UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INVESTIGACION EN CIENCIAS VETERINARIAS

ESTIMACIÓN PARCIAL DE PÉRDIDAS ECONÓMICAS ASOCIADAS A LA PRESENCIA DE LEUCOSIS VIRAL BOVINA EN UN HATO LECHERO DEL VALLE DE MEXICALI

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

PRESENTA

LUIS RAMON GODOY FONSECA

DIRECTOR DE TESIS

DR. MARTÍN FRANCISCO MONTAÑO GÓMEZ

Mexicali, Baja California **Septiembre de 2017**

Estimación parcial de pérdidas económicas asociadas a la presencia de Leucosis Viral Bovina en un hato lechero del valle de Mexicali. Tesis presentada por Luis Ramón Godoy Fonseca como requisito parcial para obtener el Grado de Maestro en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobada por el siguiente comité:

Dr. Martin Francisco Montaño Gómez

Director

Dr. Tomás Benjamín Rentería Evangelista

Secretario

MC. Ramón Manuel Valenzuela Padilla

Asesor

MC. Luis Mario Muñoz del Real

Asesor

M.C. Martín Luis Arango Pérez

Asesor

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA SEPTIEMBRE 2017.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por darme la fortaleza y convicción de hacer las cosas mejor cada día y desarrollar este trabajo de la mejor manera.

Expreso mi más sincero agradecimiento al pueblo mexicano, y en especial la Universidad Autónoma de Baja California y al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias por el crecimiento intelectual y el fortalecimiento en la actividad critica, ética y moral que nos formo.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme permitido realizar la Maestría en Ciencias Veterinarias a través del apoyo económico brindado durante la realización de este proyecto y gracias a ello fue posible mi preparación profesional.

Agradezco profundamente a mi tutor de tesis Dr. Martín Francisco Montaño Gómez, haberme brindado esta gran oportunidad de trabajar con él, por haberme transmitido sus conocimientos invaluables, tenerme la paciencia necesaria, y apoyarme en todo momento.

Agradezco al Dr. Tomás Benjamín Rentería Evangelista, por su grata colaboración, por sus valiosos consejos, y sus enseñanzas.

Agradezco a los sinodales encargados de revisar y corregir este trabajo, al M.C. Martín Luis Arango Pérez, MC. Mario Muñoz del Real, MC. Ramón Manuel Valenzuela Padilla.

Agradezco a la Dra. Maritza Manríquez Núñez por su apoyo incondicional en todo momento.

DEDICATORIA

Con mucho cariño, respeto y agradecimiento por su apoyo incondicional en todo momento a mis padres Luis Alonso Godoy Coello y Mirian Janeth Fonseca Montoya quienes pusieron en mi toda su confianza para culminar mis metas, con cariño a mi hermano Carlos Armando Godoy Fonseca y mis abuelos, a mis amigos, compañeros, y todas aquellas personas que contribuyeron en mi desarrollo tanto personal como profesional, haciendo que la culminación de mis estudios fuera posible.

RESUMEN

La Leucosis Viral Bovina (LVB) o Leucosis Enzotica Bovina (LEB) es una de las enfermedades neoplásicas más importantes de esta especie animal. Afecta al tejido linfoide, y aunque todas las razas son susceptibles, su frecuencia es predominante en el ganado lechero adulto. El presente trabajo tiene como objetivo estimar las pérdidas económicas parciales asociadas a la presencia de Leucosis Viral Bovina en un hato lechero del valle de Mexicali. La economía aplicada a la salud animal es una disciplina que desarrolló una serie de conceptos y datos para apoyar al proceso en la toma de decisiones para optimizar la producción animal, El estudio se llevó a cabo en una población de 85 animales de la raza Holstein. La confirmación de la enfermedad se realizó mediante Detección de provirus LVB por PCR anidada. En la estimación del impacto económico se identificaron gastos y pérdidas. Se consideraron las pérdidas por efectos de la enfermedad así como los costos implicados por el diagnostico de la enfermedad. El 100% de los animales resultaron positivos al virus, implicando perdidas economicas estimadas en la merma de la produccion de leche de 134,850.00 pesos, abortos causados por leucosis 48,000.00 pesos, dias abiertos 861,000.000 pesos y costo por diagnostico de la enfermedad de 25,500.00 pesos, representado perdidas económicas de 1´069,350.00 pesos mexicanos. Para este tipo de enfermedad es apropiado establecer un programa eficiente de control para animales infectados en el hato, el cual considera adecuado la segregación de animales positivos y su eliminación gradual. Este programa permite desechar vacas que no sean rentables para el establo de manera gradual, debido a la alta prevalencia de la enfermedad, pérdida de ingresos, y los altos costo de remplazos.

