



Determinación serológica del virus de leucosis enzoótica bovina (VLEB) en el municipio de Paipa, Boyacá (Colombia)



Jorge Alejandro Jiménez Sánchez ^a

Diana María Bulla-Castañeda ^a

Adriana María Díaz-Anaya ^a

Diego José García-Corredor ^a

Martin Orlando Pulido-Medellin ^{a*}

^a Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria y Zootecnia – GIDIMEVETZ. Avenida Central del Norte 39 - 115, Tunja (Boyacá) - Colombia.

*Autor de correspondencia: martin.pulido@uptc.edu.co

Resumen:

La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una infección económicamente importante del ganado lechero, causada por el virus de la leucemia enzoótica bovina (VLEB). El método habitual de propagación de la infección por VLEB es la transmisión horizontal, a través de la exposición directa e indirecta de animales susceptibles a los linfocitos infectados de la sangre o de la leche. Tras la infección los animales aparentan estar clínicamente sanos durante los primeros años postinfección, pero entre el 30 y 70 % de los animales pueden desarrollar linfocitosis persistente y del 0.1 a 10 % de los bovinos sufren de linfosarcoma. Esta infección se detecta mediante pruebas serológicas, generalmente por el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). El objetivo de la presente investigación fue determinar la seroprevalencia de VLEB en hembras bovinas del municipio de Paipa (Boyacá). El estudio epidemiológico fue observacional descriptivo de corte (transversal) con muestreo aleatorio simple, en donde se recolectaron 1000 muestras de suero las cuales fueron procesadas mediante la técnica de ELISA indirecta implementando el kit comercial SERELISA[®] BLV Ab Mono Blocking. Se determinó una seroprevalencia de 31.1 % (311/1000) encontrando asociación estadística significativa entre la raza, la edad y la seropositividad al virus.

Palabras clave: Enfermedades de los Bovinos, Leucosis, Seroprevalencia, ELISA.

Recibido: 27/04/2020

Aceptado: 07/04/2021

Introducción

La LEB o también conocida como Leucosis Viral Bovina (LVB), es una enfermedad infecciosa persistente causada por un retrovirus que pertenece al género *Deltaretrovirus* y ataca al ganado bovino, principalmente animales productores de leche^(1,2). Los bovinos son la única especie que se infecta de forma natural con el VLEB, aunque es posible infectar experimentalmente ovinos, caprinos, equinos, ciervos, conejos, ratas, cobayos, gatos, entre otros⁽³⁾.

El virus afecta principalmente a los linfocitos B, éste se transmite por vía horizontal y vertical, siendo la primera la más importante fuente de contagio⁽⁴⁾, la cual es causada principalmente por artrópodos como la mosca del caballo (tábanos) y por la ingestión de calostro de una vaca infectada. Además, puede presentarse por infección iatrogénica, la cual se da por medio de instrumentos quirúrgicos o mangas contaminadas con sangre infectada que queda como residuo de una palpación rectal⁽⁵⁾.

La enfermedad no se propaga con rapidez entre hatos; sin embargo, dentro de los hatos afectados la seropositividad puede ser hasta del 80 %. El periodo de incubación habitual es de 4 a 5 años. La infección es rara en los animales menores de 2 años y su máxima frecuencia se presenta entre los 4 a 8 años de edad⁽³⁾. Los animales infectados con el virus generalmente no presentan signos visibles, 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^(6,7). Otros síntomas característicos de la enfermedad son inapetencia, pérdida de peso, debilidad general y, en ocasiones, manifestaciones neurológicas. Los ganglios linfáticos superficiales pueden verse inflamados y se pueden palpar bajo la piel o mediante un examen rectal⁽⁸⁾.

Es una enfermedad que afecta la producción de leche. Se ha demostrado que los animales infectados con el VLEB presentan disminución en la producción de leche que oscila entre el 2.5 al 5 % respecto al hato⁽⁹⁻¹²⁾. Sumado a esto se presenta mayor susceptibilidad a la aparición de otras enfermedades como mastitis, diarrea y neumonías⁽⁷⁾. Si bien, más de 20 países han eliminado con éxito el VLEB a través de programas de control, la prevalencia del virus puede ser hasta del 90 % en áreas endémicas como Europa del Este, América del Sur y varios países asiáticos⁽¹³⁾.

