

# LINFOMA MULTICÉNTRICO O LINFOSARCOMA MULTICÉNTRICO EN BÚFALO DE AGUA (*Bubalus bubalis*): ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO. REPORTE DE UN CASO.

## Multicentric Lymphoma or Multicentric Lymphosarcoma in Water Buffaloe (*Bubalus bubalis*): Pathologic Anatomy. Report of one case.

Oswaldo E. Vale-Echeto<sup>1\*</sup>, Néstor Montiel-Urdaneta<sup>2</sup>, David Simoes<sup>3</sup>, Oswaldo R. Vale-Oviedo<sup>4</sup>, Omaira Parra-Maldonado<sup>5</sup>, María G. Oviedo de Vale<sup>6</sup> y Arelis García<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Anatomía Patológica. E-mail: oevmgo52@gmail.com. <sup>2</sup> Cátedra de Producción de Bovinos. E-mail: nmontielluz@cantv.net. <sup>3</sup> Cátedra de Parasitología. <sup>4</sup> Cátedra de Enfermedades Parasitarias. <sup>5</sup> Cátedra de Patología Clínica. <sup>6</sup> Cátedra de Salud Pública Veterinaria. \* Teléfono: 0261-7598170 Fax: 0261 7558469. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Apartado 526 Maracaibo 4005-A. Edo. Zulia. Venezuela.

### RESUMEN

La leucosis enzoótica bovina (LEB), también conocida como leucosis viral bovina (LVB), es una enfermedad neoplásica de origen viral, producida por un oncornavirus tipo C (retroviridae) que ocurre con o sin formación de nódulos neoplásicos. La leucosis bovina (LB) en Venezuela ha sido diagnosticada clínicamente en base a las manifestaciones y evidencias clínico patológicas, así como sobre los cambios anatomopatológicos que han sido descritos en algunos casos, pero ninguno publicado. Se han hecho reportes de esta enfermedad en bovinos de leche, evidenciando la presencia de casos sin formación de nódulos neoplásicos, los cuales han sido considerados sospechosos, en razón de no haber realizado pruebas serológicas en el laboratorio. De igual forma, se han descrito casos de leucosis con formación de nódulos neoplásicos en diferentes órganos y han sido reportados como casos sospechosos de LB. La literatura refiere la existencia de cuatro (4) formas de leucosis: multicéntrica adulta, juvenil poco común, tímica y cutánea. Esta clasificación, es referida a los casos con presencia de nódulos neoplásicos constituidos por tejido linfoide anaplástico, sobre el cual se fundamenta el diagnóstico anatomopatológico. En el presente trabajo se reporta un caso de linfoma o linfosarcoma multicéntrico que se describe como sospechoso de LB en una búfala de agua de 10 años de edad en el estado Mérida, Venezuela, fundamentado en el diagnóstico anatomopatológico, con descripción de los cam-

bios macro y microscópicos observados. Adicionalmente se reporta una ocurrencia de 2% de positividad a LB mediante las técnicas ELISA y AGID en el rebaño (300 búfalos) de la misma procedencia del caso descrito.

**Palabras clave:** Leucosis bovina, linfosarcoma multicéntrico, búfalo de agua, nódulos neoplásicos.

### ABSTRACT

Bovine Enzootic Leukosis (BEL), also known as Viral Bovine Leukosis (VBL), is a viral, oncornavirus type C (retroviridae), neoplastic disease which occurs with or without neoplastic nodules. The disease has been clinically and morphologically diagnosed as suspicious cases in Venezuela since lab serological tests were not performed. Macroscopic and microscopic changes have been described in a few cases with neoplastic nodules and referred as a Bovine leukosis (BL), but none has been published. Bovine leucosis has also been referred in milking cows with or without neoplastic nodules, most cases have not been diagnosed by blood serum analysis and considered to be only suspicious cases. There are four distinct forms of BL (adult multicentric, juvenile uncommon, thymic and cutaneous) have been reported in the literature around the world, this classification is based upon the presence of neoplastic nodules composed of anaplastic lymphoid tissue. This work reports a case of multicentric form of bovine lymphoma which could be suspicious of BL, in a 10 years old female water buffalo in Mérida State, Venezuela. This report of one case of lymphosarcoma is supported by macroscopic and microscopic changes described.

Additionally, a frequency of 2% of positive cases diagnosed by ELISA and AGID tests is reported in the herd (300 buffaloes) of similar procedence of the described case.

**Key words:** Bovine leukosis, multicentric lymphosarcoma, water buffalo, neoplastic nodules.

## INTRODUCCIÓN

La leucosis bovina (LB), conocida también como leucosis viral bovina (LVB), es una enfermedad neoplásica viral producida por un oncornavirus tipo C de la familia *retroviridae*, que ocurre con cambios en el conteo celular (linfocitosis o linfopenia persistente) y con la formación o no de nódulos neoplásicos distribuidos de acuerdo a las variadas formas (Tímica, Multicéntrica, Juvenil y Cutánea) referidas en la literatura [3, 6-10, 12-16, 24, 27, 31, 38].

