

Archivos de Zootecnia

Journal website: https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/

El virus de la leucosis bovina disminuye la producción y calidad de leche en ganado Holstein

Úsuga-Monroy, C.®; Zuluaga, J.J. y López-Herrera, A.

Laboratorio de Biotecnología Animal. Departamento de producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Medellín. Colombia.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Proteína. Grasa. Infección.

Parámetros productivos.

Additional keywords

Protein. Fat. Infection. Productive parameters.

INFORMATION

Cronología del artículo. Recibido/Received: 26.04.2017 Aceptado/Accepted: 22.02.2018 On-line: 15.04.2018 Correspondencia a los autores/Contact e-mail:

cusugam@unal.edu.co

RESUMEN

El virus de la leucosis bovina (BLV) pertenece a la familia de los retrovirus y se caracteriza por ser inmunosupresor. Su infección es sistémica y se presenta con mayor frecuencia en ganado lechero. Se obtuvo información productiva a partir de 1021 registros que corresponde a 500 vacas de raza Holstein. Los animales se encontraban distribuidos en 7 municipios del departamento de Antioquia dedicados a la producción de leche. Se analizaron cuatro características productivas: producción de leche (PDN), kilogramos de proteína por lactancia (KGPRO), kilogramos de grasa por lactancia (KGGRA) y puntaje de células somáticas (SCS); estas características fueron asociadas con la infección por el BLV a través de un modelo lineal generalizado. Los resultados indican que, la relación entre la presencia o ausencia del BLV fue significativa (P<0.05) para PDN y KGGRA, pero no para KGPRO (P=0.1644) y SCS (P=0.0546). Las vacas infectadas presentaron una menor producción de leche por lactancia (7.67%), menor cantidad de proteína (15.37 Kg/lactancia) y mayor cantidad de grasa (23.67 Kg/lactancia). No se encontró diferencia entre el SCS entre las vacas infectadas y no infectadas. El efecto negativo del BLV sobre los bovinos infectados afecta los parámetros productivos y la rentabilidad de los hatos lecheros.

Bovine leukemia virus decreases milk production and quality in Holstein cattle

SUMMARY

Bovine leukemia virus (BLV) belongs to the retrovirus family, the virus is characterized by being immunosuppressive. Its infection is systemic and occurs more frequently in dairy cattle. Productive information was obtained from 1021 records of 500 Holstein cows. The animals were distributed in 7 municipalities of the department of Antioquia dedicated to the production of milk. Four productive characteristics were analyzed: milk production (PDN), kilograms of protein per lactation (KGPRO), kilograms of fat per lactation (KGGRA) and somatic cell score (SCS); these characteristics were associated with BLV infection through a generalized linear model. The results indicate that the relationship between the presence or absence of BLV was significant (P <0.05) for milk and fat production, but not for protein production (P=0.1644) and SCS (P=0.0546). The infected cows had a lower milk production per lactation (7.67%), less protein (15.37 kg/lactation) and more fat (23.67 kg/lactation). No difference was found between SCS between infected and uninfected cows. The negative effect of BLV on infected cattle affects the productive parameters and profitability of dairy farms.

INTRODUCCIÓN

La producción y el consumo de leche de bovinos ha experimentado un crecimiento, especialmente en los países en desarrollo, las grandes empresas y los pequeños productores son los encargados de los altos volúmenes de producción; sin embargo, la eficiencia de los sistemas de producción se puede ver afectada por la presencia de agentes infecciosos que reducen los parámetros productivos de los bovinos afectados.

La leucosis bovina enzoótica (LBE) es una enfermedad de origen viral producida por la infección con el virus de leucosis bovina (BLV), se caracteriza por afectar el sistema inmune de los bovinos específicamente los linfocitos B. El BLV es un virus envuelto y por tanto tiene poca resistencia al medio ambiente y es fácil de eliminar a través de los rayos ultravioleta, jabones, pasteurización, congelación o descongelación repetida (Baruta et al. 2011). El BLV ingresa al organismo hospedero a través de células infectadas por contacto directo