En Colombia la enfermedad es considerada de declaración obligatoria (Resolución ICA 3714 de 2015)⁽¹⁴⁾. Sin embargo, no existe un programa para prevenir la diseminación del VLEB en bovinos, el cual ayudaría a prevenir la presentación de la enfermedad, contribuyendo a la mitigación del impacto económico de la misma⁽¹⁵⁾. En el caso de la LEB los animales positivos al virus y los que presentan linfocitosis persistente, solamente pueden ser diagnosticados a través de técnicas en el laboratorio, mientras que los animales que presentan linfosarcoma, pueden ser fácilmente diagnosticados por el médico veterinario en campo⁽¹⁶⁾.

En Boyacá se han realizado pocas investigaciones sobre la enfermedad⁽⁸⁾, lo que evidencia la falta de información acerca de ésta en la zona. A su vez en el municipio de Paipa, se desconoce la seroprevalencia del virus y la relación que existe con su manifestación en la producción lechera, condición que se considera de gran relevancia, ya que este es un municipio de perfil económico agroindustrial con un sector ganadero fuerte, y una marcada tendencia al crecimiento. Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la seroprevalencia del VLEB en el municipio de Paipa, Boyacá.

Material y métodos

Ubicación geográfica

El estudio se realizó en Paipa (Boyacá), municipio colombiano situado en el centro-oriente de Colombia. Se encuentra en la provincia de Tundama del departamento. Según los datos del censo de 2005, cuenta con una población de 27,274 habitantes. En la estructura económica regional, el municipio participa ampliamente con diversos productos en cada uno de los sectores económicos. En el sector primario se maneja la agricultura, la ganadería y la minería. Dentro de la agricultura se cultivan avena, cebada, maíz, trigo, papa y legumbres y en la ganadería se obtienen productos como la leche y la carne⁽¹⁷⁾.

Tamaño de la muestra

Según el Censo Pecuario Nacional realizado por el Instituto Colombiano Agropecuario (2019)⁽¹⁸⁾, en el municipio de Paipa se registró una población bovina de 22,975 cabezas de ganado en donde 16,968 de estos individuos fueron hembras. Teniendo en cuenta esta información se determinó una muestra de 1,000 hembras bovinas, a partir de la siguiente fórmula obtenida a través del programa estadístico OpenEpi, versión 3: $[EDFF * Np(1-p)] / [(d^2/Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p*(1-p)]$; donde: d= límites de confianza como % de 100 (absoluto +/-%) = 3%; n= tamaño de la población (22,975); p= Frecuencia % hipotética del factor del resultado en la población = 50% +/-3; $Z_{1-\alpha/2}$ = valor de Z de dos lados, 1.96 para un intervalo de confianza del 95%; α = probabilidad de cola, p. Ej., 0.05 para un intervalo de confianza del 95%; efecto de diseño (para encuestas en grupo-EDFF).

Variables evaluadas

Se evaluaron las variables monta e inseminación artificial, tipo de ordeño implementado en cada finca, raza y edad de los animales muestreados.

Toma y procesamiento de muestras

Las muestras de sangre se obtuvieron de hembras mayores a 2 años de edad y pertenecientes a las razas Ayrshire, Holstein, Jersey y Normando; previo a la toma de la muestra de sangre se desinfectó el área con alcohol para facilitar la toma y evitar la contaminación de la misma. Mediante punción en la vena coccígea utilizando aguja calibre 16 y 18 de 3 pulgadas se extrajeron 7 ml de sangre implementando el sistema de tubos al vacío (tipo Vacutainer tapa roja o amarilla). Estos tubos fueron rotulados, refrigerados en cavas de icopor y transportados al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (Uptc), en donde se centrifugaron a 2,500 rpm por 10 min para separar las células del suero. Luego con una pipeta Pasteur se transfirió el suero a un tubo eppendorf para el almacenamiento a $-20^{\circ}\text{C}^{(19)}$. Las muestras se procesaron con la técnica de ELISA indirecta utilizando el kit comercial SERELISA[®] BLV Ab Mono Blocking (Zoetis, Estados Unidos) con una sensibilidad del 97 % y especificidad del 98 %, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

