DISCUSION

Los resultados del presente estudio constituyen el primer aporte nacional respecto al efecto de la infección subclínica por el virus de la LBE sobre parámetros de importancia económica. La ausencia de relación entre producción lechera e infección está en coincidencia con observaciones previas de varios autores (Huber y col., 1981; Wu y col., 1989; Jacobs y col., 1991), y contrapone a lo comunicado por Reinhardt y col. (1988) y Brenner y col. (1989). La pequeña diferencia en producción total por lactancia a favor del grupo de vacas seropositivas, aunque estadísticamente no significativa, representa una circunstancia anteriormente mencionada por Langston y col. (1978). Ella podría estar relacionada, tal como lo ha observado Wu y col. (1989), con un eventual incremento en la susceptibilidad a la infección en individuos con mayor potencial lechero.

Debido a que en el presente estudio no se efectuaron estudios hematológicos a efectos de detectar a las subpoblaciones de seropositivas con y sin LP, no resulta posible descartar eventuales diferencias en su desempeño, tal como fuera observado por Pollari y col. (1992) y Da y col. (1993). Nuevos ensayos deberán ser emprendidos para incluir estas interrogantes sobre el posible detrimento productivo en individuos con LP. Ello abre un

Cuadro 11. Número y porcentaje de terneras con anticuerpos calostrales anti-LBE en función de la edad.

Mes de vida	1	2	3	4	5	6	7	8
n° con anticuerpos	51	49	41	31	13	3	2	0
% " "	100	96	80	61	25	6	4	0

Cuadro 12. Nuevas infecciones: Condición serológica de las madres y de las terneras al momento del nacimiento.

Serología Materna	Ternera Positiva	Ternera Negativa	Total
Positiva	6	2	8
Negativa	6	6	12
TOTAL	12	8	20

importante campo de investigación, ya que dichos animales representan, además, el factor de riesgo más importante para la transmisión de la enfermedad.

La ausencia de variaciones en proteínas y tenor butirométrico por efecto de la infección por el vLB, coincide con los resultados obtenidos por otros investigadores (Jacobs y col., 1991 y Heald y col. 1992). Ello se contrapone con lo informado por Wu y col. (1989), quienes determinaron una significativa disminución en el porcentaje de grasa asociado a la infección y a la LP.

Respecto al RCS, los resultados no conciden con los comunicados por Rusov y col. (1989), Scott y col. (1990), y Jacobs y col. (1995). Ello constituye una observación importante en razón del sistema de bonificación por calidad vigente en Uruguay para el pago de la leche. Si la enfermedad produjera un eventual incremento en el RCS en las vacas positivas, muchos productores del país con elevada prevalencia de la enfermedad en sus rodeos, podrían sufrir perjuicios económicos por calidad. La ausencia de tal asociación permite eliminar a la LBE como uno de los posibles factores que expliquen el problema de elevados RCS.

El efecto negativo de la infección sobre el intervalo interparto (IIP) constituye una constatación que, si bien ya ha sido formulada por otros autores (24,41), no deja de llamar la atención. La diferencia fue de elevada significación estadística y representa promedialmente un IIP prácticamente un mes mayor en el grupo de animales seropositivos. Este incremento es casi el doble del observado por Heald y col. (1992), quienes también verificaron diferencias significativas en el IIP entre ambos grupos de vacas.

El incremento del IIP en las vacas seropositivas no puede ser atribuido a un enlentecimiento en el retorno al servicio -anestro posparto-, debido a que el intervalo parto-primer servicio fue prácticamente idéntico en ambos grupos (92 vs. 94 días para las negativas y positivas, respectivamente). Por tanto, el motivo principal se relacionaría con la disminución en el índice de concepción, que en el presente estudio se presentó en el

límite de la significación estadística ($p=0.052$).

Probablemente deban profundizarse los estudios sobre los aspectos específicamente reproductivos, a fin de corroborar los presentes resultados y extraer conclusiones definitivas al respecto.

La incidencia de enfermedades asociadas al parto se presentó en porcentajes bajos y en forma independiente de la situación serológica de las vacas. Ello indicaría que la enfermedad no posee ningún efecto de predisposición frente a las patologías puerperales analizadas en el estudio.