entre fluidos corporales como: sangre, saliva, semen (Dus Santos et al. 2007), por leche o calostro (Nagy, Tyler & Kleiboeker 2007), lo que facilita la diseminación de partículas virales entre los bovinos infectados y los no infectados. Por otro lado, los procedimientos iatrogénicos con bajos parámetros de sanidad como el descorne y los tatuajes, o las prácticas como la reutilización de agujas infectadas o de guantes de palpación infectados, también contribuyen a la diseminación del BLV entre los animales (Gillet et al. 2007; Ortega et al. 2016). Generalmente los bovinos permanecen asintomáticos y entre el 30% al 70% de los animales infectados desarrolla linfocitosis persistente (LP). La LP es el aumento de células blancas por encima de los valores de referencia; esto se debe a la baja tasa de recambio celular, ya que el virus inhibe la apoptosis (Baruta et al. 2011). Entre el 0.1 y 10% de los bovinos con más de 3 años de infección pueden presentar la forma tumoral de la enfermedad o linfosarcomas (Dees et al. 1996; Organización Mundial de Salud Animal 2012). Se ha demostrado que los hatos infectados con BLV presentan una menor producción de leche entre el 2.5 a 5% respecto a la producción promedio del hato (Emanuelsson, Scherling & Pettersson 1992; Ott, Johnson & Wells 2003; Cadavid 2012), y un aumento en la tasa de pérdidas selectivas, costos por tratamientos secundarios, y repetición de dosis vacunales contra otras enfermedades de etiología infecciosa (Chi et al, 2002), así como mayor susceptibilidad a otras enfermedades de etiología infecciosa como mastitis (Kakinuma et al. 2014), diarrea y neumonía (Emanuelsson, Scherling & Pettersson 1992). El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la infección por el BLV sobre los parámetros productivos: producción de leche, kilogramos de proteína, kilogramos de grasa y puntaje de células somáticas en una población de vacas Holstein del departamento de Antioquia, Colombia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Este estudio utilizó la información productiva de una población de 500 vacas de raza Holstein, entre primer y quinto parto con edades entre 3 a 7 años. La información productiva se recolectó a partir de 1021 lactancias. Se utilizaron 20 hatos de lechería especializada ubicados en siete municipios del departamento de Antioquia (Bello, Medellín, Belmira, Entrerríos, San Pedro de los Milagros, La Unión y Rionegro). Las muestras fueron recolectadas durante los meses de febrero a junio de 2013. Para la toma de muestras se obtuvo la aprobación por parte del comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia (CEMED-007, 14 de mayo de 2012).

MUESTRAS Y PRUEBA MOLECULAR

Se utilizaron tubos BD Vacutainer® con EDTA K2 como anticoagulante para recolectar la sangre. A partir de 5 ml de sangre se obtuvo el DNA de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Se utilizó el método de extracción *salting out* (Miller, Dykes & Polesky 1988). El DNA obtenido se resuspendió en 1000 µl de buffer TE 1X pH 8.0 (Tris HCl 1 M y EDTA 0.5 M) y se almacenó a 4°C hasta el momento del análisis. La

calidad y cantidad del DNA se evaluó en NanoDrop® y en gel de agarosa al 1%.

Se realizó una PCR-anidada para amplificar una región de 444 pb del gen env viral. Se usaron los siguientes cebadores env 5023 (5'-TCTGTGCCAAGTCTCC-CAGATA-3') y env 5608 (5'-AACAACAACCTCTGGG-GAGGGT-3') (Beier et al. 2001) y las siguientes condiciones de reacción: la primera reacción se realizó en un volumen final de 25 µl con 100-150 ng de DNA, 3.0 µl de 10 mM de cada cebador, 0.4 mM de dNTPs, 1X de tampón PCR (ThermoScientific®), 3 mM MgCl₂ y 1U de Taq DNA Polimerasa. Se utilizaron 5µl del producto de PCR de la primera amplificación como molde para la segunda reacción con las mismas concentraciones de los otros reactivos y los primers env 5099 (5'-CCCA-CAAGGGCGCCGGTTT-3') y env 5521 (5'-GCGA-GGCCGGGTCCAGAGCTGG-3') (Beier et al. 2001), en un volumen final de 30 µl. Las reacciones se hicieron en un termociclador T3 (Biometra®); la desnaturalización inicial se hizo a 94°C/5 minutos, seguido de 40 ciclos de 94°C/30 segundos, 60°C/30 segundos y 72°C/1 minuto y una extensión final a 72°C/5 minutos. Como control negativo se hicieron reacciones en ausencia de DNA y como control positivo se usó el DNA de una vaca positiva al BLV cuya secuencia presentó el 99% de identidad cuando fue comparada con otras secuencias del BLV reportadas en la base de datos del GenBank®. El producto de la segunda reacción se verificó en un gel de agarosa al 2% en un documentador de geles (Biorad®).

