



Planes de Control de la Leucosis Bovina Enzoótica.

Otto Pritsch

Laboratorio de Inmunovirología Institut Pasteur de Montevideo
Depto. Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR
pritsch@pasteur.edu.uy

Jornadas de Salud Animal

De la investigación al campo, una mirada hacia adelante

7 de noviembre de 2019

INIA La Estanzuela

Aspectos generales

- La LBE es una enfermedad infecciosa crónica que afecta principalmente al ganado bovino lechero.
- El agente causal de la LBE, el Virus de la Leucemia Bovina (VLB), es un Deltaretrovirus.
- VLB infecta a linfocitos B bovinos y puede causar su transformación leucémica.
- Por el momento no existen vacunas o tratamientos efectivos para la LBE.
- No existe evidencia confirmada que VLB pueda infectar humanos, pero aumenta el número de publicaciones que lo sugieren.

Formas Clínicas

- **Asintomáticos (AL): 60%** del ganado infectado. Se evidencia por presencia de antígenos virales y ADN proviral en linfocitos B infectados.
- **Linfocitosis persistente (LP): 30%** del ganado infectado. Acumulación de linfocitos B (expansión policlonal no maligna).
- **Linforsarcoma (LS): 5-10%** del ganado infectado.

La Leucosis Bovina es endémica en bovinos lecheros en Uruguay.

- **1° reporte: 1952 por el Dr. Raul Casas Olascoaga**

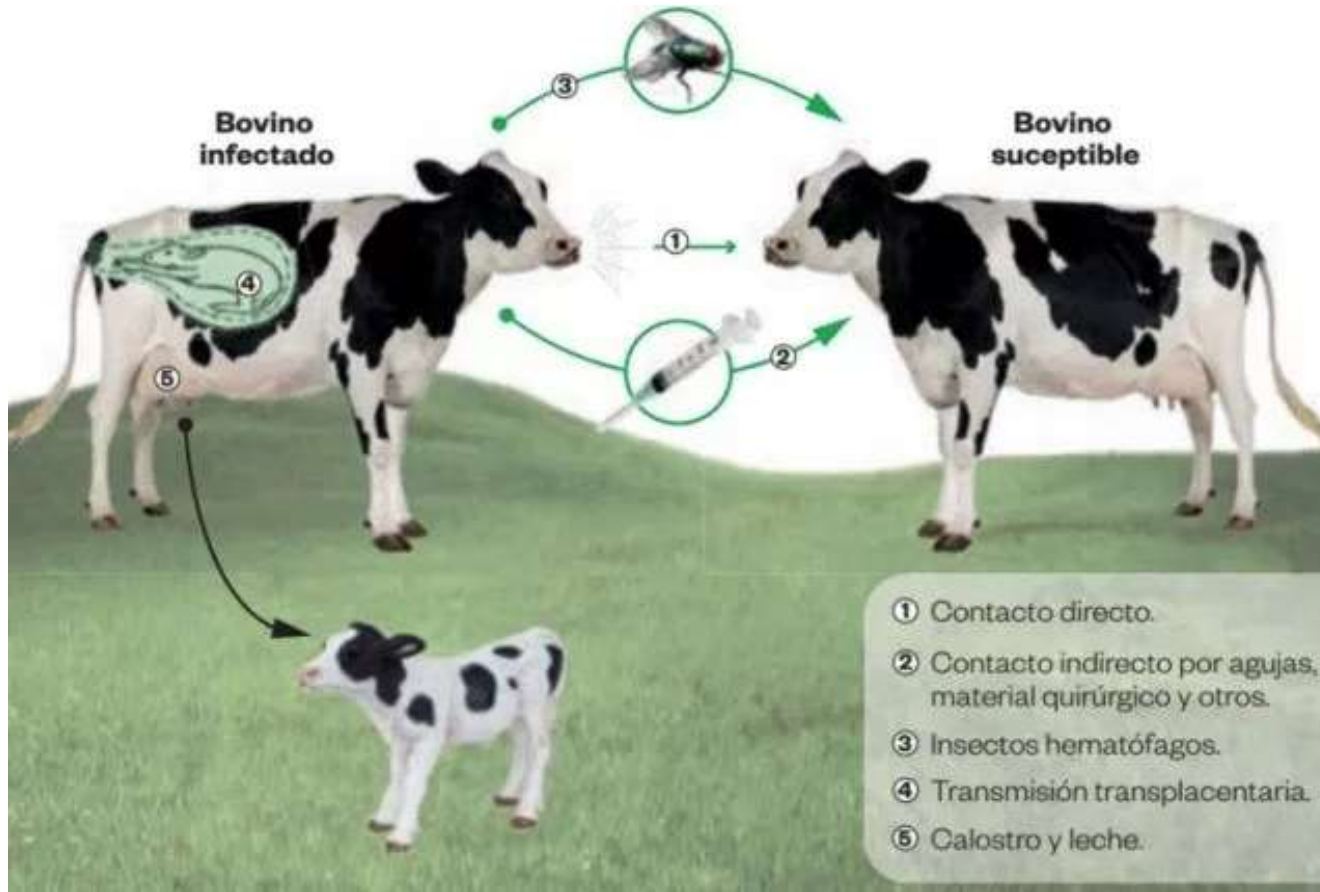


Bovino hembra de la raza Jersey de 4-5 años de edad
Linfoadenomegalia
Linfocitosis

- **2° reporte: 1970 por el Dr. Marcos Podestá**

Transmisión Viral

- Vertical: en aprox. 15% de casos (transplacentaria o via calostro)
- Horizontal: en aprox. 85% de casos por contacto con sangre infectada, mucus, tejidos, semen o insectos hematófagos.



Prevalencia

- LBE presenta una distribución mundial con prevalencias variables.
- En Uruguay más del 70% del ganado lechero es seropositivo para VLB (MGAP, 2018).

Impactos Sanitarios y Económicos

- La mortalidad puede ser causada directamente por la patología tumoral.
- Alteración del sistema inmune del ganado infectado:
 - ✓ Aumento de incidencia de otras enfermedades infecciosas o tumorales
 - ✓ Disminución de índices productivos (aprox. 5%)
- Restricciones para la exportación de ganado en pie, semen y embriones
- Tasa de concepción 26% más baja en vaquillonas seropositivas (Puentes, 2016).

Aspectos económicos

- En Uruguay, impacta negativamente en la producción y calidad de la leche.
- A nivel internacional, existen barreras que impiden el ingreso de ganado infectado, afectando en las colocaciones nacionales.