En los establecimientos y animales en seguimiento el índice general de refugo fue bajo con relación a lo observado en otros países. La inexistencia de asociación entre refugo e infección coincide con lo comunicado por Huber y col. (1981), Heald y col. (1992) y Jacobs y col. (1995), en contraposición con lo observado por Thurmond y col. (1985), Brenner y col. (1989) y Pollari y col. (1993). Con respecto a las causas específicas de refugo, se debe destacar que la más importante fue la muerte, seguida por el descarte debido a la edad, circunstancia que se presentó similar entre vacas positivas y negativas. No obstante, importa señalar que el refugo por infertilidad fue mucho más frecuente en las seropositivas, aunque el número de observaciones efectuadas no permite plantear generalizaciones.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que la condición serológica de las vacas y el refugo pueden ser independientes una de la otra, pero contener un factor en común que influya tanto a la susceptibilidad a la infección como el refugo (Heald y col., 1992).

La ausencia de efectos detectables de la infección por el vLBE sobre los parámetros productivos analizados constituye un resultado a destacar. El mismo representa la primera información generada a nivel nacional sobre el tema y aporta un elemento de juicio de interés que puede ser manejado tanto a nivel de predio como por parte de quienes tienen la responsabilidad de establecer las normas de control sanitario.

En el presente ensayo no se ha encontrado relación entre la infección por el VLB y los principales parámetros séricos relacionados con el metabolismo de vacas en producción, lo que confirma observaciones previas de otros investigadores ⁽²⁵⁾. Tampoco se han detectado alteraciones en los niveles de IgG séricas en las terneras en relación con su condición serológica. Ello debe ser atribuido a que en dicha categoría, la inmensa mayoría de los casos positivos son debidos a la absorción de anticuerpos colaterales maternos en ausencia de infección ^(2,22,36,48,52).

El estudio confirma que la condición serológica de la madre posee una fuerte influencia sobre la observada en las crías luego del nacimiento, circunstancia unánimemente observada por los investigadores ^(17,18,20,25). Sin embargo, cabe resaltar que el 25% de las terneras hijas de vacas positivas no evidenciaron la presencia de anticuerpos séricos de origen materno, lo que indica que no necesariamente en esos casos todas las terneras resultan positivas. El porcentaje se presenta similar al comunicado en Chile por Villouta y col. (1990). Sin embargo, es más llamativa y difícil de explicar la seropositividad evidenciada en el 20% de las terneras hijas de vacas seronegativas, circunstancia que ya ha sido discutida por otros autores ⁽¹²⁾. Si bien puede existir algún caso de error de identificación y registro, éstos no podían adquirir tal magnitud en los establecimientos estudiados. Otra posible explicación es la absorción de anticuerpos colostrales luego de que las terneras se retiraron de sus madres y pasaron a tomar mezcla de calostro y leche de varias vacas. Estos casos se relacionarían con una permanencia al pie de la madre inferior a las 36-48 h y a una prolongada capacidad intestinal de absorción de anticuerpos.

El ensayo permitió corroborar la prolongada persistencia (varios meses) de los anticuerpos pasivos en las terneras, en ausencia de infección. Los anticuerpos van declinando progresivamente, y al quinto mes desaparecieron en el 75% de los animales. Sin embargo, algunos de ellos se mantienen seropositivos hasta el séptimo mes. Tal circunstancia confir-

ma la recomendación formulada por los investigadores respecto a no interpretar como infectados a animales seropositivos menores de 8-10 meses de edad ^(2,6,17,25,35,36).

Se sospecha infección vertical o intrauterina al menos en 5 de las terneras nacidas de madres seropositivas; de lo contrario, se trataría de infecciones adquiridas luego del nacimiento, mientras todavía se mantenían presentes anticuerpos de naturaleza calostrales. Mediante las técnicas utilizadas en este ensayo no fue posible diferenciar ambas situaciones, y en próximos estudios se recurrirá a técnicas que pongan directamente en evidencia la presencia del provirus, como es el caso de PCR ^(28,34).