El estudio epidemiológico fue observacional descriptivo de corte (transversal) con muestreo aleatorio simple, en donde la población blanco estuvo conformada por bovinos de raza lechera del municipio de Paipa, mientras que la población de estudio fueron hembras bovinas de razas Holstein, Ayrshire, Jersey y Normando que tenían dos años o más. Los datos obtenidos se procesaron en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 19. Se realizó la prueba de Ji-cuadrada para determinar si existía relación entre la presencia de anticuerpos contra el VLEB y las variables evaluadas ($P \leq 0.05$), en donde las categorías de referencia para la edad fue el grupo etario de 2-3 años y para la raza fue la Ayrshire. Las variables que presentaron significancia estadística en donde el valor de P fue ≤ 0.05 se analizaron mediante regresión logística.

Consideraciones éticas

El estudio se realizó bajo las condiciones de la Ley 576 del 2000 y la Ley 84 de 1989 de la República de Colombia. Se obtuvo consentimiento informado por parte de los propietarios de los bovinos antes de la recolección de las muestras.

Resultados

Se determinó una seroprevalencia de 31.1 % para VLEB (311/1000) en hembras del municipio de Paipa. La raza Jersey fue la que presentó la seroprevalencia más alta (39.2 %), seguido de la raza Holstein, Ayrshire y Normando, con 38.1, 36.7 y 11.3 % respectivamente. En cuanto a los grupos etarios evaluados, se determinó que las hembras entre los 3 y 4 años presentan la seroprevalencia más alta (36.7 %), seguido por los individuos de más de 4 años y el grupo de bovinos de 2 a 3 años, con 23.4 y 21 % respectivamente.

Así mismo, la raza y edad de los individuos muestreados presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$). En cuanto a la edad, el grupo etario de 3 a 4 años presentaron asociación estadística significativa ($P = 0.000$; $P \leq 0.05$). Con respecto a la raza, las hembras de la raza Normando presentaron asociación significativa ($P = 0.000$; $P \leq 0.05$), además al presentar un valor de $OR < 1$ se puede considerar que estos bovinos presentan menor susceptibilidad a presentar anticuerpos contra el VLEB (Cuadro 1).

Cuadro 1: Análisis de la edad y la raza como factores de riesgo asociados a las infecciones por VLBE

Variable	Parámetro	OR	IC	P-valor
Edad	2-3 años			
	3- 4 años	2.106	1.466 – 3.025	0.000
	> 4 años	1.111	0.688 – 1.794	0.667
Raza	Ayrshire			
	Holstein	1.065	0.748 – 1.517	0.726
	Jersey	1.111	0.759 – 1.626	0.587
	Normando	0.220	0.138 – 0.351	0.000

Los resultados se presentan como “Odds Ratio” (OR) no ajustados e intervalo de confianza (IC) del 95%.

De 651 hembras preñadas mediante monta natural, el 32.6 % (212) fueron seropositivas al VLEB, mientras que, de 525 vacas preñadas por inseminación artificial, el 30.8 % (162) presentaron anticuerpos contra el virus. Sin embargo, ninguna de estas variables presentó asociación estadística significativa con la presentación de la enfermedad ($P > 0.05$).

En cuanto a las características del ordeño implementadas en las explotaciones, de las hembras sometidas a ordeño manual, el 30.5 % (210/688) fueron seropositivas a la enfermedad, mientras que, de los bovinos ordeñados de forma mecánica, el 31.7 % (91/446) presentaron anticuerpos contra el virus. Finalmente cabe resaltar que no se presentó asociación estadística entre la seropositividad a la enfermedad y el tipo de ordeño implementado ($P \geq 0.05$).