ABSTRACT

Bovine Viral Leucosis (BVL) or Bovine Enzootic Leukosis (BEL) is one of the most important neoplastic diseases of this animal species. It affects lymphoid tissue, and although all breeds are susceptible, their frequency is predominant in adult dairy cattle. The present work aims to estimate the partial economic losses associated with the presence of Bovine Viral Leucosis in a dairy herd in the Mexicali Valley. The economics applied to animal health is a discipline that developed a series of concepts and data to support the decision-making process to optimize animal production. The study was carried out on a population of 85 animals of the Holstein breed. Confirmation of the disease was performed by detection of BLV virus by nested PCR. In the estimation of the economic impact, expenses and losses were identified. Losses were considered for the effects of the disease as well as the costs involved in the diagnosis of the disease. 100% of the animals were positive to the virus, implying estimated economic losses in the reduction of milk production of 134,850.00 pesos, abortions caused by leucosis 48,000.00 pesos, open days 861,000,000 and cost for diagnosis of the disease of 25,500.00, represented economic losses Of 1'069,350.00 Mexican pesos. For this type of disease is to establish an efficient program of control for infected animals in the herd, which considers the segregation of positive animals and their gradual elimination is appropriate. This program allows to dispose of cows that do not have stable rents on a gradual basis due to the high prevalence of the disease, loss of income, and high replacement costs.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS ..... **II**
DEDICATORIA ..... **III**
RESUMEN ..... **IV**
ABSTRACT ..... **V**
LISTA DE FIGURAS ..... **VII**
OBJETIVO GENERAL **1**
JUSTIFICACIÓN **2**
INTRODUCCIÓN **3**
REVISIÓN DE LITERATURA **4**
Transmisión 5
Epidemiología 6
Patogénesis 7
Diagnóstico 8
Impacto Económico 9
MATERIALES Y METODOS **10**
Lugar de estudio 10
Colección de muestras e información 10
Estudios serológicos 10
Extracción de ADN 11
Detección de provirus BLV por PCR anidada 12
Programa de control de Leucosis Viral Bovina 12
Estimación de costos y pérdidas 13
Pérdidas en producción de leche. 13
Pérdidas en becerros 14
Abortos 14
Días Abiertos 15
Costos por control de la enfermedad 15
Evaluación del Programa Control 15
RESULTADOS Y DISCUSION **17**
Pérdidas en producción de leche 17
Pérdidas en becerros 18
Costos por diagnóstico de la enfermedad. 18
Resultados de la evaluación económica del Programa de Control. 20
Costos por días abiertos 20
Costos para establecer el programa control 21
CONCLUSIONES **23**
LITERATURA CITADA **26**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Resultados de prevalencia de leucosis en los analisis moleculares de PCR anidada en el establo bajo estudio. 24

OBJETIVO GENERAL

Objetivo General.

Estimar las pérdidas económicas parciales asociadas a la presencia de Leucosis Viral Bovina en un hato lechero del valle de Mexicali.

Objetivo Específico.

Estimar las pérdidas económicas parciales asociadas a la presencia de Leucosis Viral Bovina en vacas en producción y vacas secas de un hato lechero del valle de Mexicali.

JUSTIFICACIÓN

El motivo principal que ha llevado a la realización de este trabajo es dar a conocer el impacto financiero parcial de la presencia Leucosis Viral Bovina (LVB) en un hato lechero. Este padecimiento se caracteriza entre otras cosas por trastornos en el sistema inmune, mismos que facilitan el desarrollo de tumores que pueden formarse dentro de diferentes órganos, disminución de la producción de leche, intervalos entre partos más largos y fallas en la reproducción. La sintomatología antes descrita puede ser tan grave que llegue a provocar la ineficiencia financiera del hato. Por lo anterior, es de vital importancia dirigir los esfuerzos hacia programas enfocados a la prevención, considerando un estricto monitoreo de la población de los animales en riesgo, poniendo especial énfasis en aquellos que se encuentren en la etapa de producción. Además, este tipo enfermedades enzooticas transmisibles pueden afectar adversamente tanto esquemas de comercio internacional como de salud animal en el país. Las pérdidas antes mencionadas pueden ser cuantificadas de manera matemática con el fin de obtener una aproximación de las pérdidas por prevalencia de LVB en un hato lechero. Esta estrategia puede ser utilizada como herramienta de vital importancia para que los productores puedan tomar decisiones cada vez más eficientes en cuanto a la respuesta a la presencia de este tipo de padecimientos.