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el estudio permiten establecer las primeras respuestas de la investigación nacional respecto al eventual impacto económico de la LBE, en establecimientos lecheros comerciales. La ausencia de repercusiones de la infección subclínica sobre los parámetros productivos permite orientar las investigaciones hacia otros aspectos fundamentales de la enfermedad. En tal sentido se recomienda profundizar las investigaciones en los aspectos relacionados con el desempeño reproductivo de los rodeos infectados, en un enfoque global de los problemas de infertilidad.

Las variaciones observadas en el IIP y servicios/concepción constituyen aspectos fundamentales y que deberán ser considerados prioritariamente. Asimismo, también sería conveniente evaluar el desempeño de las dos subpoblaciones seropositivas, a los efectos de evitar enmascarar los posibles impactos negativos de los animales con LP cuando se analizan junto al resto de los seropositivos. La inclusión de técnicas biomoleculares, como el PCR, posibilitará además detectar y cuantificar al provirus y establecer los grupos de riesgo más importantes dentro de los rodeos.

Para realizar las investigaciones propuestas, se deberá organizar un grupo de estudio multidisciplinario e interinstitucional, que perseguirá un mayor conocimiento epidemiológico de la enfermedad y permitirá ofrecer respuestas concretas sobre los reales efectos de la misma en los establecimientos afectados.

6. AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a todas aquellas Instituciones y personas que permitieron la realización del presente estudio. Un reconocimiento en particular para:

- El Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria por su colaboración financiera;
- La Facultad de Veterinaria, por su apoyo institucional y operativo;
- A los Doctores Juan Villamil y Gabriel García Pintos, por su directa participación en las tareas de campo;
- A los señores González Victorica y a Viotti Hnos., y a aquellos otros que, solicitando el anonimato, permitieron concretar el desarrollo de la fase experimental;
- Al Dr. Alvaro Nuñez y a la Sra. Gladys González, por su colaboración en las actividades de laboratorio.
- A Conaprole, y en particular a los doctores Omar Landeira y Raquel Bianco, y al Ing. Quím. Dopesso por el procesamiento de las muestras de leche.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; BIRGEL, E.H. (1992). Estudio epidemiológico de la Leucosis Enzoótica de los bovinos en rebaño bovino lechero de la raza Holandesa Negra y Blanca. XIII Congr. Panam. Cien. Vet (Chile) 1992 P 196
2. ANUARIO DE SANIDAD ANIMAL (1994) n. 34. FAO-OIE-WHO. Roma 250p.
3. BRENNER, J. & TRAININ, Z. (1989^a). Bovine Leukosis Virus. A Review, with emphasis on Israeli aspects. Israel J. Vet. Med. 45(2):95-105.
4. BRENNER, J.; VAN-HAAM, M.; SAVIR, D.; TRAININ, Z. (1989b). The implication of BLV infection in the productivity, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. Vet. Immunol. Immunopathol. 22:299-305, 1989b
5. BRENNER, J.; MOOS, S.; MOALEM, U. (1994). A comparative study of the Elisa and Agid techniques for the detection of Bovine Leukosis virus antibodies in bovine serum and milk. Israel Vet. J. 49(4):165-167
6. BRUNNER, M.A.; LEIN, D.H.; DUBOVIE, J. (1997). Experiences with the New York State Bovine Leukosis virus eradication and certification program. Vet. Clin. North Am. 13(1):143-150.
7. CHIBA, T.; HIRAGA, M.; AIDA, Y.; AJITO, T.; ASAHINA, M.; WU, D.; OHSHIMA, K.; DAVIS, W.C.; OKADA, K. (1995). Immunohistologic studies of subpopulations of lymphocytes in cattle with Enzootic Bovine Leukosis. Vet. Pathol. 32(5): 513-520.
8. COLLAZO, L.; NAVARRO, M.; TONNA, T.; LAVARELLO, L.; MARTINICORENA, M.; BOTTA, G.; FORRISI, G.; GRIFFIN, C.; GARGANO, A.; SARKIS, M.; PEREYRA, R.; AGUIRRE, G. (1996). Leucosis Bovina Enzoótica en la Cuenca Lechera de Salto. VI Congr. Nal. Vet (Montevideo) 11-15 nov.
9. COUDERT, M.; FEDIDA, M. (1991). Actualites en Epidemiologie Animale: situation sanitaire de la France en Pathologie Bovine. Sci.Vét.Méd.Comp. 93(1/2):33-46.
10. DA, Y.; SHANKS, D.; STEWARD, J.A.; LEWIN, H.A. (1993). Milk and fat decline in bovine Leukemia virus-infected Holstein cattle with Persistent Lymphocytosis. Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6538- 6541.
11. DETILLEUX, J.C.; FREEMAN, A.E.; MILLER, L.D. (1991). Comparison of natural transmission of bovine leukaemia virus in Holstein cows or two genetic lines selected for high and average milk production. AM.J.Vet.Res. 52(9):1551-1559.
12. DIMMOCK, C.K.; CHUNG, Y.S.; MACKENZIE, A.R. (1991). Factors affecting the natural transmission of bovine leukaemia virus infection in Queensland dairy herd. Austr.Vet.J. 68(7):230-233.
13. EMANUELSON, U.; SCHERLING, K.; PETTERSSON, H. (1992). Relationship between herd Bovine Leukemia Virus infection status and reproduction, disease

