



Seroprevalencia de leucosis bovina en establos lecheros de Chachapoyas y Pomacochas

Seroprevalence of bovine leukosis in dairy stables of Chachapoyas and Pomacochas

Hugo Frias^{1,a,*}, Nilton Murga^{1,b}, Yesica Rojas-Bravo^{1,c}, Segundo Portocarrero^{1,d}, Elias Torres^{2,e}

¹ Instituto de Investigación en Ganadería y Biotecnología, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú.

² Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú.

^a M.Sc., ✉ hugo.frias@untrm.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0003-0224-1935>

^b M.Sc., ✉ nmurga.fizab@untrm.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0002-1473-9055>

^c Médico Veterinario, ✉ yesica.rojas@untrm.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0002-9117-9266>

^d Ing., ✉ segundo.portocarrero@untrm.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0003-2332-9792>

^e Dr., ✉ elias.torres@untrm.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0003-2774-1055>

* Autor de Correspondencia: Tel. +51 965991618

<http://dx.doi.org/10.25127/riagrop.20213.704>

<http://revistas.untrm.edu.pe/index.php/RIAGROP>
revista.riagrop@untrm.edu.pe

Recepción: 05 de abril 2021

Aprobación: 08 de junio 2021

Este trabajo tiene licencia de Creative Commons.
Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0
International Public License – CC-BY-NC-SA 4.0

Resumen

La Leucosis bovina es causado por un virus de alta morbilidad y baja mortalidad, esta enfermedad afecta directamente al sistema inmune de los hospederos, que provoca una inmunosupresión favoreciendo la replicación de otros agentes patógenos que afectan a nivel productivo y reproductivo en los animales. El objetivo fue determinar la seroprevalencia del virus de Leucosis Bovina (BLV del ingles Bovine Leukosis virus) a través de la metodología de diagnóstico por serología (ELISA), donde se recolectaron 78 muestras de sangre a bovinos en establos lecheros de Chachapoyas y Pomacochas. Se obtuvo una seroprevalencia de 14.1%, siendo el establo de Pomacochas quien presento mayor seropositividad (11.3%), sin embargo, la presencia de la enfermedad no tiene relación directa con el sexo, edad, raza o procedencia del animal. Además, con los datos obtenidos se mantiene alerta la presencia del virus con el fin de realizar un programa de prevención y control de la enfermedad en la región.

Palabras clave: Morbilidad, mortalidad, inmune, patógenos, ELISA.

Abstract

Bovine leukosis is caused by a virus with high morbidity and low mortality, this disease directly affects the immune system of the hosts, which causes immunosuppression favoring the replication of other pathogens observed at the productive and reproductive level in animals. The objective was to determine the seroprevalence of Bovine Leukosis virus (BLV) through the diagnostic serology methodology (ELISA), where 78 blood samples were collected from cattle in two dairy farms in Chachapoyas and Pomacochas. A seroprevalence of 14.1% was obtained, being the Pomacochas stable that presented the highest seropositivity (11.3%), however, the presence of the disease is not directly related to the sex, age, race or origin of the animal. In addition, with the data obtained, the presence of the virus is kept alert in order to carry out a disease prevention and control program in the region.

Keywords: Morbidity, mortality, immune, pathogens, ELISA.

1. INTRODUCCIÓN

La Leucosis Enzootica Bovina es una enfermedad vírica que afecta con frecuencia a las explotaciones lecheras a nivel mundial, ya que influye directamente el hacinamiento y las diferentes prácticas veterinarias que facilitan su expansión (Gutiérrez *et al.*, 2010). Es causada por el virus de Leucosis Bovina (BLV) que es un *Deltaretrovirus* de la familia Retroviridae (Wu *et al.*, 2003; Baruta *et al.*, 2012; Choudhury *et al.*, 2013), y se caracteriza por afectar el sistema inmune de los bovinos específicamente los linfocitos B (Tomita *et al.*, 2013; Aida *et al.*, 2014), aunque tiene la capacidad de infectar a los linfocitos T y monocitos (Chamizo, 2005; Hagiwara *et al.*, 2014).