PARÁMETROS PRODUCTIVOS EVALUADOS

Las características productivas evaluadas fueron: producción de leche (PDN) en kilogramos, proteína en kilogramos por lactancia (KGPRO), grasa en kilogramos por lactancia (KGGRA) y puntaje de células somáticas (SCS). La producción de leche se ajustó a 305 días. Los datos de producción de leche incluyeron los datos entre 1500 Kg y 12000 Kg de leche por lactancia. Se usaron los datos de aquellos animales con duración de lactancia mayor a 200 días y los datos que presentaron porcentaje de grasa menor a 6.5%. Se realizó una trasformación logarítmica de la característica conteo de células somáticas (RCS) (Log₂ (RCS/100000)+3) (Dabdoub & Shook 1984) para obtener el puntaje de células somáticas (SCS).

Análisis de asociación

Se determinó el promedio para cada característica en la población, usando los datos durante la lactancia completa y se establecieron las medias de cada característica para los animales positivos y negativos a BLV. Para el análisis de asociación se utilizó un modelo lineal generalizado con un nivel de significancia del 0.05%. Para determinar las diferencias entre medias se utilizó un análisis de medias de Duncan. El análisis estadístico se realizó en el programa SAS® versión 9.2 para Windows (SAS Institute Inc, Cary NC, USA).

Para determinar la relación entre la producción de leche y la infección por el BLV se utilizó el siguiente modelo lineal generalizado:

 PDN_{ijklmn} : $\mu + NP_i + AP_j + BLV_k + SIRE_l + DAM_m + HATO(SIRE)_n + e_{ijklmn}$

Donde PDN_{ijklmn} es producción de leche, μ es la media general, NP_i es el efecto del i-ésimo número de parto (i=1, 2, 3, 4, 5), AP_j es el efecto del j-ésimo año de parto (j=2002, 2003, 2006, ..., 2010), BLV_k es el efecto fijo de ausencia o presencia de la enfermedad (Si=1) (No=0), SIRE₁ es el efecto del k-ésimo padre (1, 2, ..., 91), DAM_m es el efecto del l-ésimo madre (1, 2, ..., 111), HATO (SIRE)_n es el efecto del padre anidado hato y e_{ijklmn} es el error experimental.

Para determinar la relación entre los kilogramos de proteína (KGPRO) y de grasa (KGGRA) producidos por lactancia y la infección por el BLV se utilizó el siguiente modelo lineal generalizado:

 Y_{ijklm} : $\mu + PDN_i + BLV_j + HATO(SIRE)_k + HATO(DAM)_l + DL_m + e_{ijklm}$

Donde: Y_{ijklmn} son kilogramos de proteína o kilogramos de leche, μ es la media general, PDN_i es el efecto dela covariable producción de leche, BLV_j es el efecto fijo de ausencia o presencia de la enfermedad (Si=1) (No=0), HATO (SIRE)_k es el efecto del padre anidado hato, HATO (DAM)_l es el efecto de la madre anidado hato, DL_m es el efecto de la covariable duración de la lactancia y e_{ijklm} es el error experimental.

Para determinar la relación entre el puntaje de células somáticas (SCS) y la infección por el BLV se utilizó el siguiente modelo lineal generalizado:

$$SCS_{ijklmn}$$
: $\mu + PDN_i + NP_j + AP_j + BLV_k + HATO (SIRE)_l + HATO (DAM)_{ml} + NP * AP * HATO_n + e_{ijklmn}$

Donde SCS_{ijklmn} es puntaje de células somáticas, μ es la media general, PDN_i es el efecto de la covariable producción de leche, NP_i es el efecto del i-ésimo número de parto (i=1, 2, 3, 4, 5), AP_j es el efecto del j-ésimo año de parto (j=2002, 2003, 2006, ..., 2010), BLV_k es el efecto fijo de ausencia o presencia de la enfermedad (Si=1) (No=0), HATO (SIRE)₁ es el efecto del padre anidado hato, HATO (DAM)_m es el efecto de la madre anidado hato, NP*AP*HATO_n es el efecto de la interacción número de parto*año de parto*hato y e_{ijklmn} es el error experimental.