- incidence and productivity in Swedish dairy herds. *Prev.Vet.Med* 12(3):121-131.
14. EVERMANN, J.F. & JACKSON, M.K. (1997). Laboratory diagnostic test for retroviral infections in dairy and beef cattle. *Vet.Clin. North Am.* 13(1):87-106.
 15. GUARINO, H.; SAIZAR, J.; SIENRA, R. (1989). Comparación de las técnicas de Inmunodifusión en Gel Agar (IDGA) e Inmunoenzimáticas (ELISA), en el diagnóstico serológico de la Leucosis Bovina Enzoótica. XVII Jorn. Urug. Buiatría, Paysandú (Uruguay) c.c.4:1-7
 16. GUARINO, H.; CAPANO, F.; GIL, A. (1991). Leucosis Bovina Enzoótica: relevamiento serológico en establecimientos del sur del país. II Jorn.Téc.Fac.Vet. (Montevideo) Nov.14-16, p.40.
 17. HEALD, M.T.S.; WALTNER-TOEWS, D.; JACOBS, R.M. MCNAB, W.B. (1992). The prevalence of antibovine leukemia virus antibodies in dairy cows and association with farm management practices, production and culling in Ontario. *Prev.Vet.Med.* 14(1):45-55.
 18. HOPKINS, S.G. & DIGIACOMO, R.F (1997). Natural transmission of Bovine Leukemia virus in Dairy and beef cattle. *Vet.Clin. North Am.* 13(1):107-128.
 19. HUBER, N.L.; DIGIACOMO, R.F.; EVERMANN, J.F.; STUDER, E. (1981^a). Bovine Leukemia virus infection in a large Holstein herd: cohort -analysis of the prevalence of antibody-positive cows. *Am.J.Vet.Res.* 42(9): 1474-1476.
 20. HUBER, N.L.; DIGIACOMO, R.F.; EVERMANN, J.F.; STUDER, E. (1981^b). Bovine Leukemia virus infection in a large Holstein herd: prospective comparison of production and reproductive performance in antibody-negative and antibody-positive cows. *Am.J.Vet.Res.* 42(9):1477-1481.
 21. HUCI, N.; SEGADE, G.; RAMIREZ, V.; GONZALEZ, A. Diagnóstico de Leucosis Bovina Enzoótica en Rodeo Lechero de Exportación. *Vet.Arg.* 12(121):17-22
 22. ISLAS, A.; LOPEZ, J.; MONTES, G.; BORQUEZ, F (1992). Detección de anticuerpos de la Leucosis Bovina Enzoótica en terneros de lechería alimentados con calostro de vacas seropositivas en los primeros meses de vida. *Avan.Cienc.Vet.* 7(1):51-55.
 23. JACOBS, R.M.; HEENEY, J.L.; GODKIN, M.A., LESLIE, K.E.; TAYLOR, J.A.; DAVIES, C.; VALLI, V.E.O. (1991). Production and related variables in Bovine Leukemia virus-infected cows. *Vet.Res. Commun.* 15:463-474.