El Virus de la Leucosis Bovina (BLV) está compuesto por ARN, y presenta cadena simple diploide, que contiene información para las proteínas estructurales y enzimas, además, codifica proteínas no estructurales (Vogt, 1997); las cuales tienen importancia fundamental en la interacción del virus con la célula hospedadora, modulando la expresión de genes virales y

celulares, la replicación viral y la patogénesis (Willems *et al.*, 2000).

La transmisión puede darse de manera horizontal, de animal a animal (Gutiérrez, 2020), o de manera vertical, de madre a hijo (Hagiwara *et al.*, 2014). Los animales portadores asintomáticos se consideran la principal fuente de contagio en los hatos lecheros (Gutiérrez, 2010), debido a que el virus ingresa al organismo del hospedero a través de células infectadas por contacto directo entre fluidos corporales de sangre, saliva, semen (Dus Santos *et al.*, 2007), leche o calostro (Nagy *et al.*, 2007) o también por procedimientos iatrogénicos con baja asepsia, reutilización de agujas infectadas o guantes de palpación (Ortega *et al.*, 2016), donde se puede encontrar linfocitos infectados (Gutiérrez, 2010; Choudhury *et al.*, 2013; Khamesipour *et al.*, 2013).

La enfermedad es muy elevada en un hato lechero, la transmisión de manera horizontal se ve más favorecida especialmente durante los meses de verano en los cuáles se presenta mayor población de insectos, hecho que

dificulta su erradicación (Rola-Łuszczak *et al.*, 2013); por lo contrario, la transmisión vertical es de menor importancia, debido a que menos del 10% de los animales nacidos de madres portadoras presentan el virus (Gutiérrez, 2010).

Los animales infectados con el virus generalmente son asintomáticos; sin embargo, la exoftalmia es el signo más específico de la enfermedad, en la cual se produce la degeneración del tejido retro ocular y de las estructuras internas del ojo (Malatestinic, 2003). De los ejemplares que se infectan, el 30-70% desarrolla una linfocitosis persistente (Benavides *et al.*, 2013; Cenuse *et al.*, 2013; Sandev *et al.*, 2013, Forti *et al.*, 2014), mientras que entre el 0.1-10% de bovinos con más de tres años de infección, presentan la forma tumoral de la enfermedad o linfosarcoma (LS), en la cual los nódulos linfáticos aumentan de tamaño (Dess *et al.*, 1996; OIE, 2012). Los órganos más afectados con más frecuencia son la cuarta cavidad del rumen, la aurícula derecha del corazón, el bazo, el intestino, el hígado, el riñón, el omaso, los pulmones y el útero (Abdala *et al.*, 2013).

La susceptibilidad del ganado a una linfocitosis persistente y al desarrollo de tumores, varía de acuerdo a diversos factores dentro de los cuales destacan la edad, la genética y la raza (Frie & Coussens, 2015). Existen trabajos recientes que indican un efecto negativo en la producción y calidad de la leche debido a la infección, encontrándose una asociación lineal entre la mayor prevalencia de infección por el BLV y una menor producción de leche (Ott *et al.*, 2003; Erskine *et al.*, 2012). La infección por BLV también se ha asociado con un aumento en el recuento de células somáticas en leche, lo cual sucede especialmente en vacas con más de cuatro lactancias (Yang *et al.*, 2016).

Existe una prevalencia aproximada del 47.21% a nivel de Latinoamérica del sur, reportando el 92.7 % y 77% los países de Perú y Uruguay respectivamente (Gutiérrez *et al.*, 2020). Sin embargo, debido a que la gran mayoría de animales infectados por esta enfermedad son asintomáticos no se le brinda la importancia pertinente, por lo que este trabajo tiene como finalidad evaluar la seroprevalencia de Leucosis bovina en establos de Chachapoyas y Pomacochas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de estudio

Los establos se encuentran ubicados en el departamento de Amazonas, uno de ellos en el Distrito de Chachapoyas, localidad de Chachapoyas con una altitud de 2 335 m.s.n.m y el otro establo en el distrito de La Florida, localidad de Pomacochas que cuenta con una altitud de 2 225 m.s.n.m.