RESULTADOS

Las 500 vacas Holstein evaluadas se encontraban distribuidas en 7 municipios del departamento de Antioquia (Tabla I). La prevalencia molecular fue del 44% de infección para el BLV en la población evaluada. Se utilizaron 1021 lactancias de 500 vacas Holstein para

Tabla I. Número de animales y lactancias por municipio (Number of animals and lactations per municipality).

- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
Municipio	Animales	Lactancias
Bello	98	189
Medellín	56	194
Belmira	41	90
Entrerríos	123	223
San Pedro de los Milagros	118	202
La Unión	32	60
Rionegro	32	63
Total	500	1021

realizar la asociación de características productivas con la infección por BLV.

La media general para la producción de leche fue de 5298.40 kg por lactancia, la duración de la lactancia media fue del 356.89 días, la producción media de proteína fue de 160.95 Kg y de grasa fue de 202.88 Kg. El puntaje de células somáticas promedio fue de 4.50 (**Tabla II**).

La relación entre la presencia o ausencia del BLV fue significativa (P<0.05) para producción de leche y grasa, pero no para producción de proteína (P=0.1644) y puntaje de células somáticas (P=0.0546). El promedio de producción de leche para las vacas positivas al BLV fue de 5111.89 Kg, su producción media de proteína fue de 154.19 Kg y su producción media de grasa fue de 214.46 Kg (Tabla III).

DISCUSIÓN

Durante el 2016 Ortega et al. (2016, p. 37) realizaron un estudio epidemiológico del BLV en Colombia utilizando muestras de sangre de 8150 bovinos que pertenecían a 7 departamentos del país; este estudio epidemiológico determinó una prevalencia serológica del 42.7% para el país. La prevalencia molecular encontrada en este estudio para el departamento de Antioquia fue del 44% de infección, este resultado es menor a la prevalencia serológica (53.9%) reportada por Ortega et al. (2016, p. 38) para el departamento de Antioquia. Nuestro resultado también es inferior al obtenido en el 2016 en el cual se estableció una prevalencia molecular del 50.7% para bovinos dedicados a la producción de leche (Meza-Barreto, Sanjuanelo-Corredor & Gallego-

Tabla II. Análisis descriptivo de las características productivas en vacas positivas y negativas a BLV (Descriptive analysis of the productive characteristics in cows positive and negative to BLV).

Característica	Media general	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Coeficiente de variación
PDN	5298.40	1991.4	1558.18	11904.44	34.41
DL	356.89	91.38	206.00	882.00	25.44
KGPRO	160.95	48.76	10.00	434.00	30.29
KGGRA	202.88	60.74	16.64	605.75	32.89
SCS	4.50	1.37	1.00	9.21	30.36

PDN: producción de leche (Kg), DL: duración de la lactancia (Días), KGPRO: proteína en kilogramos, KGGRA: grasa en kilogramos, SCS: puntaje de células somáticas.

Tabla III. Resultados de los análisis de asociación para la variable de interés (LEU) (Results of the analysis of association for the variable of interest (LEU)).

Característica	Modelo P value	R^2	CV	Fuente de variación (env+, env-)	F-Valor ¹	Pr>F ²	Promedio vacas env+	Promedio vacas env-
PDN	<0.0001	0.54	24.52	LEU	6.86	0.0091*	5111.89°	5536.58b
KGPRO	<0.0001	0.94	8.58	LEU	1.94	0.1644	154.19	169.56
KGGRA	<0.0001	0.89	12.55	LEU	8.44	0.0038*	214.46ª	190.79b
SCS	<0.0001	0.59	26.76	LEU	3.71	0.0546	4.48	4.47

¹Valor calculado de F.²Probabilidad de error. Diferencia estadísticamente significativa (P<0.005) para la variable de interés LEU. ^{a,b}Diferencia estadísticamente significativa (P<0.005) por prueba de medias de Duncan.

Marín 2016). Ambos trabajos utilizaron la misma técnica de detección molecular.