La enfermedad en bovinos (*Bos taurus* o *indicus*) presenta un carácter enzoótico, constituyendo un problema relevante para las explotaciones de bovinos de leche y carne a nivel mundial. A pesar de ser un problema de salud animal y representar pérdidas económicas significativas a nivel mundial [31, 37], poca atención se ha dado en las últimas décadas a la presencia de la enfermedad, detectada mediante pruebas hematológicas que determinan linfocitosis o linfopenia persistente, como tampoco a través del diagnóstico serológico mediante ensayos de enlace de enzimas (ELISA), inmunodifusión en agar gel (AGID) o radioinmunoanálisis (RIA), para la demostración de infección por el virus de leucosis bovina (VLB) en casos de animales con evidencias de linfosarcoma (Neoplasma maligno de tejido linfoide) [1, 2, 4, 10, 11, 16, 18-21, 23, 25, 26, 31, 32, 33, 39]. Está bien demostrado que los linfocitos tipo B son las células principales en el linfosarcoma de bovinos y ovinos (*Ovis aries*) con LB, aún cuando se han reportado diferentes patrones celulares [10, 30, 38]. Según la literatura, la leucosis enzoótica bovina (LEB) puede persistir por años en rebaños bovinos, refiriendo solo hasta un 10-12% de vacas infectadas con evidencias de signos clínicos. La clasificación por linfocitosis, establece índices inciertos de infección por VLB debido a la presencia de falsos positivos en infecciones crónicas y falsos negativos cuando no hay linfocitosis [10, 16, 30, 39, 40]. En la aparición de linfomas o linfosarcomas en bovinos, algunos autores refieren la presencia de otras causas de origen desconocido, tal como la leucosis bovina esporádica (LBE), aunque relacionada con la edad, su etiología no es conocida; sin embargo existe controversia en la literatura consultada [24, 30, 31, 34]. En los casos de LEB con formación de nódulos neoplásicos, la población celular puede ser variada de acuerdo a las diferentes formas clasificadas o a la población celular neoplásica preponderante que constituye las masas tumorales de tejido linfoide indiferenciado [10, 16, 31]. El objetivo del presente trabajo fue describir los cambios anatomopatológicos compatibles con LEB, en la forma de linfoma multicéntrico en una búfala (*Bubalus bubalis*) de agua procedente del

estado Mérida, Venezuela (no confirmado mediante pruebas serológicas o aislamiento del virus); así como determinar la positividad de la infección en el rebaño bufalino del cual procede el caso descrito.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el mes de mayo 2003, procedente del sector Los Quebradones en el estado Mérida, Venezuela, se reportó una búfala de 10 años de edad con presencia de nódulos múltiples cutáneos, marcada pérdida de peso, letargia y disnea, así como exoftalmos bilaterales y pobre condición física. Se realizó en el sitio, una filmación con cámara Handycam Sony, Japón, del animal afectado, para demostrar la condición clínica. Posteriormente se practicó la eutanasia mediante sangramiento y subsecuentemente la técnica de necropsia para la evaluación anatomopatológica [17]. Análisis hematológicos y pruebas serológicas para LB no se realizaron. Sin embargo, se tomaron muestras de sangre a 300 búfalas, procedentes del mismo rebaño, para realizar el diagnóstico de LB mediante las técnicas de ELISA y AGID. Durante la necropsia del animal, se tomaron muestras de los tejidos y órganos afectados, así como de las masas tumorales para su evaluación morfológica e histopatológica. Los tejidos colectados fueron fijados en formalina neutra al 10%, para su procesamiento y evaluación microscópica por las técnicas rutinarias [22]. Todos los órganos con lesiones fueron fotografiados macroscópicamente con cámara digital Sony MPEGMOVIE DSC-P73 4,5 pixels, Japón. Las muestras de tejidos ya procesadas fueron coloreadas con Hematoxilina y Eosina (H-E), para su posterior evaluación y diagnóstico microscópico [22]. Se evaluaron citológicamente improntas de los nódulos neoplásicos los cuales fueron coloreados con Giemsa [5, 22]. Micrografías fueron tomadas con una cámara digital Sony MPEGMOVIE DSC-P73 4,5 pixels, Japón, adaptada a un microscopio de luz Carl-Zeiss (Alemania).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la búfala de agua, la evaluación clínica permitió evidenciar una severa pérdida de peso, letargia, disnea, exoftalmos, secreciones oculares, sialorrea y múltiples nódulos cutáneos y subcutáneos ulcerados, de tamaño y ubicación anatómica variable (FIG. 1). Los resultados encontrados en este estudio coinciden con investigaciones realizadas a nivel mundial y donde la mayoría de los autores reportan resultados similares en búfalos y bovinos con leucosis crónica [3, 6-10, 13, 24, 27, 28, 30, 31, 34, 35, 36, 38].