2.2. Muestras en estudio

Se recolectaron 78 muestras de sangre de semovientes de ambos sexos, entre dos meses y diez años de edad considerando las razas Jersey, Brown Swiss, Aberdeen Angus, Simmental y Otras razas.

2.3. Análisis serológico de Leucosis bovina

Se extrajo sangre directamente de la vena coccígea utilizando agujas BD Vacutainer calibre 20Gx1" y se colocó en tubos BD Vacutainer sin anticoagulante. Una vez tomadas las muestras, se rotularon los tubos con el nombre del animal, edad y raza, para luego ser transportadas rápidamente al

Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domesticas de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas para ser procesadas inmediatamente. Los sueros extraídos fueron almacenados a $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta el momento de su análisis.

Las muestras de suero se procesaron mediante la técnica de ELISA. El procedimiento se realizó según las indicaciones del inserto del kit comercial (IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test), para ello se colocaron $90\text{ }\mu\text{l}$ de dilución de antígeno en cada pocillo de las placas de poliestireno, a los que se le agregó independientemente $10\text{ }\mu\text{l}$ de muestra (suero sanguíneo), y en pocillos duplicados $10\text{ }\mu\text{l}$ de control positivo y $10\text{ }\mu\text{l}$ control negativo. Luego de incubar a $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 60 minutos (± 5), se eliminó el contenido y se realizó los 3 lavados utilizando $300\text{ }\mu\text{l}$ de solución de lavado. Se agregó $100\text{ }\mu\text{l}$ por pocillo de anti-inmunoglobulina bovina marcada con peroxidasa, se incubó a 60 minutos (± 5) a $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) y se eliminó el contenido. Luego de realizar los 3 lavados utilizando $300\text{ }\mu\text{l}$ de solución de lavado, se agregó $100\text{ }\mu\text{l}$ de la solución de sustrato (TMB) a cada pocillo, se incubó a $18 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) y se le adicionó $100\text{ }\mu\text{l}$ de solución stop. Los resultados se colocaron en el lector de absorción de microplacas iMark™ (BIO-RAD, EEUU) utilizando un espectrofotómetro con filtro a 450 nm .

2.4. Análisis de datos

Los datos fueron procesados mediante el Software SPSS utilizando estadística descriptiva y la prueba de chi-cuadrado para realizar la comparación entre variables.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Leucosis bovina según lugar de procedencia

El procesamiento de las muestras mediante la técnica de ELISA, permitió evidenciar que, de 78 muestras, el 14.1% de los animales presentan la enfermedad de Leucosis Bovina, siendo el 11.5 % pertenecientes al distrito de Pomacochas y el 2.6% al distrito de Chachapoyas (Tabla 1). Según el coeficiente de contingencia $r = 0.1$ indica que no existe una relación entre la procedencia y la presencia del virus en los animales ($p = 0.375 > 0.5$), de igual modo la prueba chi-cuadrado reportó que la presencia del virus en los animales es independiente de su procedencia ($\chi^2 = 0.787$; $p = 0.375 > 0.05$), caso contrario ocurrió en un estudio epidemiológico de BLV realizado en el 2015 en un establo lechero de Lima, donde se obtuvo una seroprevalencia elevada de 92.7% (Sandoval *et al.*, 2015).

Tabla 1. Presencia de Leucosis bovina según lugar de procedencia

	PROCEDENCIA		TOTAL
	Chachapoyas	Pomacochas	
Positivo	2.6%	11.5%	14.1%
Negativo	26.9%	59.0%	85.9%

Otra investigación realizada en 7 prefecturas de Japón, reportó una prevalencia general de infección para BLV de 28.6 % (Murakami *et al.*, 2011), mientras que en las haciendas del litoral ecuatoriano la prevalencia encontrada fue de 14.3% según Vallejo (1991); valores superiores a los reportados en la presente investigación. Por el contrario, estudios realizados por Puma y Yanza (2013) reportaron una prevalencia de 6.1%, y Bonifaz y Ulcuango (2013), una

seropositividad de 5.6%, están dentro de los rangos obtenidos en el presente estudio.