El promedio de producción de leche encontrado fue de 5298.40 Kg por lactancia y fue mayor (+158 litros) que el promedio de producción de leche obtenido en el 2011 para el departamento de Antioquia el cual fue de 5140 Kg de leche, este dato se obtuvo a partir de la evaluación de 3246 registros de vacas Holstein (Quijano, Echeverri & López 2011).

El análisis estadístico demuestra que la variable leucosis (LEU) tiene un efecto (P=0.0091) negativo sobre la característica de producción de leche. El nivel de producción de leche de las vacas infectadas fue de 5111.89 Kg mientras que el de las vacas sanas fue de 5536.58 Kg; es decir que las vacas infectadas producen 7.67% menos de leche que las vacas sanas. Este dato es mayor al reportado por Cadavid (2012, p. 69), el cual encontró que los animales infectados pueden reducir la producción de leche hasta en un 5% y además ocasionar pérdidas anuales hasta por 24.000.000 COP en un hato de 100 animales. Las pérdidas anuales reportadas por Cadavid (2012, p. 69), fueron calculadas teniendo en cuenta el valor comercial del litro de leche, el valor para los animales descartados y una tasa de descarte del 1.32% en los animales positivos. Las pérdidas económicas ocasionadas por el BLV ya han sido previamente demostradas; en Canadá las perdidas por el BLV son del orden de \$ 806 USD en un hato de 50 animales con una prevalencia serológica (ELISA) del 31% de acuerdo con el modelo propuesto por Chi et al. (2002, p. 151). En ese modelo también se incluyeron variables como mortalidad con un costo de \$ 775 USD/año representando el total de los costos directos, mientras que el costo por tratamientos es de \$31.9 USD/año. En otro caso durante el 2003 se realizó un estudio en el Atlántico medio de Estados Unidos, en el cual se encontró una seroprevalencia del 50% en 100 hatos de lechería Holstein comercial. Los costos por tratamientos secundarios de infecciones subclínicas con fueron de \$ 6406 USD y los costos anuales por control y manejo de la leucosis bovina fueron de \$ 1765 USD (Rhodes, Pelzer & Johnson 2003).

Diferentes estudios han registrado la reducción en el nivel de producción de leche asociada a la infección por el BLV. El nivel de producción de leche en vacas Holstein-Polacas seropositivas fue de 4.3 % (P≤0.01) menor que en las vacas sanas (Szewczuk, Zych & Katafiasz 2012). Otro estudio en vacas Holstein pertenecientes al estado de Michigan (Estados Unidos) presentaron una reducción del 1.1% (P=0.052) en su nivel de producción

de leche cuando estaban infectadas con el BLV (Norby et al. 2016). La presente investigación registró una reducción en la media de producción de 424.69 Kg de leche por lactancia, en las vacas infectadas, equivalente al 7.67%; sin embargo, este resultado es inferior al encontrado en una población de vacas Holstein en Costa Rica en la cual el nivel de producción de leche se redujo en un 10.41% en vacas seropositivas al BLV (Romero et al. 2012). Por otro lado en Canadá se evaluó una población de 10.670 vacas en ubicadas en 8 provincias del país, las vacas seropositivas presentaron una producción de 31869.91 Kg leche por lactancia y las seronegativas tuvieron una producción de 44353.40 Kg de leche por lactancia (Nekouei et al. 2016), lo que equivale a una reducción del 28.14% en el nivel de producción de leche. El porcentaje de reducción en la media de producción de leche en los diferentes trabajos de investigación están determinados por múltiples factores como: la raza, la edad, el tercio de lactancia en que se encuentre la vaca, los factores inmunológico propios de cada animal, los factores ambientales, el tipo de alimentación y en especial las prácticas iatrogénicas que contribuyen a la diseminación de partículas virales y a mayores porcentajes de infección en los hatos.

La calidad de la leche en la vacas infectadas por el BLV también se ve afectada, ya que las vacas infectadas producen menor cantidad de proteína que las vacas no infectadas con este virus. La variable LEU no se asoció de forma significativa (P=0.1644) con los kilogramos de proteína por lactancia; sin embargo, la cantidad de proteína producida fue menor en 9.06% (15.37 Kg de proteína menos). Este dato es similar al encontrado por Szewczuk et al. (2012, p. 356), los cuales encontraron que las vacas libres de leucosis presentan un mayor contenido de proteína (+5.2 kg) por lactancia respecto a las seropositivas, siendo el promedio para las vacas positivas de 242.2 Kg y para las negativas de 247.4 Kg. En ese estudio la variable leucosis sí fue significativa para los kilogramos de proteína producidos (P≤0.05).