### Anatomía Patológica

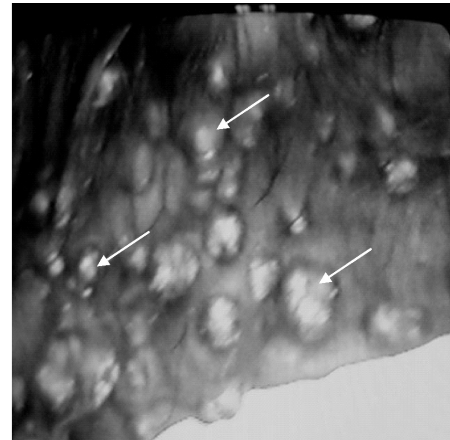
El estudio anatomopatológico reveló la presencia de lesiones neoplásicas múltiples nodulares en varios órganos y tejidos (piel, tejido subcutáneo, haces musculares, tejido adiposo subcutáneo, corazón, arteria aorta, bazo, nódulos linfoides, te-



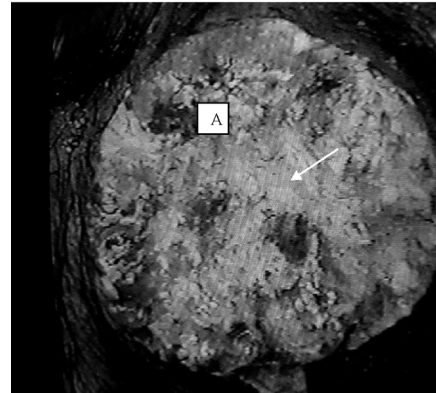
**FIGURA 1. MACROFOTOGRAFÍA. CABEZA DE BÚFALO. NÓTESE ÁREAS NODULARES CIRCUNSCRITAS EN ZONA CUTÁNEA FACIAL Y EXOFTALMO BILATERAL (FLECHA)/ NOTE CIRCUMSCRIBED NODULAR AREAS ON FACIAL CUTANEOUS ZONE AND BILATERAL EXOFTALMUS (ARROW).**

jido retroocular y tercer párpado). Estos hallazgos son similares a los reportados por otros investigadores [3, 7-10, 31]. La evaluación citológica de las improntas de los tejidos neoplásicos reveló cambios microscópicos consistentes con leucosis bovina (LB), observándose el tejido neoplásico compuesto de una población de células inmaduras anaplásicas, pleomórficas de tejido linfóide (linfoblasto), resaltando la presencia de mitosis, hiper cromacia nuclear y necrosis, así como variaciones en forma y tamaño de los linfoblastos con predominio de linfocitos B. Las lesiones o cambios morfológicos microscópicos encontrados, permiten emitir un diagnóstico citológico de linfosarcoma y concuerdan con lo reportado por varios autores en la literatura mundial [3, 7-10, 13, 14, 15, 23, 25-27, 29, 30, 33, 37].

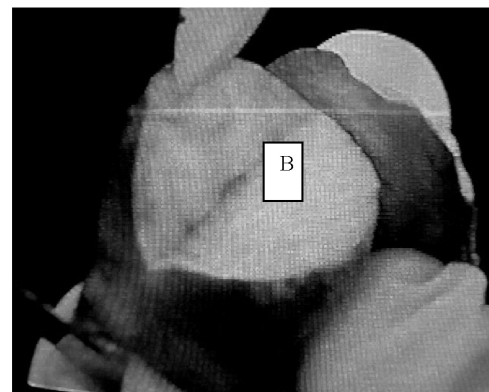
Los cambios anatomopatológicos macroscópicos estaban caracterizados por la presencia de múltiples nódulos neoplásicos de varios tamaños (1-20cm.), cuyo tejido tumoral al corte tenía aspecto de “carne de pescado” cocido y de color gris. Estos nódulos estaban localizados en el área subcutánea y capas musculares profundas (FIG. 2). Los órganos internos, principalmente afectados, fueron los nódulos linfoides (linfocentros) regionales en donde había un infiltrado de tejido neoplásico en corteza con áreas de hemorragias y necrosis (FIG. 3). El bazo presentó una masa neoplásica sobre la superficie externa, con el mismo aspecto y color descrito para los nódulos linfoides regionales (FIG. 4). El riñón tenía un área grisácea en la corteza, observándose una marcada nefromegalia hasta 4 veces su tamaño normal (30x25x20 cm.) y de color gris pálido (FIG. 5). El corazón presentó lesiones nodulares neoplásicas similares a otros órganos, con aspecto de coliflor sobre la superficie externa de las aurículas (FIG. 6) y adherencias epicárdicas y pericárdicas (FIG. 7), observándose nódulos neoplásicos de tejido linfóide bien definidos sobre la superficie externa de los grandes vasos arteriales (FIG. 8). Las evaluaciones histopatológicas microscópicas permitieron revelar la presencia de tejido neoplásico maligno poco diferenciado de tipo linfóide, con predominio de linfocitos B con alto grado de anaplasia y áreas de necrosis con hemorragias, ratificando el