3.2. Leucosis bovina según raza

Con respecto a la relación que tienen las razas con la presencia del virus, se puede deducir que el mayor porcentaje lo presentan las razas Aberdeen Angus y Simmental con 7.7% y 2.6% respectivamente, mientras que las razas Jersey y Brown Swiss obtuvieron 1.3% (Tabla 2). Se obtuvo un coeficiente de contingencia $r = 0.224$, el cual indica que no existe relación entre la raza y la presencia del virus en los animales ($p = 0.388 > 0.5$), de la misma manera que la prueba

chi-cuadrado ($\chi^2 = 4.136$; $p = 0.388 > 0.05$) reafirma lo descrito anteriormente.

Sin embargo, trabajos anteriores revelan una seroprevalencia, mucho mayores a la presente investigación, del 50% en la raza Holstein en 100 hatos lecheros ubicados en el Atlántico medio de Estados Unidos (Rhodes, Pelzer & Johnson 2003); del mismo modo, en el estado de Michigan (Estados Unidos), las vacas Holstein que padecían esta enfermedad se ven afectadas a nivel de producción lechera en 1.1% (Norby *et al.* 2016) y en la calidad de leche debido a que producen menor cantidad de proteínas (Szewczuk *et al.*, 2012).

Tabla 2. Presencia de Leucosis bovina según raza

	RAZA					TOTAL
	Jersey	Brown Swiss	Aberdeen Angus	Simmental	Otras razas	
Positivo	1.3%	1.3%	7.7%	2.6%	1.3%	14.1%
Negativo	14.1%	5.1%	24.4%	37.2%	5.1%	85.9%

3.3. Leucosis bovina según sexo

En esta investigación se obtuvo que el mayor porcentaje de casos positivos lo presentan las hembras con 11.5% (Tabla 3), donde los datos del coeficiente de contingencia ($r = 0.016$; $p = 0.884 > 0.5$) y la prueba de chi – cuadrado ($\chi^2 = 0.021$; $p = 0.884 > 0.05$) reportaron que la presencia del virus en los bovinos es independiente de su sexo.

Por otro lado, se obtuvo que la presencia de la enfermedad respecto al sexo (hembras 11.5% y machos 2.6%), observando que las hembras son más propensas a padecer Leucosis bovina, coincidiendo con el trabajo de Vásconez *et al.*, (2017) en Ecuador, donde las hembras obtuvieron una prevalencia de 77.33%.

Tabla 3. Presencia de Leucosis bovina según sexo

	SEXO		TOTAL
	Hembra	Macho	
Positivo	11.5%	2.6%	14.1%
Negativo	71.8%	14.1%	85.9%

3.4. Leucosis bovina según la edad

En esta investigación donde se obtuvo el 5.1% en animales de 0.17 – 2.63 años y 7.54 - 10 años (Tabla 4), donde el coeficiente de contingencia y la prueba de chi-cuadrado fueron ($r = 0.238$; $p = 0.197 > 0.5$) y ($\chi^2 = 4.680$; $p = 0.197 > 0.05$) respectivamente, indicando que no existe relación entre la edad del animal y la presencia

de la enfermedad. Trabajos realizados en Perú, reportan que Sandoval *et al.*, (2015) obtuvo el 100% para animales mayores de 5 años, 97% para animales de 2 a 5 años y 60 % para menores

de 2 años; mientras que, en el 2017, (Vásconez *et al.*, 2017) determinó la seroprevalencia en animales menores de dos años en la provincia de Pichincha con 8.13%.