Estrategias de control veterinario

- Actualmente no existe tratamiento efectivo y sólo es posible el control y la prevención.
- Practicas difíciles de implementar en países con alta prevalencia.

Vacunación inefectiva

- Vacunas inactivadas
- Vacunas de subunidades virales
- Cepas atenuadas
- Vacunas derivadas de células
- Virus vaccinia recombinante

No hay lineamientos ni regulaciones oficiales para el control de la LEB en Uruguay

- **2007**

→ **Decreto 165/2007**: visión positiva del gobierno a la disponibilidad de una política de control



Comisión de trabajo para un programa voluntario para la declaración de predios oficialmente libres de LEB

Proyecto FPTA 2007-2010: implementación de medidas clásicas para el control de la LEB



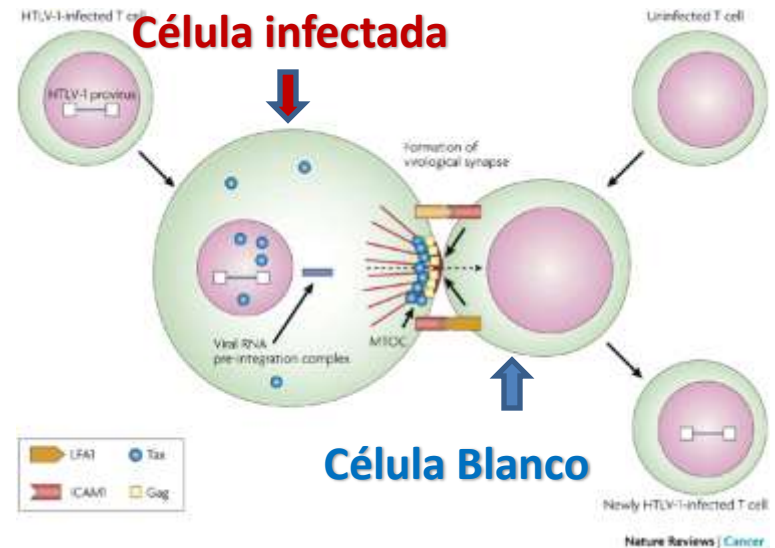
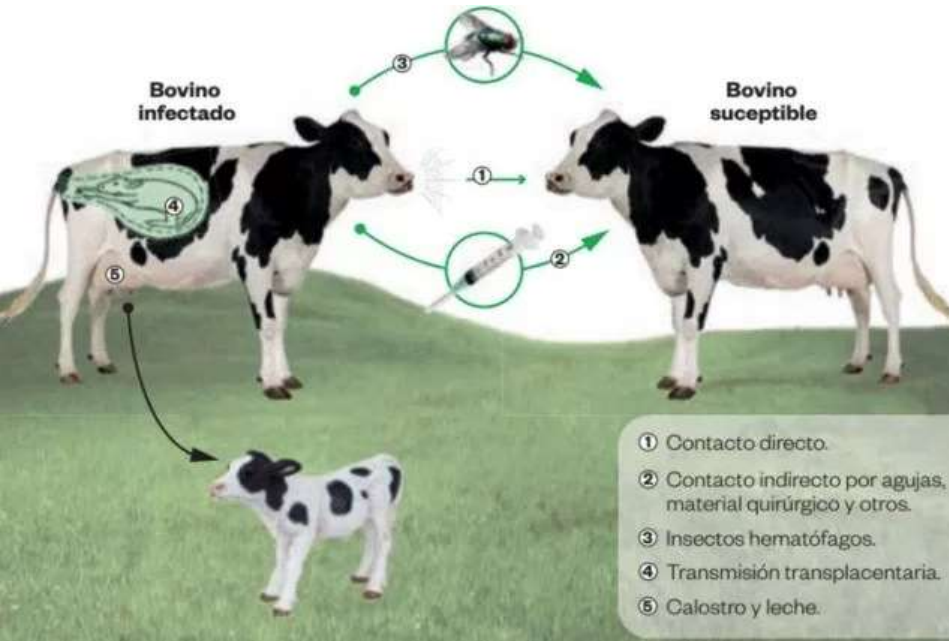
1 único predio adherente

No funcionó en forma sustentable: enfermedad con alta prevalencia y diagnóstico costoso.

En un contexto de alta prevalencia (países de la región):

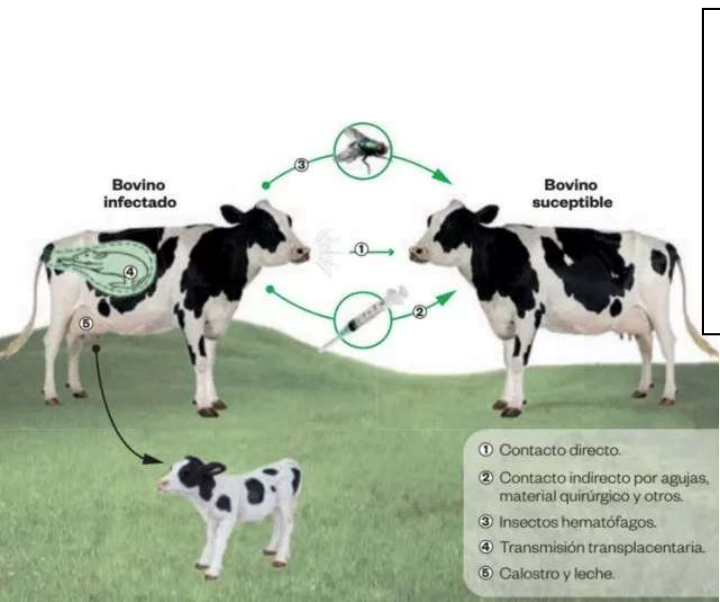
- la estrategia clásica de control (**test serológico y eliminación**) es económicamente difícil de implementar.
- Los programas de control deben dirigirse a bajar la tasa de transmisión viral

:



1). Mejoramiento de los mecanismos de control veterinario:

- Inseminación artificial vs cría natural
- Evitar la transmisión iatrogénica (agujas descartables, vacutainer, racionalización del uso de las muestras, guantes palpación rectal e inseminación)
- Control de insectos (tábanos y mosca de los establos). En INIA Tacuarembó : proyecto de captura, identificación, dinámica poblacional y control de tábanos.