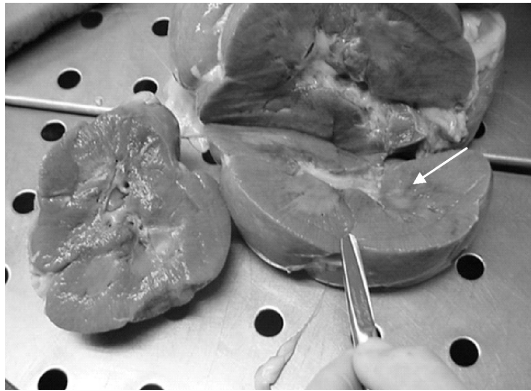
**FIGURA 2. MACROFOTOGRAFÍA. PIEL DEL ÁREA CERVICAL. NÓTESE NÓDULOS MÚLTIPLES DE VARIABLE TAMAÑO (FLECHAS)/ SKIN OF CERVICAL AREA. NOTE MULTIPLE NODES OF VARIABLE SIZE (ARROWS).**



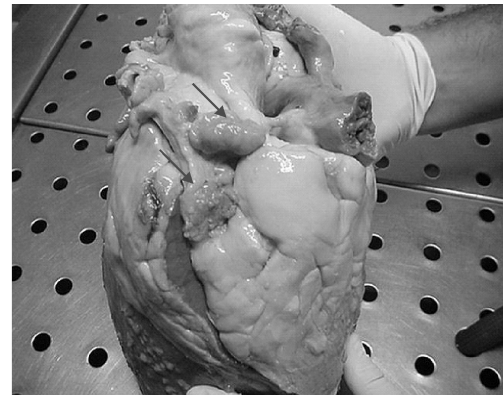
**FIGURA 3. MACROFOTOGRAFÍA. NÓDULO CUTÁNEO TUMORAL ULCERADO. NÓTESE ÁREAS DE HEMORRAGIA Y NECROSIS (A) Y TEJIDO BLANQUECINO DENSO LINFÓIDE NEOPLÁSICO (FLECHA)/ ULCERATED NEOPLASTIC CUTANEOUS NODE. NOTE HEMORRHAGES AND NECROSIS (A) AND WHITISH DENSE NEOPLASTIC LYMPHOID TISSUE (ARROW).**



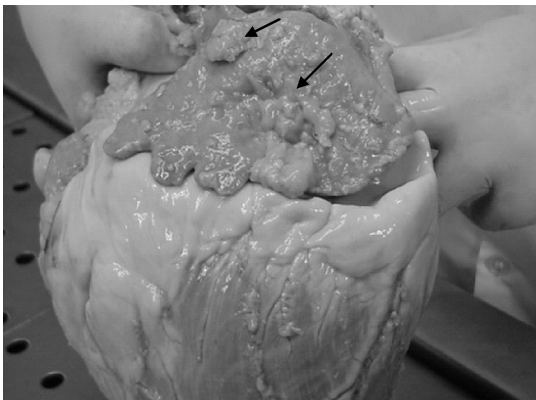
**FIGURA 4. MACROFOTOGRAFÍA. CORTE DE NÓDULO TUMORAL CUTÁNEO. NÓTESE MASA SÓLIDA DE TEJIDO NEOPLÁSICO BLANQUECINO (B) CON ASPECTO DE CARNE DE PESCADO/ CUT SURFACE OF NEOPLASTIC NODE. NOTE SOLID MASS OF NEOPLASTIC WHITISH TISSUE (B) RESEMBLING FISH FLASH.**



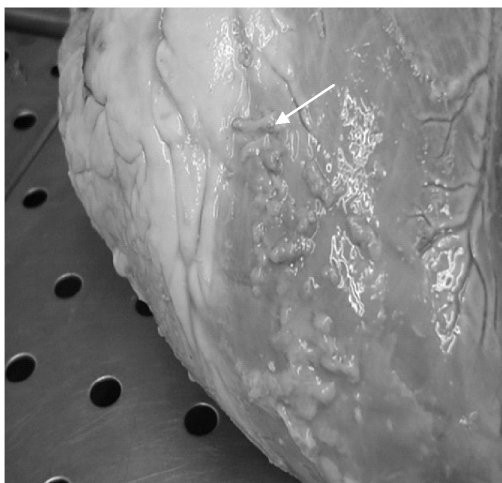
**FIGURA 5. MACROFOTOGRAFÍA. CORTE DE RIÑÓN. NÓTESE ÁREA FOCAL BLANQUECINA EN ZONA CORTICOMEDULAR (FLECHA) Y NEFROMEGLIA/ KIDNEY CUT SURFACE. NOTE FOCAL WHITISH AREA ON CORTICOMEDULAR LINE (ARROW) AND NEPHROMEGLY.**



**FIGURA 8. MACROFOTOGRAFÍA. CORAZÓN. NÓTESE FORMACIONES NODULARES NEOPLÁSICAS IRREGULARES SOBRE LA ADVENTICIA DE LOS GRANDES VASOS (FLECHAS)/ HEART. NOTE IRREGULAR NODULAR NEOPLASTIC GROWTH ON ADVENTICIA OF LARGE BLOOD VESSELS (ARROWS).**