Tabla 4. Presencia de Leucosis bovina según la edad

	EDAD (años)				TOTAL
	0.17 - 2.63	2.63 - 5.09	5.09-7.54	7.54 - 10	
Positivo	5.1%	1.3%	2.6%	5.1%	14.1%
Negativo	42.3%	17.9%	15.4%	10.3%	85.9%

Con respecto a la relación entre la presencia de la enfermedad y la edad de los animales, se reportó en Colombia la prevalencia del 62% en animales de 1 a 2 años, 75% en bovinos de 2 a 3 años y los mayores de 3 años con 87% (Carrero *et al.*, 2008), caso similar ocurrió con el estudio realizado en Ecuador, donde la seroprevalencia en animales de 4 a 6 años y 7 a 9 años fue de 20.2% y 22.22% respectivamente, observando un aumento proporcional entre la edad y la cantidad de enfermos, concluyendo que a mayor permanencia en el hato existe mayor probabilidad de contagio (Torres, 2001).

Debido a que hasta la actualidad ninguna vacuna ha tenido éxito y no hay tratamiento contra el virus de Leucosis Bovina, se recomienda mejorar las buenas prácticas de manejo como realizar protocolos de asepsia para tratamientos iatrogénicos, individualizar el uso de agujas, guantes de palpación y evitar el contacto directo entre fluidos corporales (sangre, saliva, leche, semen y calostro) para evitar la propagación del virus en los hatos ganaderos.

4. CONCLUSIONES

Se obtuvo una prevalencia del 14.1 % para Leucosis Bovina mediante la técnica de ELISA, de los cuales el 11.5% pertenece al distrito de Pomacochas y el 2.6% al distrito de Chachapoyas. La raza Aberdeen Angus (7.7%) reportó el mayor porcentaje con relación a las demás razas estudiadas. Según el sexo, las hembras (11.5%) son más propensas a padecer esta enfermedad y con respecto a la edad, los bovinos menores de 2.6 años y mayores de 7.6 años presentaron mayor prevalencia con 5.1 %. Sin embargo, la presencia del virus de Leucosis bovina no tiene relación directa con la zona de procedencia, raza, sexo o edad de los bovinos.

Agradecimiento

Los autores agradecen al financiamiento del proyecto SNIP 292900 "Creación del laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos", que apoyo directamente en la ejecución de esta investigación colocando a disposición equipos, materiales y personal técnico.