The Journal of Veterinary Medical

Open Veterinary Journal, (2019), Vol. 9(1): 33–37
 ISSN: 2226-4485 (Print)
 ISSN: 2218-6050 (Online)

Short Communication
 DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/oj.v9i1.6>

Parasite 2013, 20, 26
 © F. Baldacchino et al., published by EDP Sciences, 2013
 DOI: 10.1051/parasite/2013026

Carlos Jav

REVIEW ARTICLE

Transmission of pathogens by *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae): a review

Frédéric Baldacchino¹, Vithee Muenworn², Marc Desquesnes³, Theeraphap Charoenviryaphap², and Gérard Duvallet¹



PARASITE

2). Análisis de riesgo a nivel predial, evaluando el peso de cada factor.

Table 2. Multivariable models of estimated herd BLV prevalence (BLV herd profile)

Risk Factor	P-value	Coefficient (SE)
H_BULL (use of a bull for breeding heifers)	0.0142	
AI only		0
Some use of bull		9.5 (3.8)
D_SE (dry cow selenium injections)	<0.0001	
Not Used		0
Used		18 (4.4)
B_TMR (TMR for the bred heifers)	0.0046	
Not used		0
Used		13 (4.4)
DEHORN_GE (gouge dehorning)	0.0008	
Not used		0
Used		14 (3.9)
OLD_NDLS	0.0015	
Do not re-use needles		0
Re-use needles		15 (4.6)
FLY_CNTR	0.0030	
Routine fly control		0
No routine fly control		14.4 (4.4)
Average number of reproductive exams per cow each lactation (ADULT_REP)	0.0300	0.93 (0.42)

No 2-way interactions or quadratic terms were significant at $P < 0.01$
 Residuals were distributed normally (Shapiro-Wilk $W = 0.98$)
 R -square = 0.43; BHP mean = 38

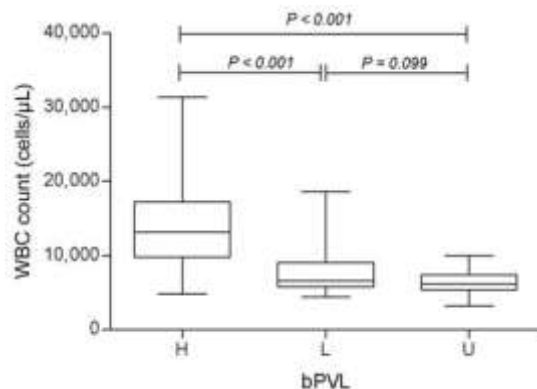
3). Inactivar VLB en calostro (congelado, secado, pasteurizado).

Calostro: fuente de anticuerpos anti-BLV vs fuente de células infectadas con capacidad de transmitir el virus?

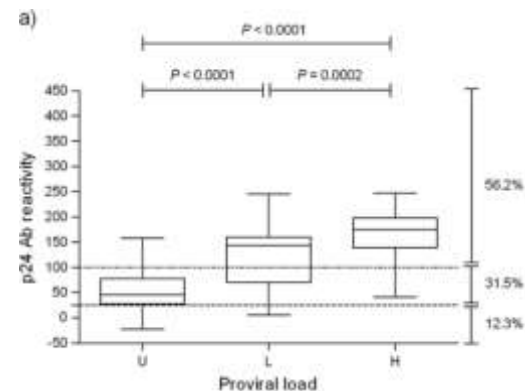
4). Identificación de animales con linfocitosis muy elevada y/o carga viral muy elevada y separación/eliminación (super-transmisores).

Existe correlación entre:

- Carga viral
- Leucocitosis / Linfocitosis
- Anticuerpos anti-BLV



Irene Alvarez et al, 2013



Gerónimo Gutiérrez et al, 2012



J. Dairy Sci. 102:9165–9175
<https://doi.org/10.3168/jds.2018-16186>

© 2019, The Authors. Published by FASS Inc. and Elsevier Inc. on behalf of the American Dairy Science Association®. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

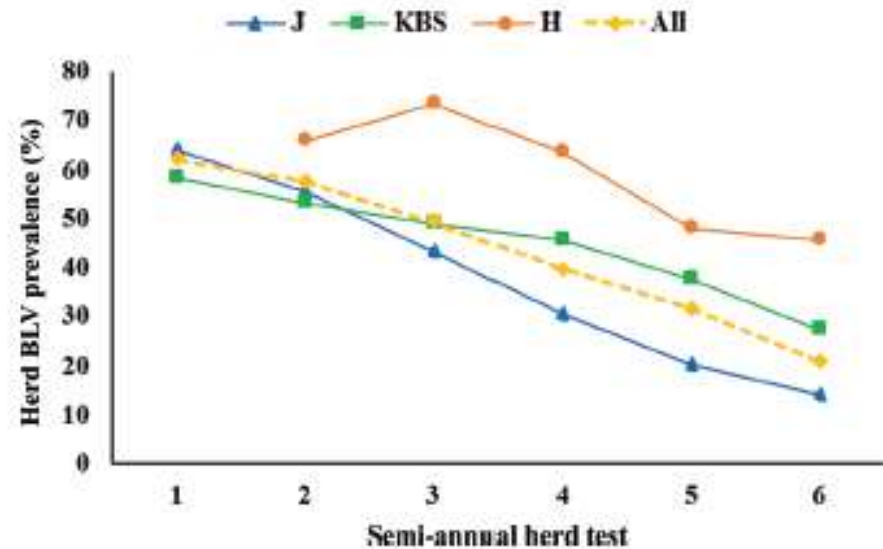
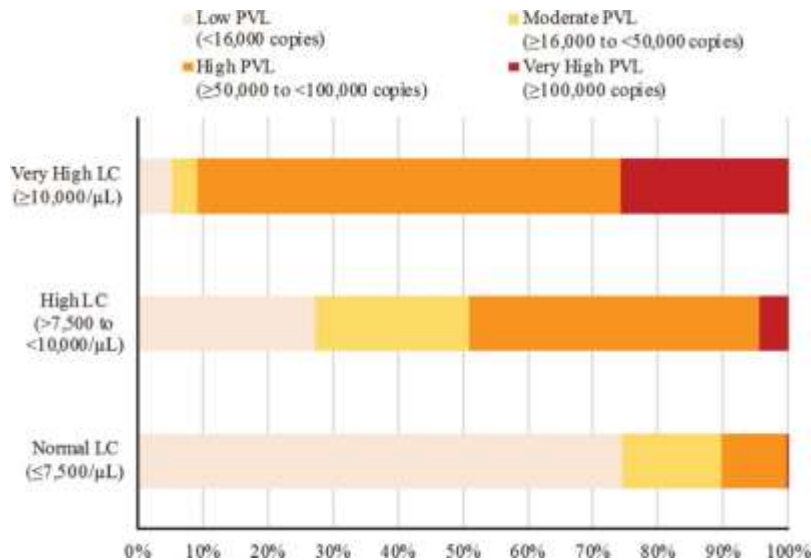
Controlling bovine leukemia virus in dairy herds by identifying and removing cows with the highest proviral load and lymphocyte counts