 24. JACOBS, R.M.; POLLARI, F.L.; MCNAB, E.B.; JEFFERSON, B. (1995). A serological survey of Bovine Syncytial virus in Ontario. Associations with Bovine Leukemia and Immunodeficiency like viruses, production records and management practices. *Can. J. Vet. Res.* 59(4):271-278.
 25. JOHNSON, R. & KANEENE, B. (1992). Bovine Leukaemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. *Vet.Bull.* 62(4):278-312.
 26. KNAPEN, K.; KERKHOF, P.; MAMMERICX, M. (1993). Eradication de la Leucose Bovine Enzootique en Belgique: bilan du déspistage de masse réalisé sur l'ensemble du chaptel national en 1989,1990 et 1991. *Ann.Méd.Vét.* 137(3):197-201.
 27. LONGSTON, A.; FERDINAND, G.A.; RUPPANNER, R. YCOL. (1978). Comparison of production variables of bovine leukemia virus antibody-negative and antibody-positive cows in two California dairy herds. *Am.J.Vet.Res.* 39:1093-1098.
 28. LLAMBI, S.; DIANA, V.; DE TORRES, H.; GUEVARA, K.; SKAPINO, M.; SAIZAR, J. (1996). Diagnóstico molecular (Técnica de DA-PCR) y aspectos citogenéticos de la Leucosis Bovina Enzoótica. VI Congr. Nal. Vet (Montevideo) 11-15 nov..
 29. LUCAS, M.H.; ROBERTS, D.H.; BANKS, J. Shedding of Bovine Leukosis virus in nasal secretions of infected animals. *Vet.Rec.* 132(11):276-278,1993
 30. MAMMERICX, M.; ANTOINE, O.; BURNY, A.; DESMECHT, M.; KERHOF, P.; PALM, R.; PORTETELLE, D.; WELLEMANS, G.; WYFFELS, R. (1989). Etude des relations entre l'infection par le BLV (Bovine Leukemia Virus), la lymphocytose persistente et les infections par d'autres agents infectieux dans un troupeau de bovins. *Ann.Méd.Vét.* 133(6):515-524.
 31. MEDEROS, A. & IRIGOYEN, D. (1998). Relevamiento epidemiológico de diarrea viral bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina y leucosis bovina en predios lecheros del noreste de Uruguay XXVI Jor. Urug. Buiatría (Paysandú) 18-20 junio, pág.19-20.
 32. MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA FORET, FRANCE. Decret n. 901223 du 31 dec. 1993. *J. Off. Republ.Francaise.* 1er. Janvier 1991 p.29-30
 33. MOLLOY, J.B.; DIMMOCK, C.K.; EAVES, F.W.; BRUYERES, A.G.; COWLEY, J.A.; WARD, W.H. Control of bovine leukaemia virus transmission by selective culling of infected cattle on the basis of viral antigen expression in lymphocyte cultures. *Vet. Microbiol.* 39: 323-333,1994