Referencias

- Abdalla, E.A., Rosa, G.J.M., Weigel, K.A. & Byrem, T. (2013). Genetic analysis of leukosis incidence in United States Holstein and Jersey populations. *Journal of dairy science*, 96(9), 6022-6029. DOI: 10.1186/s12977-019-0488-8
- Aida, Y., Takeshima, S.N., Panei, C.J., Omori, T., Nunoya, T., Davis, W.C. & Matoba, K. (2014). BLV-CoCoMo-qPCR: estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis. *Retrovirology*, 11(1), 1-1.
- Baruta, D.A., Ardoino, S.M., Brandan, J.L., Sosa, R.E., Mariani, E.L., Riesco, S.R. & Albrecht, E. (2012). *Relevamiento serológico de leucosis bovina enzoótica en tambos de tres departamentos de la zona norte de La Pampa*. En: Jornadas Latinoamericanas sobre Leucosis Bovina. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Virología.
- Benavides, B., Cedeño, D. & Serrano, M. (2013). Epidemiological study of bovine leukemia virus in dairy cows in six herds in the municipality of Pasto, Nariño. *Rev Lasallista Investig*, 10, 18-26.
- Bonifaz, N. & Ulcuango, F. (2015). Prevalencia de leucosis bovina en la comunidad Santo Domingo N° 1, CAYAMBE-ECUADOR 2012. La Granja: *Revista de ciencias de la vida*, 22(2), 33-39. <http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n22.2015.03>.
- Carrero, J., Arévalo, F., Tarazona, A. & Cepeda, B. (2008). Prevalencia de la seropositividad a la leucosis bovina mediante la técnica diagnóstica de ELISA indirecta en hatos lecheros situados en Mesa de los Santos, Santander. *Revista Spei Domus*, 5(11), 6-11. <https://goo.gl/exP8m1>
- Cenuse, C., Tirziu, E., Nichita, I., Cumpanasoiu, C. & Seres, M. (2013). Hematological changes associated with enzootic bovine leukosis in cattle from Timis County. *Lucrări Stiintifice*, 46, 26-30.
- Chamizo, E. (2005). Leucosis bovina enzoótica. EDVET 6(7) [Internet], [06 mayo 2014]. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612652016>.
- Choudhury, B., Finnegan, C., Frossard, J.P., Venables, C. & Steinbach, F. (2013). Colostrum replacer and bovine leukemia virus seropositivity in calves. *Emerg Infect Dis*, 19, 1027-1028.
- Dees, C., Godfrey, V., Schultz, R. & Travis, C. (1996). Wild type p53 reduces the size of tumors caused by bovine leukemia virus infected cell. *Cancer Lett*, 101(1), 115-122.
- Dus Santos, M.J., Trono, K., Lager, I. & Wigdorovitz, A. (2007). Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples. *Vet Microbiol*, 119, 10-18. DOI: 10.1016/j.vetmic.-2006.08.030
- Erskine, R.J., Bartlett, P.C., Byrem, T.M., Render, C.L., Febvay, C. & Houseman, J.T. (2012). Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. *J Dairy Sci*, 95, 727-734.
- Forti, K., Rizzo, G., Cagiola, M., Ferrante, G., Marini, C., Feliziani, F, et al. (2014). Identification of a novel overlapping sequential E epitope (E0) on the bovine leukaemia virus SU glycoprotein and analysis of immunological data. *Vet Microbiol.*, 172, 157-167. DOI: 10.3168/jds.2011-4760.
- Frie, M. & Coussens, P. (2015). Bovine Leukemia Virus: A major silent threat to proper immune responses in cattle. *Vet Immunol Immunop.*, 163, 103-114. DOI:10.1016/j.vetimm.2014.11.014
- Gutiérrez, G. (2010). *Estudio de la dinámica de infección perinatal con BLV en un rodeo de tambo de alta prevalencia*. Tesis de Doctor. Argentina: Universidad de Buenos Aires. 165 p.
- Gutiérrez, S.E., Lützelshwab, C.M., Barrios, C.N., & Juliarena, M.A. (2020). Leucosis bovina: una visión actualizada. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.16913>
- Hagiwara, A., Saito, M., Ishikawa, Y. & Kadota K. (2014). A histological study of lymphoid neoplasms in cattle infected with bovine leukosis virus. *J Jpn Vet Med Assoc*, 67, 199-203.
- Khamesipour, F., Doosti, A., Khodadoust, A. & Goodarzi, M. (2013). Molecular detection of bovine leukemia virus (BLV) in the frozen semen samples of bulls used for artificial insemination in Iran. *ROAVS*, 3, 412-416.
- Malatestinic, A. (2013). Bilateral exophthalmos in a Holstein cow with lymphosarcoma. *Can Vet J*, 44(8), 664-666.
- Malatestinic, A. (2003). Bilateral exophthalmos in a Holstein cow with lymphosarcoma. *The Canadian Veterinary Journal*, 44(8), 664.
- Murakami, K., Kobayashi, S., Kpnishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T. & Tsutsui, T. (2011). The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Veterinary Microbiology*, 148(1), 84-88. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.08.001
- Nagy, D., Tyler, J., Kleiboeker, S. & Stoker, A. (2003). Use of a polymerase chain reaction assay to detect bovine