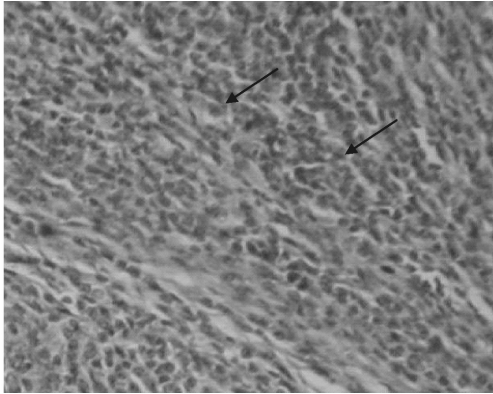
**FIGURA 6. MACROFOTOGRAFÍA. CORAZÓN. NÓTESE AURÍCULAS CON MASAS DE TEJIDO TUMORAL A MANERA DE PEQUEÑOS NÓDULOS EN SUPERFICIE EXTERNA (FLECHAS)/ HEART. NOTE NEOPLASTIC NODULAR MASSES AS SMALL NODULES ON EXTERNAL SURFACE (ARROWS).**



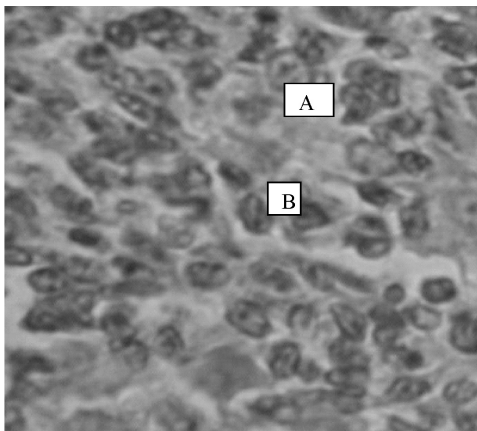
**FIGURA 7. MACROFOTOGRAFÍA. EPICARDIO. NÓTESE TEJIDO CONECTIVO FIBROSO (FLECHA) EN SUPERFICIE EXTERNA REPRESENTANDO ADHERENCIAS CON EL PERICARDIO/ EPICARDIUM. NOTE FIBROUS CONECTIVE TISSUE WITH ADHERENTES ON EXTERNAL SURFACE (ARROW).**

diagnóstico de linfosarcoma multicéntrico: Las células neoplásicas tenían escaso citoplasma, núcleos hendidos e hipercromáticos en conjunto con linfocitos pleomórficos y elevado índice mitótico; también se encontró células gigantes multinucleadas y necrosis, observándose un variado patrón histológico en algunas áreas del tejido tumoral (FIGS. 9 y 10). Estos resultados permiten diagnosticar en base al estudio anatomopatológico, la presencia de linfosarcoma multicéntrico por primera vez en una búfalo de agua en el estado Mérida, Venezuela y son consistentes con los señalados por otros autores a nivel mundial [3, 5, 6, 10, 24-27].

La leucosis de los bovinos (LB) es una enfermedad neoplásica enzoótica que ha estado presente en los rebaños bovinos de Venezuela [10, 25, 26, 30]; sin embargo, en las últimas dos décadas ha merecido poca atención en cuanto a una investigación que permita conocer la prevalencia e incidencia de esta patología, en base a pruebas de laboratorio. A partir de los años 70 y hasta mediados de los 80, se inició una investigación sobre la enfermedad en base a observaciones clínicas en rebaños de bovinos procedentes de la isla de Guara del estado Deltamacuro. Muestras de tejidos para histopatología y de sangre para evaluaciones serológicas y hematológicas fueron tomadas, obteniéndose los siguientes resultados: mediante la técnica de inmunodifusión en agar gel (AGID) la positividad se ubicó en un 43,75% de los 16 sueros bovinos analizados, mientras que en búfalos de agua la positividad se ubicó en un 11,49% de los 348 sueros analizados [25, 29]. Existen reportes a nivel mundial de la morbilidad de leucosis bovina en búfalos de agua, así como estudios anatomopatológicos a partir de casos aislados [1, 2-4, 6-10, 25, 29, 31]. Posterior a la aparición del caso sospechoso a LB, que motivó la presente investigación, se realizaron pruebas serológicas a 300 búfalos del cual procede el caso citado. En este sentido, las técnicas ELISA y AGID, utilizadas por el laboratorio de referencia, permitieron detectar una positividad del 2% en la totalidad de los búfalos estudiados, demostrándose así actividad viral en la