Discusión

Son diversos los estudios realizados en LEB a nivel nacional. Se han reportado prevalencias del 24.9 % en la región Andina, 14.4 % para el Caribe, 15.3 % en el Piedemonte Llanero y del 1.5 % en Córdoba mediante la técnica de inmunodifusión⁽²⁰⁾. Por otro lado, implementando la técnica de ELISA en Pasto la prevalencia encontrada fue del 19.8 %⁽²¹⁾, 15 % en Yopal⁽²²⁾, 13.5 % en Toca (Boyacá)⁽⁸⁾, 16.32 % y 16.07 % en Patía y Mercaderes (Cauca)⁽²³⁾. Finalmente, mediante pruebas moleculares se estableció la distribución departamental de la enfermedad por animal y granja evaluada en Cundinamarca (69 y 90 %), Boyacá (71 y 94 %), Antioquia (73 y 100 %), Meta (85 y 100 %), Nariño (14 y 75 %) y Cesar (17 y 75 %)⁽²⁴⁾.

A nivel internacional las prevalencias son variables, tras la implementación de la técnica ELISA se han establecido valores de 14.6 % en Chile⁽²⁵⁾, 92.7 % y 46.38 % en Perú^(1,26), 5.6 % en Ecuador⁽²⁷⁾, del 11 al 100 % en Tailandia⁽²⁸⁾. Cabe resaltar que la variación en los resultados puede darse por la cantidad de animales muestreados y las técnicas implementadas para el diagnóstico de la enfermedad. Sumado a esto, se debe tener en cuenta la forma de transmisión del virus, la cual puede darse a través de la leche y objetos que se encuentren contaminados con linfocitos infectados, por lo que las prácticas sanitarias y de manejo implementadas en cada hato muestreado, podrían influir en la transferencia del virus de un animal a otro⁽⁶⁾.

Con respecto a las razas, en el presente estudio se encontró mayor seroprevalencia en la raza Jersey. Esto difiere de los resultados obtenidos por Romero *et al* en el 2015⁽²⁹⁾, en donde esta raza presentó una prevalencia de 11.9 %. Así mismo, durante este estudio se encontraron diferencias estadísticas significativas entre esta variable y la presentación de anticuerpos contra el virus, resultados que concuerdan con los reportados por Hernández *et al*⁽³⁰⁾ quienes afirman que existe una fuerte dependencia entre el grupo racial y la seropositividad medida por ELISA ($P < 0.01$). Sin embargo, lo anterior no coincide con lo reportado por otros investigadores⁽³¹⁾, quienes determinan que no hay una asociación entre la variable raza y la presencia de LEB.

Por otro lado, la raza Normando tiene menores posibilidades de presentar la enfermedad con respecto a los individuos de las demás razas, lo que indica que actúa como un factor de protección frente al VLEB. Esto se podría presentar en primera medida debido a que los individuos de esta raza cuentan con características raciales que los hacen menos susceptibles a diferentes patologías y además, al no ser considerada como un biotipo racial específico para la producción de leche, tiene menores posibilidades de presentar el virus, ya que se debe tener en cuenta que las razas lecheras son más susceptibles a la presencia de la enfermedad como lo reportan otros estudios^(7,10,32).

Sumado a lo anterior, es importante resaltar que el estudio desarrollado por Hernández *et al*⁽³⁰⁾ indica un fuerte efecto racial sobre la dinámica de la infección con el VLEB, en

donde el ganado criollo como el Harton del Valle presentó una menor tasa de infección con el virus, los animales que se infectaron desarrollaron menos linfocitosis, tuvieron una respuesta inmune más alta y mantuvieron una carga proviral más baja en comparación con la raza Holstein.