34. MURTAUGH, M.P.; LIN, G.F.; HAGGARD, D.L.; WEBER, A.F.; MEISKE, J.C. (1991). Detection of Bovine Leukemia virus in cattle by the polymerase chain reaction. *J.Virolog.Meth.* 33(1):73-85.
35. OFICINA INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE) (1990). *Enfermedades Animales por Retrovirus: La Leucosis Bovina Enzoótica.* 58a Sesión, París. 33p.
36. PELZER, K.D. & SPRECHER, D.J. (1993). Controlling BLV infection on dairy operations. *Vet.Med.* 88(3):275-281.
37. PELZER, K.D. (1997). Economics of Bovine Leukemia virus infection. *Vet.Clin. North Am.* 13(1):129-141.
38. POLLARI, F.L., WAUGSUPHACHART, V.L.; DIGIACOMO, R.F.; EVERMANN, J.F. (1992). Effects of Bovine Leukemia virus infection on production and reproduction in dairy cattle. *Can.J.Vet.Res.* 56(4): 289-295.
39. POLLARI, F.L.; DIGIACOMO, R.F.; EVERMANN, J.F. (1993). Use of survival analysis to compare cull rates between bovine leukemia virus seropositive and seronegative dairy cows. *Am.J.Vet.Res.* 54(8):1400-1403.
40. POLLARI, F.L.; HOPKINS, S.G.; DIGIACOMO, R.F.; EVERMANN, J.F. (1993). Periparturient transmission of Bovine Leukosis virus in dairy cattle. *Vet.Rec.* 132(8):190- 191.
41. REINHARDT, G.; HOCHSTEIN, C.; MINTZEL, V.; REIDEMANN, H.; LEAL, H.; NIEDDA, M. (1988). Estudio serológico de Leucosis Enzoótica bovina en un predio de la provincia de Valdivia y su relación a parámetros productivos y reproductivos. *J. Vet. Med.* 35:178-185.
42. RUSOV, C.; ZIVKOVIC, R.; JOJIC-MALICEVIC, J.; PESIC, O. (1989). A study of Persistent Lymphocytosis and somatic cell count in the milk of cows infected with the Enzootic Leukosis virus. *Folia Vet.* 33(1):55-61.
43. SCOTT, M.L.; SMITH, T.T.; KELLOGG, D.W.; MAUROMOUSTAKOS, A. (1990). Comparison of milk yield and quality of dairy cows that tested seropositive for bovine leukemia virus. *J. DairySci.* 73(suppl.1):262.
44. SERVICIO AGRICOLA GANADERO. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE CHILE (1992). *Sistema de Certificación de Predios Libres de Leucosis Bovina Enzoótica.* 14p.
45. SIENRA, R.; BONNEVAUX, J.; MARTINO, P. (1983). Descripción de un caso clínico de Leucosis Bovina en una ternera de 10 meses de edad. *XI Jorn.Urug. Buiatría, Paysandú (Uruguay)* cc.4:1-7
46. SIENRA, R. & GUARINO, H. (1991). Prevalencia de Leucosis Bovina Enzoótica en muestras de leche mezcla de tambos de Canelones, Colonia y San José. *II Jor. Téc. Fac. Vet. (Mont)* p.41..
47. SIENRA, R.; GUARINO, H.; GIL, A.; NUÑEZ, A.; VILLAMIL, J. (1996^a). Leucosis Bovina Enzoótica: efecto de la condición serológica de las vacas sobre las crías luego del nacimiento y a los 18 meses de edad. *XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias (PANVET).* Campo Grande, MS (BRASIL) PN9-481.
48. SIENRA, R.; GUARINO, H.; GIL, A.; NUÑEZ, A.; VILLAMIL, J. (1996^b). Duración de los anticuerpos calostrales contra el virus de la Leucosis Bovina Enzoótica en terneros de campo. *VI Congr.Nal.de Vet. (Uruguay).*
49. SIENRA, R.; NUÑEZ, A.; GONZALEZ, A.; CERETTA, M.E.; GUARINO, H.; MORON, C. (1998). Características Hematológicas en relación a la infección por el virus de la Leucosis Bovina Enzoótica en ganado Lechero. *XXVI Jor.Urug.Buiatría, Paysandú (Uruguay).* p.23-25.
50. THURMOND, M.C.; MADEN, C.B.; CARTER, R.L.. Cull rates of dairy cattle with antibodies to leukemia virus. *Cancer Res.* 45:1987-1989, 1985.
51. THURMOND, M.C.; CARTER, R.L.; PICANSO, J.P.; STRALKA, K. (1990). Upper-normal prediction limits of lymphocyte counts for cattle not infected with Bovine Leukemia virus. *Am.J.Vet.Res.* 51(3):466-470.
52. VILLOUTA, G.; SEGOVIA, P.; MONTES, G.; DURAN, Y. (1990). Duración y títulos de anticuerpos calostrales antiviral Leucemia Bovina y transmisión natural de la infección en terneras de un predio de la región Metropolitana, Chile. *Avances Cien.Vet.* 5(2):114-118.
53. WU, M-C.; SHANKS, R.D.; LEWIN, H.A. (1989). Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical Bovine Leukemia Virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86(2):993-996.