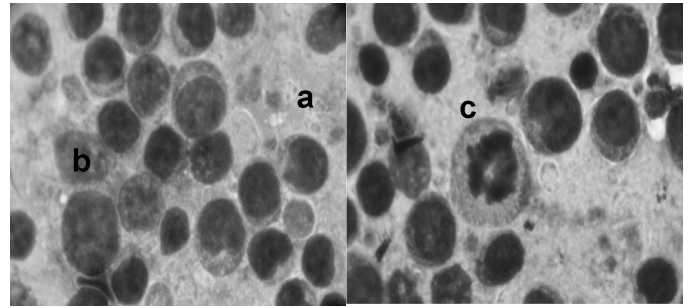
**FIGURA 9. MICROGRAFÍA. NÓDULO NEOPLÁSICO LINFOIDE. NÓTESE LA PÉRDIDA DE LA ARQUITECTURA Y PRESENCIA DE CÉLULAS LINFOIDES PLEOMÓRFICAS Y ANAPLÁSICAS. (FLECHAS) X20. H-E/ LYMPHOID NEOPLASTIC NODE. NOTE LOST OF TISSUE ARCHITECTURE AND PRESENCE OF ANAPLASTIA PLEOMORPHIC LYMPHOID CELLS (ARROWS) X20. H-E.**



**FIGURA 10. MICROGRAFÍA. NÓDULO LINFOIDE TUMORAL. NÓTESE EL PLEOMORFISMO CELULAR (A), ANAPLASIA Y PRESENCIA DE NÚCLEOS GRANDES CON MITOSIS (B). X40. H-E/ TUMORAL LYMPHOID NODE. NOTE CELLULAR PLEOMORPHISM (A) ANAPLASIA AND PRESENCE OF MITOTIC LARGE NUCLEI (B). X40. H-E.**

zona bajo estudio; sin embargo, la positividad encontrada es menor a la reportada por otros autores [24, 29, 31].

Los hallazgos clínico-patológicos encontrados en la búfala de agua y la positividad del 2% encontrada, permiten demostrar la presencia de LB en la zona estudiada y constituye el primer caso procedente del estado Mérida, Venezuela. Los cambios clínicos reportados se correlacionan con las lesiones encontradas y a la vez consistentes con otras investigaciones realizadas en bovinos en Venezuela [29] y en búfalos de agua a nivel mundial [3, 7-10, 15, 16, 25, 29, 31]. Aún cuando al presente caso no le fue realizada la prueba serológica para LB, los hallazgos morfológicos son compatibles con LB. Para el control de la enfermedad, es importante conocer el poder de infección del agente etiológico (retrovirus) con sus diferentes fracciones proteicas (p15, p24, p12, p14), así como las glico-



**FIGURA 11. MICROGRAFÍA DE IMPRONTA DE NÓDULO NEOPLÁSICO. NÓTESE MORFOLOGÍA DE LOS LINFOBLASTOS (B) Y LINFOCITOS (A) CON ANAPLASIA Y MITOSIS (C). GIEMSA. X 100/ SMEAR OF NEOPLASTIC NODE. NOTE MORPHOLOGY OF UNDIFFERENTIATED LYMPHOBLASTS (B) AND LYMPHOCYTES (A) WITH ANAPLASIA AND MITOSIS (C). GIEMSA. X100.**

proteínas de envoltura gp30 y gp51, que favorece la condición latente del virus en los linfocitos tipo B [35]. Resulta relevante identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de la infección, en virtud de que la transmisión vertical y horizontal ocurre con relativa frecuencia en bovinos, la cual puede darse de manera directa de un animal a otro, o indirectamente a través de vectores o fomites. Ambos mecanismos permiten una fácil difusión de la enfermedad en los rebaños, sino se establecen medidas sanitarias de manera oportuna [3, 8-10, 13-15, 25, 29, 30, 40].

## CONCLUSIONES

- La leucosis bovina existe en Venezuela y parece coexistir en un rebaño de Búfalos de agua introducido en el país.
- Se reporta por primera vez en una búfala de agua, un caso de linfosarcoma multicéntrico compatible con LVB procedente del estado Mérida.
- Se detectó actividad viral en el 2% de la población bufalina estudiada.
- Las lesiones encontradas son consistentes con los cambios morfológicos típicos y compatibles con LVB en su forma neoplásica nodular multicéntrica (linfoma multicéntrico).
- Los hallazgos morfológicos encontrados, a través del estudio macroscópico, permiten formular la sospecha de LB en el caso estudiado.

## RECOMENDACIONES

- Continuar la investigación en el área de salud animal para conocer la magnitud de la infección en la población bufalina.