El BLV ha mostrado tropismo hacia las células de la glándula mamaria; y cuando las células epiteliales de glándula mamaria son infectadas por BLV expresan antígenos en el epitelio glandular (Buehring, Kramme & Schultz 1994) y el nivel de producción de leche se puede ver afectado. Este hecho fue comprobado *in vitro* cuando se evaluaron células epiteliales mamarias (MEC) productoras de caseína de ratón y MEC bovinas transformadas y no transformadas con BLV. Se estableció que el nivel de mRNA para caseína era menor en las líneas

trasformadas que en las células no infectadas tanto para las MEC bovinas como para las de ratón. El BLV afecta la producción de leche desde el nivel celular ya que la caseína es la principal proteína de la leche, posee aminoácidos esenciales y es muy importante en la industria quesera (Motton & Buehring 2003).

La variable LEU se asoció de forma significativa (P=0.0038) con los kilogramos de grasa producidos por lactancia y la cantidad de grasa fue mayor en 12.96% (23.67 kg/lactancia) en las vacas positivas al BLV (214.46 Kg) que las vacas negativas al virus (190.79 Kg). Este dato es similar al encontrado por Szewczuk et al. (2012, p. 356), los cuales determinaron que las vacas positivas presentan mayor contenido de grasa por lactancia (304.1 Kg) que las negativas (302.6 Kg).

La calidad de la leche no solo se mide por su contenido de proteína o grasa, la calidad higiénica también es muy importante para el sistema de pago como para la comercialización. Una medida de la calidad es el puntaje de células somáticas (SCS), este indicador sirve como medida de la salud de la glándula mamaria. En el presente estudio la variable LEU no fue significativa (P=0.0443) para el modelo de SCS y no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las vacas infectadas (4.48) y las no infectadas (4.47); sin embargo, Bojaroj´c-Nosowicz et al. (2006, p. 21) encontraron que el SCS de las vacas seropositivas al BLV fue de 2.51 en contraste con el de las seronegativas que fue de 1.98 (P≤0.05); de igual manera encontró que el nivel de lactosa era mayor en los animales libres de infección (4.62%) respecto a los animales seropositivos (4.33%); y según Yang, et al., (2016, p. 3692) la infección con el BLV reduce significativamente la producción de leche (22.2 Kg de leche/día respecto a 26.1 Kg de leche/día) y aumenta el SCS (4.8 respecto a 3.9) especialmente en vacas que se encuentran en la mitad de la lactancia y con 4 o más partos.

El nivel de producción de leche está relacionado con un conjunto de variables entre las cuales se encuentra el nivel de nutrición, la sanidad y el manejo reproductivo entre otros. El BLV es un virus inmunosupresor que afecta principalmente al ganado de leche y este virus se ha relacionado de manera significativa con características productivas de importancia económica. De este estudio podemos concluir que la infección por BLV tiene un efecto negativo sobre la producción de leche, ya que los animales infectados producen 7.67% menos de leche que los no infectados, por otra parte, el porcentaje de proteína también se ve afectado de forma negativa. Todo lo anterior repercute no sólo en el nivel productivo de los animales sino en el sostenimiento de las empresas lecheras.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín por su financiación para el desarrollo de esta investigación, proyecto código Quipu 201010012967.

BIBLIOGRAFÍA

Baruta, D, Ardoino, S, Brandan, J, & Sosa, R 2011, 'Leucosis Bovina Enzoótica', Ciencia Veterinaria, vol. 13, no. 1, pp. 9-14.