En cuanto a la edad, se presentaron diferencias estadísticas significativas, lo que concuerda con lo afirmado por Betancur y Rodas⁽³¹⁾, quienes identificaron una mayor frecuencia de infección dependiendo del intervalo de edad. Así mismo, Hernández *et al*⁽³⁰⁾ establecieron que la presencia del VLEB depende de la edad del animal; las hembras entre 3 y 4 años de edad, presentaron la seroprevalencia más alta, tras la implementación de técnicas moleculares y ELISA determinaron que los animales mayores de 4 años presentaron porcentajes de infección más altos, observándose una marcada reducción de las prevalencias en animales más jóvenes. De esta manera se puede establecer que existe mayor susceptibilidad al virus a medida que aumenta la edad del animal, lo que podría explicarse por la existencia de exposición acumulada al virus al mantenerse el contacto con animales infectados^(31,33). Sumado a esto, Gutiérrez *et al*⁽³⁴⁾ indican que la inmunidad pasiva en animales jóvenes puede alterar los porcentajes de infección medidos por ELISA en un hato con alta prevalencia del VLEB.

Por otro lado, los factores de riesgo que predisponen a la presencia de la enfermedad pueden estar dados principalmente por el manejo y las prácticas que se llevan a cabo en cada una de las fincas, siendo éste un aspecto a tener en cuenta para prevenir la presentación de la enfermedad y controlar su propagación^(8,22). A pesar que en el presente estudio no se encontró asociación estadística significativa con las variables reproductivas evaluadas, se estableció que existe una alta seroprevalencia del virus en hembras que son preñadas con monta natural (32.6 %). Lo anterior se debe a que la transmisión horizontal se da principalmente debido a la presencia de linfocitos infectados en fluidos biológicos como el semen⁽³⁵⁾. Además, Bonifas y Ulcuango⁽²⁷⁾ determinaron que la monta directa contribuye a la propagación de la infección por la utilización de toros positivos a LEB. Sumado a esto el examen rectal es una ruta potencial de transmisión del virus, pero la transmisión está relacionada con otros factores, como el número de palpaciones con un guante común, el nivel de contaminación del guante con linfocitos infectados y la edad de los animales⁽³⁶⁾.

Al relacionar la enfermedad con el tipo de ordeño de las explotaciones, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre esta variable y la enfermedad. Sin embargo, el 30.5 y 31.7 % de los bovinos sometidos a ordeño manual y mecánico respectivamente, fueron seropositivos al VLEB. Estudios previos, han reportado que en las ganaderías de producción de leche al presentar diferentes tipos de ordeño, se requiere mayor intervención durante este proceso, facilitando la diseminación iatrogénica de partículas virales a través de leche, equipos o manos de los operarios, generando que las hembras sean más propensas a la presentación de la enfermedad^(5,37,38,39).

Conclusiones e implicaciones

Se determinó alta seroprevalencia del VLEB en hembras bovinas del municipio de Paipa (Boyacá), encontrándose asociación estadística con la raza y la edad de los individuos evaluados. Se considera que el diagnóstico precoz de la enfermedad permitirá establecer programas eficaces de control de la misma, previniendo la propagación del virus en la región. Sumado a esto, se requiere investigación futura que permita comparar las influencias de cada factor de riesgo (tipo de descorne, implementación de agujas hipodérmicas, modo de implementación de mangas de palpación, tamaño de los hatos, entre otras) responsable de la transmisión dentro del hato, contribuyendo así a la probabilidad de que la enfermedad llegue a tener bajas proporciones epidémicas a futuro.

Conflicto de intereses

Los autores del presente artículo declaran que no existe ningún tipo de conflicto de intereses, ni ninguna relación económica, personal, política, interés financiero, ni académico que pueda influir en el juicio de los mismos.

Literatura citada:

1. Sandoval MR, Delgado CA, Ruiz GL, Ramos CO. Determinación de la Seroprevalencia del Virus de la Leucemia Bovina en Lima, Perú. *Rev Investig Vet del Perú* 2015;26(1):152–158.
2. Vásquez-Hernández A, Sandoval-Valencia P, Puga-Torres B, De La Cueva-Jácome F. Seroprevalencia de leucosis enzoótica bovina en animales entre 6 a 24 meses en las provincias de Manabí, Pichincha y Chimborazo - Ecuador. *La Granja* 2017;26(2):131–141.
3. Buitrago-Mejía JA, Salzar-Torres LM. Virus de Leucosis Bovina (VLB): Una revisión. *Sinergia* 2018;3:130–151.
4. Algorta-Turini A, Alvarez-Albanell JP, De Brun-Mnéndez ML. Transmisión de la Leucosis Bovina Enzoótica en un campo de recría de ganado lechero en el sur del Uruguay [tesis doctorado]. Uruguay: Universidad de la República; 2014.
5. Gutiérrez G, Rodríguez SM, De Brogniez A, Gillet N, Golime R, Burny A, *et al.* Vaccination against δ -retroviruses: The bovine leukemia virus paradigm. *Viruses* 2014;6(6):2416–2427.
6. Nekouei O, VanLeeuwen J, Sanchez J, Kelton D, Tiwari A, Keefe G. Herd-level risk factors for infection with bovine leukemia virus in Canadian dairy herds. *Prev Vet Med* 2015;119(3–4):105–113.

- 7.Úsuga-Monroy C, Echeverri JJ, López-Herrera A. El componente racial influencia la resistencia a la infección con el virus de la leucosis bovina. *Rev Fac Med Vet Zootec* 2018;65(2):130–139.
- 8.Pulido-Medellín M, González-Ariza W, Bayona H, Chavarro-Tulcán G. Determinación de Leucosis Enzoótica Bovina mediante las claves hematológicas de Göttingen y Elisa en Boyacá, Colombia. *Rev Fac Ciencias Vet* 2017;58(1):10–16.
- 9.Baruta DA, Ardoino SM, Brandan JL, Sosa RE, Mariani EL, Albretch EM. Leucosis Enzoótica Bovina. *Cienc Vet* 2011;13(1):9–16.
- 10.Cadavid G. Impacto del virus de la leucosis bovina en la producción de leche. [tesis maestría]. Palmira, Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, 2012.
- 11.Erskine RJ, Bartlett PC, Byrem TM, Render CL, Febvay C, Houseman JT. Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. *J Dairy Sci* 2012;95(2):727–734.
12. Apaza J. Seroprevalencia de la Leucosis Viral Bovina (LVB) en vacunos de la raza Brown Swiss en tres asociaciones del distrito de Paucarcolla [tesis licenciatura]. Puno, Perú: Universidad Nacional del Altiplano; 2019.
13. Polat M, Takeshima S, Aida Y. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. *Virol J* 2017;14(209):1–16.
14. ICA. Resolución 3714 de 2015. Por la cual se establecen las enfermedades de declaración obligatoria en Colombia. 2015. <https://www.ica.gov.co/getattachment/3188abb6-2297-44e2-89e63a5dbd4db210/2015R3714.aspx> .
15. Tsutsui T, Kobayashi S, Hayama Y, Yamamoto T. Fraction of bovine leukemia virus-infected dairy cattle developing enzootic bovine leukosis. *Prev Vet Med* 2016;124:96–101.
16. Monge-Rojas CR, Elizondo-Salazar JA. La leucosis enzoótica bovina: un asesino silencioso. *Nutr Anim Trop* 2019;13(1):38–54.
17. Alcaldía Municipal P. Descripción Paipa, Boyacá. 2019. <http://www.paipa-boyaca.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Economia.aspx>.
18. ICA. Censo Pecuario Nacional año 2019 [Internet]. 2019. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>.
19. Figueredo M, Pompei A, Martini M. Manual veterinario de toma y envío de muestras. 2017.