- Realizar estudios serológicos (ELISA, AGID, RIA) para establecer el status viral en estos rebaños bufalinos de la región.
- Reportar al sector oficial de salud animal los casos que resulten positivos a las pruebas serológicas.
- Establecer los mecanismos sanitarios que minimicen el riesgo de infección en el rebaño, en caso de ser dicha enfermedad prevalente.
- Permitir la introducción de animales nuevos al rebaño, solo cuando al realizar la prueba serológica sea negativa a LB, considerando que se trata de una especie que viene siendo introducida en Venezuela como alternativa de producción.
- Continuar la investigación en el área de salud animal, para caracterizar las diferentes entidades patológicas que puedan estar presentes en rebaños de búfalos de agua en Venezuela y que representan una amenaza para esta especie.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGRESTI, A.; PONTI, W.; MARA, R.; MAROZI, A.; CAVALLERI, D.; PERI, E.; POLI, G.; GINELLI, E. Use of Polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. **Am. J. Vet. Res.** 54:373-378. 1993.
- [2] AMILLS, M.; NORIMENE, J.; OLMSTEAD, C.; ETL, H. Cytokine mRNA expression in B cells from Bovine leukemia virus-infected cattle with persistent lymphocytosis. **Cytok** 28 (1): 25-28, 2004.
- [3] ARCHIBALD, J.; BLOOD, D.C.; HENDERSON, J.A. Neoplasms. Bovine Leukosis **The Merck Veterinary Manual**. 5<sup>th</sup> Ed. Merck & Co. INC. N.J. 633-635 pp. 1979.
- [4] BEYER, J.; KOLLNER, B.; TEIFKE, J.; STARICK, E.; BEIER, D.; REIMANN, L.; GRUNDWALD, U.; ETZILLER, M.; Cattle infected with bovine leukemia virus may not only develop persistent B cell lymphocytosis, but also persistent B-cell lymphopenia. **J. Vet. Med.** 49 (6): 270-277. 2002.
- [5] BUEN DE A, N DE. Citología de Órganos y Tejidos. Linfonodo. **Citología Diagnóstica Veterinaria**. 1ra Ed. Manual Moderno. UNAM. México. 82-84 pp. 2001.
- [6] BURRIDGE, M.; PUHR, D.; ETHENNEMAN, J. Prevalence of bovine leukemia virus infection in Florida. **J. Am Vet Med Assoc.** 179: 704-707. 1981.
- [7] CHAMIZO, E.G. Leucosis Bovina Enzoótica. En: **Patología especial y diagnóstico de las Enfermedades de los Animales Domésticos**. Edit. UABC, Mexicali. 78-81 pp. 1995.
- [8] CHAMIZO, E. G. Leucosis Bovina Enzoótica. En: **Patología Orgánica y Enfermedades de los Animales Domésticos**. Edit. Félix Varela. La Habana. 209 pp. 1997.
- [9] CHAMIZO, E.; BRITO, R. Leucosis bovina enzoótica como causa de ineficiencia reproductiva en el Ganado lechero. **ARA**. I (2):40-42. 2000.
- [10] CHAMIZO, E. G. Leucosis Bovina Enzoótica: Revisión. **REDVET**. VI (7): 2-25. 2005.
- [11] DEGIUSEPPE, A.; FELIZIANI, F.; RUTILI, D. DE MIA, G. Expression of the bovine leukemia virus envelope glycoprotein (gp51) by recombinant baculovirus and its use in an enzyme-linked Immunoabsorbent assay. **Clin. Diag. Lab. Immunol.** 11 (1): 147-151. 2004.
- [12] DEQUIET, E.; CANTOR, G.; HALMINTON, V.; PRITCHARD, S.; DAVIS, W., KIRKHOF, P.; BURNBY, A.; KETTMANN, R. ETW, I. Bovine leukemia induced persistent lymphocytosis in cattle does not correlate with in vivo survival of B-lymphocytes. **J. Virol.** 73 (2): 1127-1137. 1999.
- [13] EVERMANN, J. Understanding BLV infection. How far we have come in a decade. **Vet. Med.** 87: 246. 1992.
- [14] EVERMANN, J.; DIGIACOMO, R.; SHARON, H. Bovine leukosis virus Understanding viral transmission and the methods of control. **Vet. Med.** 82: 1051-1058. 1987.
- [15] FAVA, C.; SAMARA, S.I.; BOER, M.C.G.; MEDEIROS, A.S.R.; OLIVEIRA, M.A.C.; OLIVEIRA, M.A.; LIMA, E.G. Algunos aspectos de infecao experimental pelovirus de Leucose Enzzotica Bovina en Bufalos e Ovinos. **Ars Vet. Jabot.** 15 (1): 33-38.1999.
- [16] FERRER, J.; MARSHAK, R.; ABT, D.; KENYON, S. Persistent lymphocytosis in cattle: Its cause, nature and relation to lymphosarcoma. **Ann. Rec. Vet.** 9:851-857. 1987.
- [17] GAZQUES, A. La Necropsia. **Necropsia en los Mamíferos Domésticos**. Interamericana. 1<sup>a</sup> Ed.13-21 pp. 1988.
- [18] GONZÁLEZ, T.; LICURSI, M.; BONZO, E. Enzootic Bovine Leukosis: Performance of an Indirect ELISA applied in serological diagnosis. **Braz. J. Microb.** 328 (1):1-5. 2007.
- [19] GUPTA, P.; FERRER, J. Comparison of various serological and direct methods for the diagnosis of BLV infection in cattle. **Int. J. Canc.** 28(2): 179-184. 1981.
- [20] HAVE, P.; HOFF, J.R. Demonstration of antibodies against bovine leukemia virus (BLV) by blocking ELISA virus bovine polyclonal anti-BLV Immunoglobulin. **Vet. Mic** 27: 220-229. 1991.
- [21] HEUVEL VAN DEN, M.; PORTELLE, D.; JEFFEERSON, B.; JACOBS, R. Adaptation of a sandwich enzyme linked Immunoabsorbent assay to determine the concentration