V. J. Ruggiero,^{1*} B. Norby,¹ O. J. Benitez,¹ H. Hutchinson,¹ K. R. B. Sporer,^{1,2} C. Droscha,^{1,2} C. L. Swenson,³ and P. C. Bartlett¹

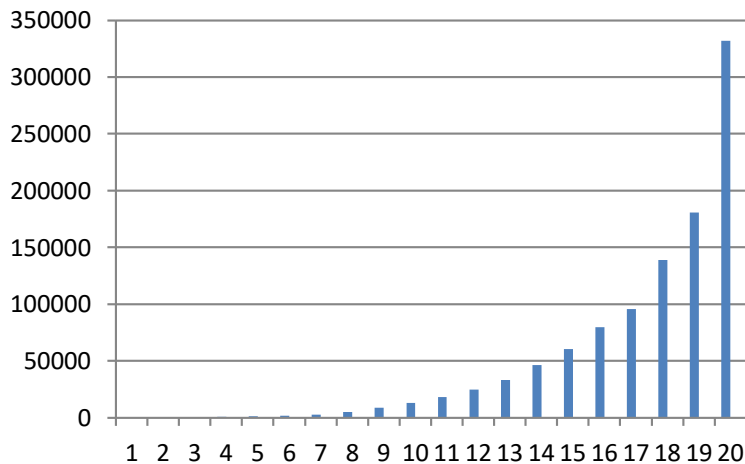
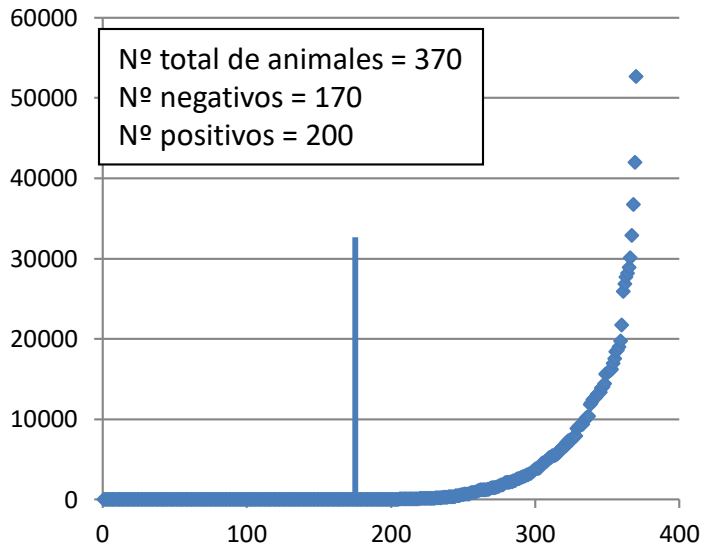
¹Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Michigan State University, East Lansing 48824

²NorthStar Cooperative, Lansing, MI 48910

³Department of Pathobiology and Diagnostic Investigation and Veterinary Diagnostic Laboratory, Michigan State University, East Lansing 48824



Carga proviral



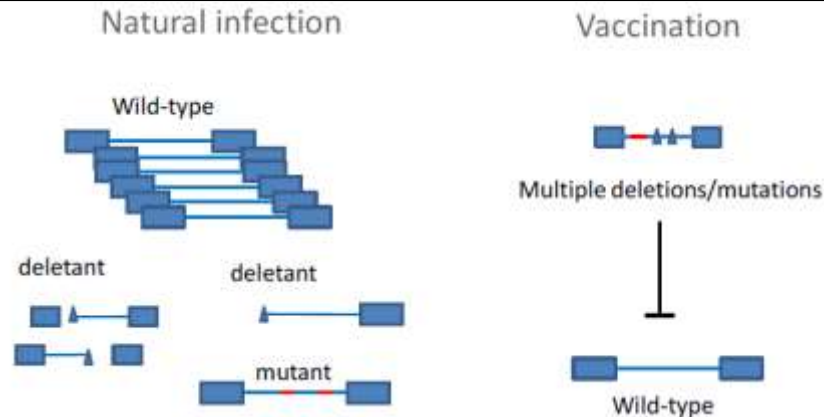
Grupos n=10	Carga Viral	%
1	111	0.01
2	209	0.02
3	413	0.04
4	658	0.06
5	1083	0.10
6	1753	0.17
7	2796	0.27
8	5009	0.48
9	8753	0.84
10	13056	1.25
11	18266	1.75
12	24621	2.36
13	33286	3.19
14	46534	4.46
15	60317	5.80
16	79782	7.64
17	95762	9.17
18	138945	13.31
19	180424	17.28
20	332057	31.81
Total	1043835	100.00

Datos analizados a partir de la Tabla 2 de: Jimba et al. BMC Veterinary Research 2012, 8:167 <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/167>

5). Aumentar la inmunidad anti-viral por inmunización con antígenos virales.

- Vacunas anti-retrovirales eficientes, difíciles de desarrollar.
- Uso de inmunógenos virales para disminuir la transmisión.
- Uso de virus modificados con replicación disminuída. Riesgos.

Vacuna provirus atenuado: deleción en genes relacionados con la patogenicidad (TAX, G4) combinado con mutaciones en genes implicados en la infectividad y la replicación (TM y G3)



Ventajas

- Infeccioso
- Bajos niveles de replicación
- Igual de inmunogénico que wt
- No presente en leche ni en carne

Desventajas

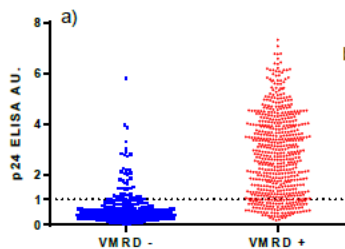
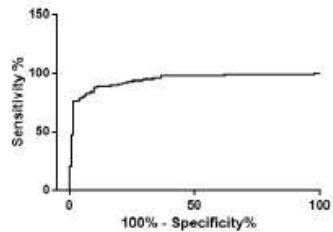
- Problemas regulatorios
- Cambio genético/recombinación con cepa wt
- Recombinación con otro virus o secuencia del hospedero.
- Diseminación a los bovinos negativos.