- Beier, D, Blankenstain, P, Marquard, O & Kuzmak, J 2001, 'Identification of different BLV provirus isolates by PCR RFLPA and DNA sequencing', Berl Munch Tierarztl Wochenschr, vol. 114, no. 7-8, pp. 252–256.
- Bojarojć-Nosowicz, B & Kaczmarczyk, E 2006, 'Somatic cell count and chemical composition of milk in naturally BLV-infected cows with different phenotypes of blood leukocyte acid phosphatase', *Archiv fur Tierzucht*, vol. 49, no. 1, pp. 17-28.
- Buehring, G, Kramme, P & Schultz, R 1994, 'Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows', *Laboratory Investigation*, vol. 71, no. 3, pp. 359-365.
- Cadavid, L 2012, 'Impacto del virus de la leucosis bovina en la producción de leche', Tesis Maestría en Ciencias Agrarias, Valle del Cauca, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia, pp. 67.
- Chi, J, VanLeeuwen, J, Weersink, A & Keefe, G 2002, 'Direct production losses and treatment cost from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, Mycobacterium avium subespecies, Paratuberculosis, and Neospora caninum', *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 55, no. 2, pp. 137-153.
- Dabdoub, S & Shook, G 1984, 'Phenotypic relations among milk yield, somatic cell count and clinical mastitis', Journal of Dairy Science, vol. 67, pp. 163-164.
- Dees, C, Godfrey, V, Schultz, R & Travis, C 1996, 'Wild type p53 reduces the size of tumors caused by bovine leukemia virus infected cells', Cancer Letters, vol. 101, no. 1, pp. 115-122.
- Dus Santos, M, Trono, K, Lager, I & Wigdorovitz, A 2007, 'Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples', Veterinary Microbiology, vol. 119, no. 1, pp. 10-18.
- Emanuelsson, U, Scherling, K & Pettersson, H 1992, 'Relationships between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in Swedish dairy herds', Preventive Veterinary Medicine, vol. 12, pp. 121-131.
- Gillet, N, Florins, A, Boxus, M, & Burteau, C 2007, 'Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human', Retrovirology, vol. 4, no. 18, pp. 1-32.
- Kakinuma, S, Maeda, Y, Ohtsuka, H, & Konnai, S 2014, 'Bovine Leukemia virus titer and leukocyte population associated with mastitis in periparturient dairy cows', *International Journal of Applied Research* in Veterinary Medicine, vol. 12, no. 3, pp. 239-244.
- Meza-Barreto, G, Sanjuanelo-Corredor, D & Gallego-Marín, M 2016, 'Detección molecular del virus de la leucosis bovina: un estudio por conglomerados en Colombia', *Revista de Ciencias Agrícolas*, vol. 13, no. 2, pp. 47-55
- Miller, S, Dykes, D & Polesky, H 1988, 'A simple salting out procedure for extracting ADN from human nucleated cells', *Nucleic Acids Research*, vol. 16, pp. 1215.
- Motton, D & Buehring, G 2003, 'Bovine leukemia virus alters growth properties and casein synthesis in mammary epithelial cells', *Journal of Dairy Science*, vol. 86, no. 9, pp. 2826-2838.
- Nagy, D, Tyler, J & Kleiboeker, S 2007, 'Decreased periparturient trasnmission of bovine leukemia virus in calostrum-fed calves', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 21, no. 5, pp. 1104-1107.
- Nekouei, O, VanLeeuwen, J, k Stryhn, H, & Kelton, D 2016, 'Lifetime effects of infection with bovine leukemia virus on longevity and milk production of dairy cows', Preventive Veterinary Medicine, vol. 133, pp. 1-9.
- 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, vol. 99, no. 3, pp. 2043–2052.
- Organización Mundial de Sanidad Animal 2012, 'Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres', http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.10_Leucosis_bovina_enzo%C3%B3tica.pdf visto el 12 de Abril 2017.
- 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, vol. 8, no. 5, pp. 35-43.

- Ott, S, Johnson, R & Wells, S 2003, 'Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd level productivity on US dairy farms', *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 61, pp. 249-262.
- Quijano, J, Echeverri, J & López, A 2011, 'Evaluación genética de toros Holstein y Jersey en condiciones tropicales', Centro de publicaciones Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Medellín, Colombia, pp. 20.
- 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*, vol. 223, no. 3, pp. 346-352.
- Romero, J, Dávila, G, Beita, G & Dolz, G 2012, 'Effect of serological status of the Bovine Leucosis Virus (BLV) on milk production of dairy herds in Costa Rica', *Revista de Ciencias Veterinarias*, vol. 30, no. 2, pp. 43-55.
- 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*, vol. 81, pp. 353-358.
- Yang, Y, Fan, W, Mao, Y, & Yang, Z 2016, 'Bovine leukemia virus infection in cattle of China: Association with reduced milk production and increased somatic cell score', *Journal of Dairy Science*, vol. 99, no. 5, pp. 3688–3697.