- of bovine leukemia virus p24 and optimal condition for p24 expression in short term cultures of peripheral blood mononuclear cells. **J. Virol. Meth.** 111 (1): 61-67. 2003.
- [22] HUMASON, G.L. Fixation and Hematoxilin Staining. **Basic. Procedures. Animal Tissue Techniques.** 4<sup>th</sup> Ed. Freeman & Co. 5-111 pp. 1979.
- [23] HUNG-JONES, M. Serological study on the incidence and prevalence of antibodies to bovine leukemia virus in agar sera. **Can. J. Comp. Med.** 48:422-424. 1992.
- [24] JUBB, K.V.J.; KENNEDY, P.C.; Palmer. N. Lymphomatosis in Cattle. **Pathology of Domestic Animals.** 3<sup>rd</sup> Ed. Academic Press London. 526-549 pp. 1985.
- [25] KIRKLAND, P. D.; RODWELL, B. J. Enzootic Bovine Leukosis. **Australian and New Zealand Standard Diagnostic Procedures.** Elizabeth Macarthur Agricultural Institute. PMB Camden, NSW 2570. Australia. 1-14 pp. 2005.
- [26] KNAPEN, K.; KERKHOTS, P.; THIRY, E.; MAAMMER-ICKX, M. Epidemiological evaluation of a monoclonal ELISA detecting antibodies against bovine leukemia virus in serum pools. **Epidemiol. Infect.** 113: 563-569. 1994.
- [27] MACGAVIN, D.; CARLTON, M.; ZACHARY, W.W. Lymphosarcoma. **Thomson's Special Veterinary Pathology.** 3<sup>rd</sup> Ed. Mosby INC. Missouri. 370-373 pp. 2001.
- [28] MALATESTINIC, A. Bilateral Exophtalmus in a Holstein cow with lymphosarcoma. **Can Vet. J.** 44(8): 664-666. 2003.
- [29] MARÍN, C.; DE LÓPEZ, N.; DE ALVAREZ, L. Laboratorio de Leucosis: En: **Informe final sobre Patología de Búfalos.** Rebaño Corporación Venezolana de Guayana. M.A.C. FONAIAP. CENTRO NAC INVEST. AGROP. I. I.V. 51-52 pp. 1970.
- [30] MOLNAR, E.; MOLNAR, L.; GUEDES, V.T.M.; LIMA, E.S.C. Naturally occurring Bovine Leukosis virus in Water Buffalo (*Bubalus bubalis*) in Brazil. **Vet. Rec.** 146. (1): 33-38.1999.
- [31] MOULTON, J.E. Tumors of Lymphoid and Hemopoietic Tissues. Lymphoid Neoplasia in Cattle. **Tumours in Domestic Animals.** 3<sup>rd</sup> Ed. University of California Press Berkeley. 249-256 pp. 1990.
- [32] MONKE, D.; ROHDE, R.; HUESTON, W.; MILBURN, R. Estimation of the sensitivity and specificity of the agar gel immunodiffusion test for bovine leukemia virus. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 200(12): 2001-2004.1992.
- [33] RHODES, J.; PELZER, K.; JOHNSON, Y. Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid Atlantic dairy herds. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 223 (3): 346-352. 2003.
- [34] SCHELL, S.; HECKERT, H.; MULLER, K. Case report: Lymphosarcoma in a cow. **Dtsch Tierarzt Wochenschr.** 111 (1): 38-41. 2004.
- [35] SHETTIGARA, J. Control of bovine leukemia virus infection in dairy herds by agar gel immunodiffusion test and segregation of reactors. **Can. J. Vet. Res.** 53:108-110. 1989.
- [36] SINGH, B.; SINGH, K.P.; PARIHAR, M.S.; BANSAL, M.P.; SINGH, C.M. Clinic pathological studies on lymphosarcoma in Indian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Zentralbl Veterinarmed A.** 26(6): 468-481. 1979.
- [37] SORENSEN, O.; BEAL, V. Prevalence and Economics of Bovine Leucosis in the United States. **Procc. Bovine Leukosis Symposium** College Park M D (USA). 33-50 pp. 1979.
- [38] TRIGO, F.J. Sistema Linfohemopoyético. **Patología Sistémica Veterinaria.** 3<sup>a</sup> Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 369-371 pp. 1998.
- [39] UNGAR-WARON, H.; BRENNER, J.; PAZ, R.; TRAININ, Z. Circulation immune complexes in bovine leukemia virus (BLV) infected cattle. **Vet. Im. Immunopath.** 34: 173-179. 1992.
- [40] WANG, C. Bovine leukemia virus infection in Taiwán: epidemiological study. **J. Vet. Med. Sci.** 53: 395-398. 1991.