6). Diagnóstico de la prevalencia individual en cada establecimiento puede determinar la mejor estrategia de control a seguir.

- Desarrollo de prueba ELISA por I. Pasteur – INIA – UdelaR para detectar anticuerpos anti-BLV en suero y en leche.
- Empresa ATGen está validando estas pruebas para uso comercial.

1) anti-p24 ELISA

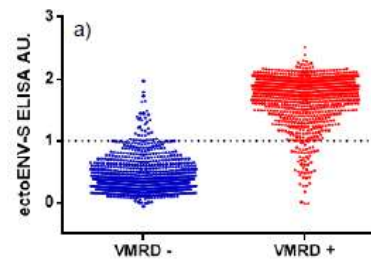
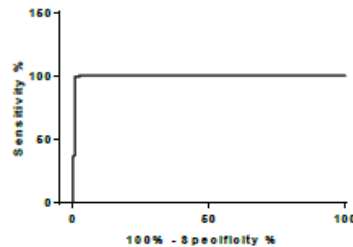
En Suero:



Sensibilidad: 88%
Especificidad: 90%

2) anti-ectoENV-S ELISA

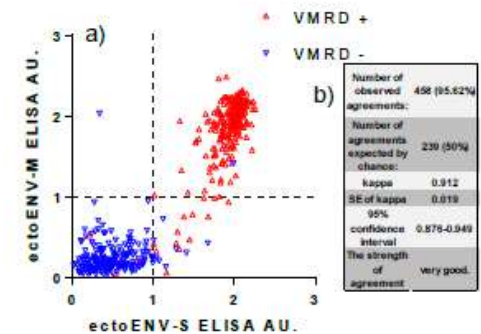
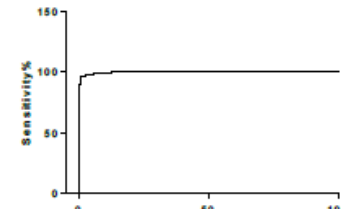
En Suero:



Sensibilidad: 100%
Especificidad: 97,8%

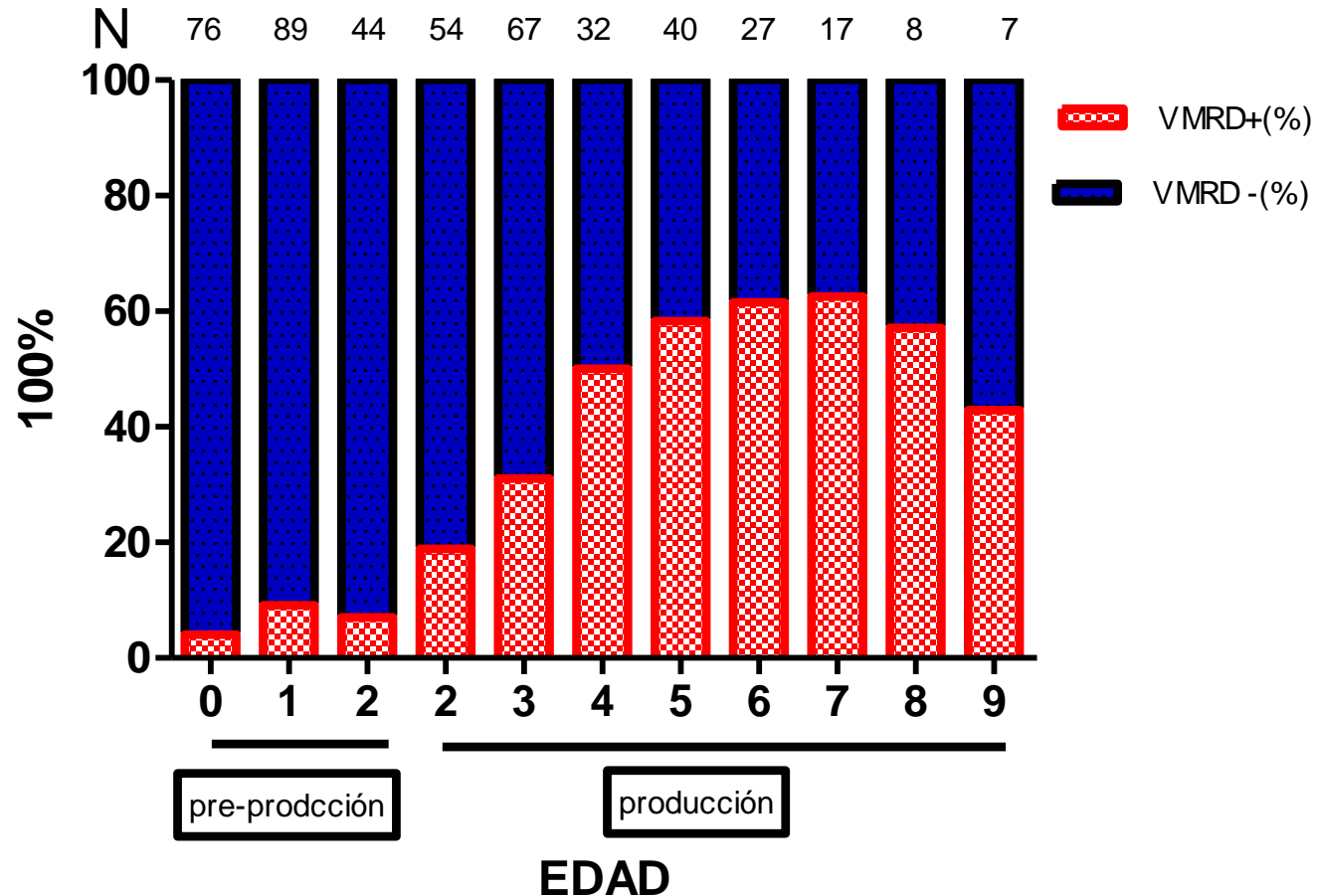
3) anti-ectoENV-M ELISA

En Leche:

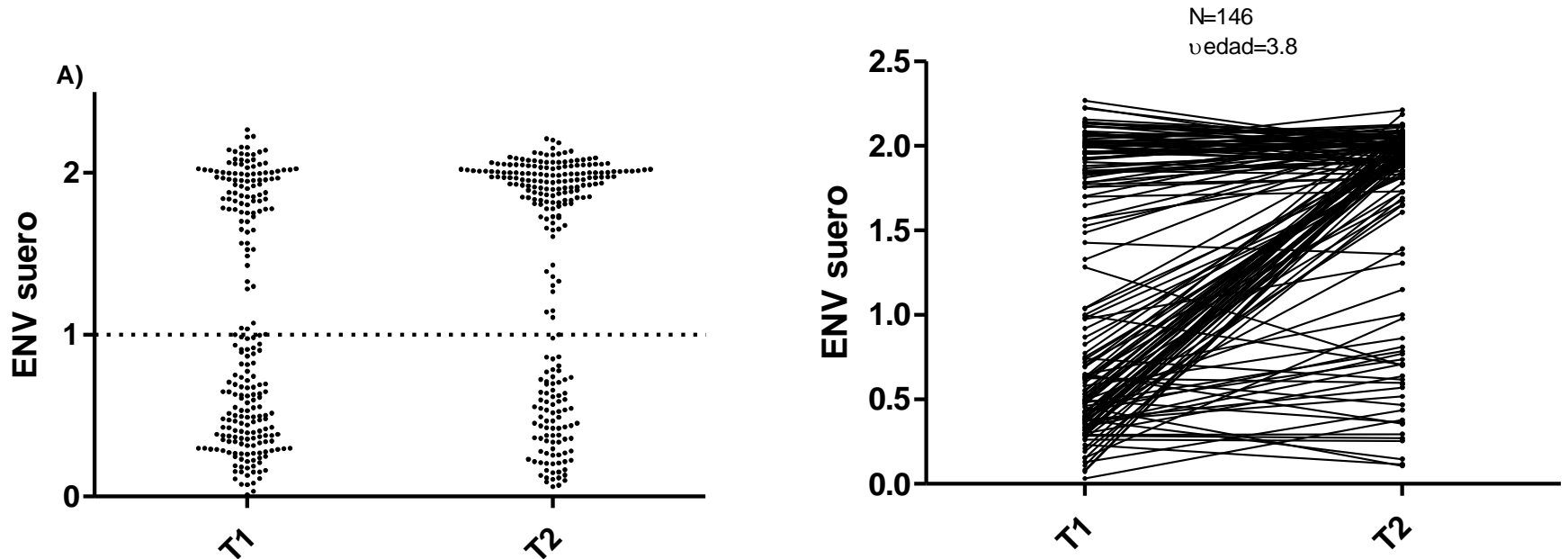


Sensibilidad: 96,7%
Especificidad: 99,2%

Análisis serológico anti-VLB según estatus productivo y edad.



Análisis de la evolución de la serología en función del tiempo.



T1 y T2 representan 2 relevamientos de muestras separados por un intervalo de 15 meses. En ordenadas se grafica la DO normalizada por cut off del ELISA ecto-Env. Resultados mayores a 1 son positivos, y menores a 1 son negativos.

7). Mejoramiento genético del rodeo aumentando la presencia de genes de resistencia a la infección.

- Polimorfismo del BoLA-DRB3.2 se asocia con alta carga proviral de VLB, y que el ganado que expresa el polimorfismo asociado con baja carga proviral es relativamente no-infeccioso. (Esteban et al. 2009; Juliarena et al. 1987).

Genome-wide association mapping and pathway analysis of leukosis incidence in a US Holstein cattle population. Abdalla EA, Peñagaricano F, Byrem TM, Weigel KA, Rosa GJ. *Anim Genet.* 2016 Aug;47(4):395-407

- Combina un análisis de ocurrencia de Leucosis, pedigree e información molecular con rendimiento lechero y score de células somáticas para estimar parámetros genéticos y realizar escaneos de genomas enteros y análisis de pathways.
- Heredabilidad para la incidencia de Leucosis es aproximadamente 8%, y las correlaciones genéticas de incidencia de Leucosis con Rendimiento Lechero y Score de Células Somáticas fue moderado (0.18 y 0.20) respectivamente.
- El análisis genómico masivo indica que la Leucosis representa un rasgo complejo, posiblemente modulado por muchos genes que se relacionan con infecciones retrovirales.

TALLER REGIONAL
"PLATAFORMA DE CONTROL DE LA LEUCOSIS BOVINA"

31 DE OCTUBRE – 1 DE NOVIEMBRE 2019

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INTA
ARGENTINA

PROYECTO FONTAGRO ATN/RF-16338-RG fondo semilla



El **propósito de este proyecto** es la reducción del contagio por aplicación de estrategias de control apropiadas al contexto real, sin alterar el manejo productivo ni agregar excesivos costos de intervención.

Proyecto FONTAGRO:

Plataforma de Control de la Leucosis Bovina

Argentina, Uruguay, Colombia, Panamá, República Dominicana, Costa Rica

Los objetivos de esta propuesta son los siguientes:

- Ejecutar y evaluar la performance de tres estrategias para la reducción significativa del contagio:
 - ✓ Vacuna con virus atenuado (Argentina)
 - ✓ Selección genética (Panamá)
 - ✓ Manejo preventivo y eliminación selectiva por carga proviral (Uruguay).
- Alcanzar un mejor entendimiento de esta enfermedad en áreas, regiones o establecimientos donde se observa un vacío de conocimiento con el fin de progresar hacia la aplicación de estrategias de control
- Transferir los avances y los conocimiento adquiridos a todo el panel de beneficiarios involucrados: sector productivo, sector sanitario, sector político, sector comercial.

Proyecto FONTAGRO: Componente Uruguay



OBJETIVO GENERAL

Describir una estrategia piloto para el control de la leucosis enzoótica bovina basada en evitar la transmisión mediante el manejo preventivo de la infección natural y la eliminación de los animales con alta carga proviral en un establecimiento lechero de Uruguay.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Bajar la prevalencia y la tasa de incidencia de la LEB en un tambo modelo.
2. Utilizar tecnologías novedosas y desarrolladas en el país para minimizar la transmisión del virus entre los bovinos.

La falta de incentivos oficiales y los altos niveles de infección ponen de manifiesto la necesidad de contar con estrategias preventivas, que sean sustentables y económicamente factibles.