- leukosis virus in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc*, 222(7), 983-985.
- Norby, B., Bartlett, P., Byrem, T. & Erskine, R. (2016). Effect of infection with bovine leukemia virus on milk production in Michigan dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 2043–2052. DOI: 10.3168/jds.2015-10089
- Organización Mundial de Sanidad Animal- OIE. (2012). *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres*. 7.ª edición. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.10_Leucosis_bovina_enzo%C3%B3tica.pdf.
- Ortega, D., Sánchez, A., Tobón, J. & Chaparro, Y. (2016). Seroprevalence and risk factors associated with bovine leukemia virus in Colombia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 8(5), 35-43.
- Ott, S.L., Johnson, R. & Wells, S.J. (2003). Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd – level productivity on US dairy farms. *Prev Vet Med*, 61, 249-262. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2003.08.003
- Puma, M. & Yanza, M. (2013). *Prevalencia de Leucosis bovina en tres parroquias Orientales del Cantón Paute, provincia de Azuay*. Universidad de Cuenca - Facultad de Ciencias Agropecuarias. Disponible en: <https://goo.gl/LXGvxz>
- Quispe Huayta, J. (2018). Seroprevalencia de la leucosis viral bovina (LVB) en vacunos Brown Swiss de la cuenca lechera del distrito de Pomata. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/9003>.
- Rhodes, J., Pelzer, K. & Johnson, Y. (2003). Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(3), 346-352. DOI: 10.2460/javma.2003.-223.346.
- Rola-Łuszczak, M., Finnegan, C., Olecha, M., Choudhury, B. & Kuzmak, J. (2013). Development of an improved real time PCR for the detection of bovine leukaemia provirus nucleic acid and its use in the clarification of inconclusive serological test results. *J Virol Methods*, 189, 258-264. DOI: 10.1016/j.jviromet.-2013.02.014.
- Sandev, N., Zapryanova, D., Stoycheva, I., Susenova, N. & Mircheva T. (2013). Investigation of some haematological and blood biochemical parameters in cattle spontaneously infected with bovine leukosis virus. *Mac Vet Rev*, 36, 107-110.
- Sandoval, R., Delgado, A., Ruiz, L. & Ramos, O. (2015). Determinación de la seroprevalencia del virus de la Leucemia Bovina en un establo lechero de Lima, Perú. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*, 26(1), 152-158.
- Szewczuk, M., Zych, S. & Katafiasz, S. (2012). Diagnosis of the bovine leukaemia virus infection in Polish Holstein-Friesian cows and comparison of their milk productivity. *Acta Veterinaria Brunensis*, 81, 353-358.
- Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú- SENASA. (2019). Amazonas: Monitoreo 886 cabezas de ganado para descarte de enfermedades.
- Torres, F. (2001). Prevalencia de leucosis bovina en las parroquias Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete del cantón Cuenca (Bachelor's thesis).
- Tomita, K., Cyuzyo, M., Kamomae, Y., Yazima, K., Uramoto, K., Takeshima, S. & Aida, Y. (2013). Investigation into the conditions and factors associated with the onset of bovine leucosis in Holstein cows in middle Hyogo prefecture. *J Jpn Vet Med Assoc*.
- Úsuga-Monroy, C., Echeverri-Zuluaga, J. J., & López-Herrera, A. (2018). Detección molecular y serológica del virus de la leucosis bovina en una población de vacas Holstein, de Colombia. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(2), 387-399.
- Vallejo, A.M. (1991). Estudio serológico de leucosis bovina en ganado del Litoral ecuatoriano. Universidad de Guayaquil.
- Vásconez-Hernández, A., Sandoval-Valencia, P., Puga-Torres, B., & La Cueva-Jácome, D. (2017). Seroprevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina en animales entre 6 A 24 meses en las Provincias de Manabí, Pichincha y Chimborazo-Ecuador. LA GRANJA. *Revista de Ciencias de la Vida*, 26(2), 131-141.
- Vogt, V.M. (1997). Retroviral virions and genomes. In: Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE (eds). *Retroviruses*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. p 27-69.
- Willems, L., Burny, A., Collete, D., Dangoisse, O., Dequiedt, F., Gatot, J.S., Kerkhofs, P., et al. (2000). Genetic determinants of bovine leukemia virus pathogenesis. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 16, 1787-1795. DOI: 10.1089/08892220050193326
- Wu, D., Murakami, K., Morooka, A., Jin, H., Inoshim, Y. & Sentsui, H. (2003). *In vivo* transcription of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency-like virus. *Virus Res*, 97(2), 81-87.
- Yang, Y., Fan, W., Mao, Y., Yang, Z., Lu, G., Zhang, R., Zhang, H., Szeto, C. & Wang, C. (2016). Bovine leukemia virus infection in cattle of China: Association with reduced milk production and increased somatic cell score. *J Dairy Sci*, 99, 36883697. DOI: 10.3168/jds.2015-10580.