20. Orjuela J. NM, Betancourt L. Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia. 2009. <http://www.fao.org/3/u5700T07.htm>.
21. Benavides-Benavides B, Cedeño-Quevedo DA, Serrano-de La Cruz MF. Epidemiological study of bovine leukemia virus in dairy cows in six herds in the municipality of Pasto, Nariño. *Rev Lasallista Investig* 2013;10(1):18–26.
22. Bautista RNA, Nova RYA, Pulido-Medellín MO, Andrade-Becerra RJ. Determinación serológica de leucosis bovina enzoótica en novillas de levante y vacas adultas de la vereda Morichal, Yopal, Casanare. *Cienc Agric* 2013;10(1):31–37.
23. Alvira HC, Velasco JA. Prevalencia del virus de la leucosis bovina (VLB) en los municipios de Patía y Mercaderes [tesis licenciatura]. Popayán, Cauca, Colombia, Universidad del Cauca; 2019.
24. Corredor-Figueroa AP, Salas S, Olaya-Galán NN, Quintero JS, Fajardo Á, Soñora M, *et al.* Prevalence and molecular epidemiology of bovine leukemia virus in Colombian cattle. *Infect Genet Evol* 2020;80:104171.
25. Grau MA, Monti G. Prevalencia serológica predial e intrapredial para el virus de la leucosis bovina (VLB) en lecherías de las regiones de Los Ríos y de Los Lagos de Chile. *Arch Med Vet* 2010;42(2):87–91.
26. Orellana MA. Determinación del status sanitario de Leucosis Bovina mediante la seroprevalencia a través de ELISA competitivo en un hato lechero en la provincia de Carchi [tesis licenciatura]. Florencia, Caquetá, Colombia: Universidad de la Amazonía; 2019.
27. Bonifas N, Ulcuango F. Prevalencia de Leucosis Bovina en la Comunidad Santo Domingo No1, Cayambe-Ecuador 2012. *Rev Ciencias la Vida* 2015;22(2):33–39.
28. Lee E, Kim E, Ratthanophart J, Vitoonpong R, Kim B, Cho I, Song J, Lee K, Shin Y. Infection, genetics and evolution molecular epidemiological and serological studies of bovine leukemia virus (BLV) infection in Thailand cattle. *Infect Genet Evol* 2016;41:245–254.
29. Romero JJ, Dávila G, Beita G, Dolz G. Relación entre el estado serológico a leucosis bovina enzoótica y parámetros reproductivos en hatos lecheros especializados de Costa Rica. *Agron Costarric* 2015;39(2).
30. Hernandez D, Muñoz J, Álvarez L. Dinámica de la leucosis bovina en el ganado criollo Hartón del Valle en infección natural. *Arch Zootec* 2016;65(251):365–373.
31. Betancur HC, Rodas GJ. Seroprevalencia del virus de la Leucosis Viral Bovina en animales con trastornos reproductivos de Montería. *Rev MVZ Córdoba* 2008;13(1):1197–1204.

32. Andreolla AP, Scheer Erpen LM, Frandoloso R, Kreutz LC. Development of an indirect ELISA based on recombinant capsid protein to detect antibodies to bovine leukemia virus. *Brazilian J Microbiol* 2018;49:68–75.
33. Carrero-Rojas JL, Arévalo-Martínez F, Tarazona-Suárez A, Cepeda BM. 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. *Spei Domus*. 2009;5(11):6–11.
34. Gutiérrez G, Alvarez I, Politzki R, Lomónaco M, Dus Santos MJ, Rondelli F, Fondevila N, Trono K. Natural progression of Bovine Leukemia Virus infection in Argentinean dairy cattle. *Vet Microbiol* 2011;151(3–4):255–263.
35. Monti GE, Frankena K, De Jong MCM. Transmission of bovine leukaemia virus within dairy herds by simulation modelling. *Epidemiol Infect* 2007;135(5):722–732.
36. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. New York: Elsevier Saunders; 2006.
37. Úsuga-Monroy C, Echeverri J, López-Herrera H. Diagnóstico molecular del virus de leucosis bovina en una población de vacas Holstein, Colombia. *Arch Zootec* 2015;64(248):383–388
38. Chamizo PEG. Leucosis Bovina Enzoótica: Revisión. *Rev Electron Vet* 2005;6(7):1–25.
39. Hernández-Herrera DY, Posso-Terranova AM, Benavides JA, Muñoz-Flórez JE, Giovambattista G, Álvarez-Franco LA. Bovine leukosis virus detection in Creole Colombian breeds using nested-PCR. *Acta Agronómica* 2011;60(4):311–317.