Proyecto FONTAGRO: Componente Uruguay



ACCIONES ESPECIFICAS

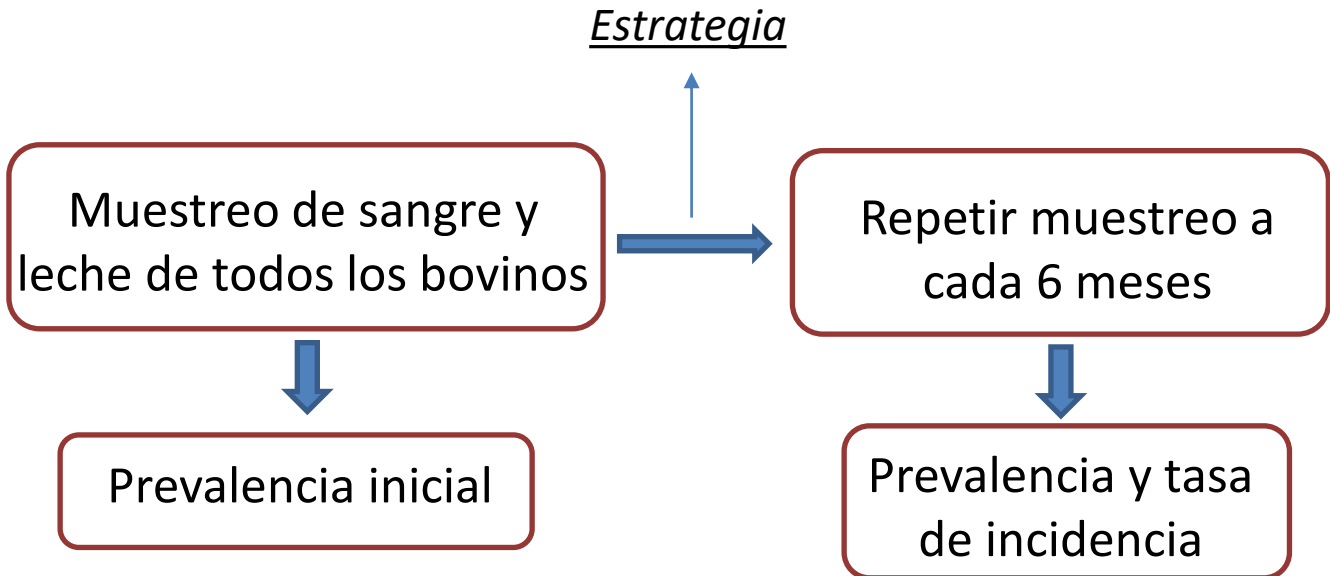
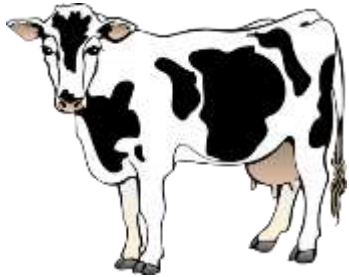
1. Desarrollo de un sistema de agujas descartables o reutilizables
2. Utilización de pasteurizadores de calostro y leche, adecuados para la alimentación de los terneros durante el periodo de cría
3. Desarrollo de una tecnología de diagnóstico precoz del tipo PCR, que permita la detección y eliminación temprana de terneros nacidos infectados
4. Realización de un plan de “reposición limpia”, con la segregación de terneras libres que serán criadas separadas de las vacas adultas
5. Eliminación de animales con mayor carga proviral, con el objeto de reducir la transmisión, a partir de la cuantificación del nivel de provirus en sangre y leche de tanque.

PROPUESTA:

- Tambo en INIA – La Estanzuela
- Total de ~480 bovinos; ~183 VO
- Criados a pastoreo y ordeñadas dos veces al día
- Manejo reproductivo: IA con servicio estacionado (partos en el otoño)
- Sistema de crianza: calostro pasterizado; guachera colectiva con alimentación basada en un sistema de amamantadora automática con sustituto lácteo;
- Alta prevalencia a LEB (70%)
- Personal dispuesto a implementar las medidas que serán propuestas
- Análisis de diferentes Estrategias de Control.



PROPUESTA:

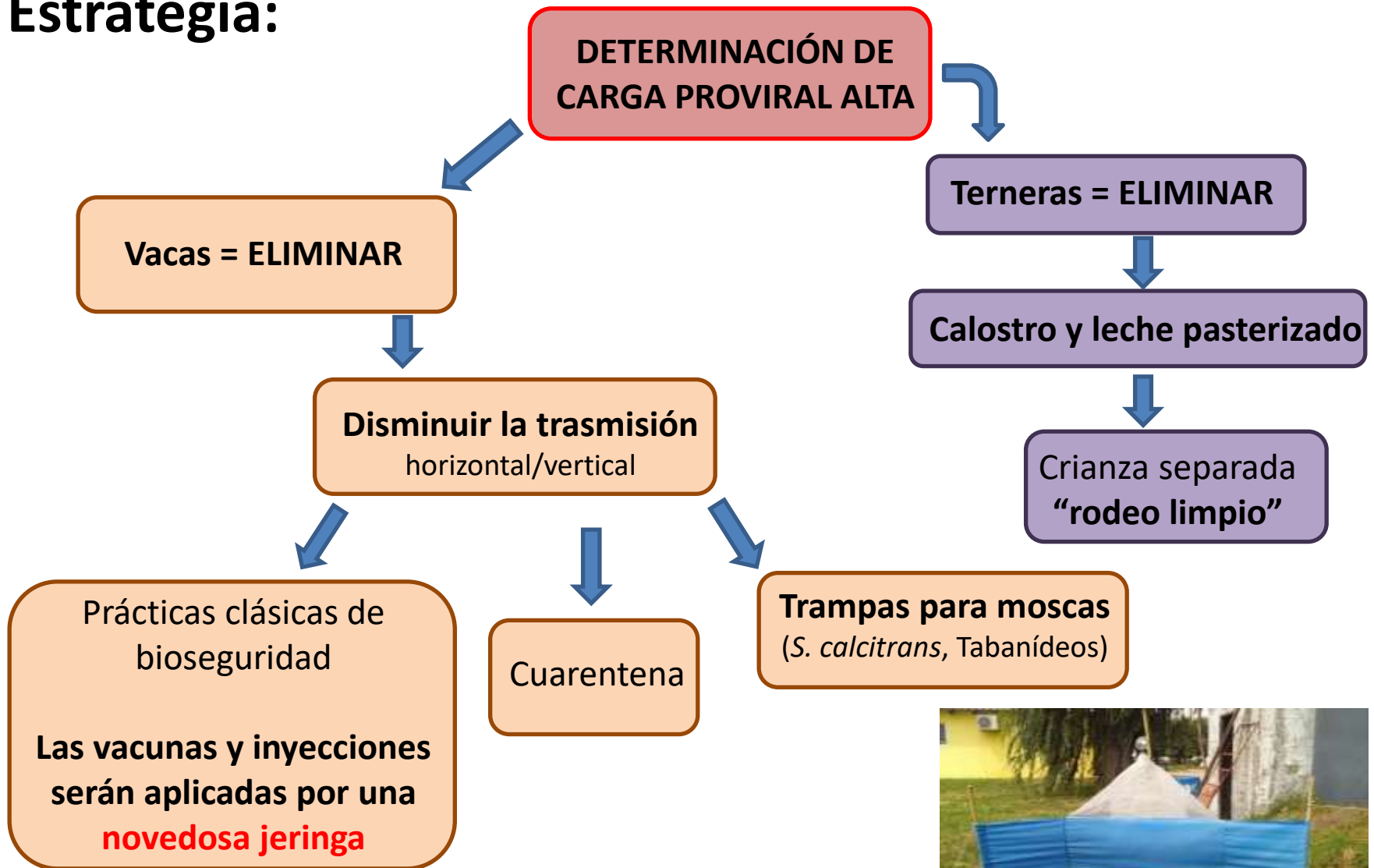


Para el diagnóstico:

- ELISA indirecto anti-ectoENV: todos bovinos >6 meses
- qPCR: en todas las muestras (infecciones tempranas y en terneros) y cuantificación de la carga proviral

Tesis de Maestría Pro.In.Bio. de Cecilia Monesiglio. *Desarrollo de un nuevo indicador molecular para monitorear la evolución en el tiempo de la carga proviral del Virus de la Leucemia Bovina en rodeos lecheros.* Tutores: Martín Fraga y Otto Pritsch

Estrategia:



**Federico Carrión
Natalia Olivero
Mariana Margenat
Natalia Ibañez
Martín Fló**

**Andres Addiego
Sergio Bianchi
Lorena Tome
Gonzalo Rama
Gonzalo Obal**

**Florencia Rammauro
Verónica Noya
Otto Pritsch**

Laboratorio de Inmunovirología - IPM
Depto. de Inmunobiología Fac. Medicina

**Felipe Trajtenberg
Nicole Larrieux
Alejandro Buschiazzo**

Unidad de Cristalografía de Proteínas - IPM

**Agustín Correa
Pablo Oppezzo**

Unidad de Proteínas Recombinantes - IPM

**Madelon Portela
Analía Lima
Carlos Batthyany
Rosario Duran**

Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas
- IPM

**Natalia Rego
Hugo Naya**
Unidad de BioInformática - IPM



Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
URUGUAY



**Juan Cristina
Gonzalo Moratorio**

Laboratorio de Virología Molecular,
Facultad de Ciencias, UdelaR

Felix Rey

Unité de Virologie Structurale, CNRS
URA 3015, Institut Pasteur

**Franklin Riet
Caroline Silveira
Cecilia Monesiglio
Martín Fraga
Federico Giannitti
Ignacio Aguilar
Santiago Fariña**

Instituto Nacional de Investigación
Agropecuaria

Gualberto González

Cátedra de Inmunología,
Facultad de Química, UdelaR

Ana Meikle

Rodrigo Puentes
Facultad de Veterinaria, UdelaR

**Andrés Abín
Javier Urioste**
ATGen Diagnostica

Fernando Sotelo
Mejoramiento y Control Lechero

Antecedentes

- 2008.** Plan Nacional de Investigación en Salud Animal (PLANISA)
- 2010.** El MGAP prioriza investigación en Salud Animal como uno de sus ejes estratégicos.
- 2011.** Creación del Programa de Doctorado en Salud Animal - FVET UdelaR.
- 2014.** Creación de la Plataforma de Salud Animal en INIA.
- 2014.** Creación de la Unidad Mixta INIA - IPM con foco en Salud Animal.
- 2014.** Asignación de fondos públicos gestionados por ANII para promoción de la investigación/innovación en Salud Animal (FPTA, Innovagro, FSA, Fondos INIA, FCE, FMV, Alianzas, Centros Tecnológicos, etc.)
- 2014.** Varios equipos de investigación del participan activamente en la elaboración de proyectos multidisciplinarios y multiinstitucionales con foco en Salud Animal.
- 2014.** Creación de un Programa en Salud Animal en el IPMON.
- 2015.** Firma de Convenio Marco INIA / INRA incluyendo Salud Animal.
- 2017.** Inicio de la construcción del Laboratorio de Salud Animal en INIA-LE

Estrategia y Objetivos

La estrategia de trabajo en esta primera etapa de construcción interinstitucional en temas de Salud Animal consistió en:

- Generar **Grupos de Trabajo Interinstitucionales (GTI)** sobre diferentes enfermedades infecciosas que afectan animales de importancia productiva.
- Elaborar y ejecutar proyectos científicos específicos por cada GTI, para generar bases sólidas para identificar y conocer los problemas, construir modelos y proponer soluciones: obtención de aislados nacionales, análisis de variabilidad génica, estudios epidemiológicos, generación de nuevos métodos de diagnóstico y nuevas vacunas, etc..
- Generar reuniones periódicas entre los GTIs para coordinar acciones comunes.

hacia un Sistema Nacional de Salud Animal

Visión

- Un programa integrado por un conjunto coordinado de grupos de investigación en Salud Animal,
 - generando conocimientos científicos originales, relevantes, de alto impacto, transferidos a la sociedad y que resuelvan problemas reales.
 - participando en la formación de recursos humanos de calidad a nivel de posgrado (PEDECIBA, Pro.In.Bio, Posgrados de Veterinaria, Biotecnología, etc),
 - brindando soporte para el uso de equipos de alta tecnología por parte del conjunto del sistema,
 - actuando como motor para generar alianzas inter-institucionales a nivel nacional, regional e internacional.

hacia un Sistema Nacional de Salud Animal

- Enfocado en el concepto: *Un mundo, una Salud.*
- Entendiendo a la Tríada: *Salud Humana, Salud Animal y Salud Ambiental*, como un contínuo central para guiar un trabajo interinstitucional integrado