INTRODUCCIÓN

La Leucosis viral bovina es una de las enfermedades neoplásicas más importantes de esta especie animal. Afecta al tejido linfoide, y aunque todas las razas son susceptibles, su frecuencia es predominante en el ganado lechero adulto. El rasgo patológico distintivo es la transformación neoplásica de linfocitos, los cuales proliferan anárquicamente infiltrando órganos diversos y generando tumores. El proceso neoplásico afecta con frecuencia a ganglios linfáticos, corazón, abomaso, útero, bazo, riñones y menos frecuentemente a médula ósea, canal espinal, hígado y vejiga (UNRC, 2005). Se a determinado que la prevalencia del virus de la leucosis bovina aumenta conforme se incrementa la edad presentando mayores índices de seropositivos en lo animales con edades de 2 a 3 años comparados con los animales de 1 a 2 años no obstante que después de 3 años la infección permanece relativamente estable según el manejo del ganado. La LVB es provocada por un retrovirus oncogénicos B-lymphocytotropic que infecta el ganado al inducir una infección persistente con diversos resultados. La gran mayoría de los animales infectados por el virus de la leucosis viral bovina alrededor del 70% son portadores asintomáticos del virus. En estos animales, ni los síntomas clínicos ni la alteración del recuento total de linfocitos se ponen de manifiesto. La economía aplicada a la salud animal es una disciplina que desarrolló una serie de conceptos y datos para apoyar al proceso en la toma de decisiones para optimizar la producción animal. Los estudios de análisis costo beneficio, generalmente estiman los costos totales de un programa de control siendo comparados con los beneficios esperados del programa implementado (McIerney et al., 1992;Bernués et al., 1997). El presente trabajo pretende determinar una estimación de pérdidas económicas asociadas a un brote de LVB en hatos lecheros.

REVISIÓN DE LITERATURA

La Leucosis viral bovina se observó en el siglo XIX con la aparición de los signos clínicos asociados a las observaciones iniciales de Leisering de nódulos amarillentos en el bazo agrandado de una vaca leucocitosis ha sido comunicado en la literatura alemana en 1871 (Leisering y Olson, 1987). Tres años más tarde, Bollinger (1874) describió la leucemia bovina como una entidad clínica bien definida, y en 1876 Siedamgrotzky y Hofmeister registraron los primeros casos de neoplasias linfocíticas bovina. La amplia difusión de la enfermedad se ha producido por la introducción de razas bovinas europeas en los países libres de la enfermedad. A pesar de todos estos elementos de prueba, la naturaleza infecciosa del agente etiológico de LVB fue descubierto muchas décadas más tarde, sobre la base de la evidencia epidemiológica (Johnson, 1992). Finalmente, el agente causante de esta enfermedad fue aislado mediante cultivo en 1969 (Miller, 1969).

En México se reportó la enfermedad en 1967. Previamente se determinó una seroprevalencia general de 3.19% (Ferrer, 1987) y una alta frecuencia serológica en hatos lecheros cercanos a zonas urbanas en el noroeste de México. Al igual que los anteriores estudios, se evidenció que de acuerdo al tipo de explotación los bovinos lecheros son los más afectados. Se ha determinado que la prevalencia del virus de la LVB aumenta conforme se incrementa la edad presentando mayores índices de seropositivos en lo animales con edades de 2 a 3 años comparados con los animales de 1 a 2 años no obstante que después de 3 años la infección permanece relativamente estable según el manejo del ganado. LVB es un retrovirus oncogénicos B-lymphocytotropic que infecta el ganado al inducir una infección persistente con diversos resultados. La gran mayoría de los animales infectados por el LVB (alrededor del 70%) son portadores asintomáticos del virus. En estos animales, ni los síntomas clínicos ni la alteración del recuento total de linfocitos se ponen de manifiesto. Por lo tanto, sólo pueden ser identificados por la presencia de anticuerpos anti-LVB y/o pruebas de tipo ADN. Aproximadamente, un tercio de bovinos infectados por LVB (Kettmann, 1994)

desarrolla una proliferación policlonal benigna de las células B llamados linfocitosis persistente (PL). Esta condición clínica se caracteriza por un aumento en el número absoluto de linfocitos de sangre periférica circulante B asociados a una inversión de la relación de linfocitos B / T (Burny, 1988). A pesar de esta alteración hematológica, los animales sólo desarrollan una linfocitosis persistente, sin manifestar algún otro signo clínico aparente. Es generalmente estable durante varios años, pero también puede progresar a la fase del tumor. Sin embargo, en 30% de los animales infectados puede manifestarse como linfocitosis persistente, y en alrededor de 1-5% de los casos puede manifestarse como el linfoma de células B después de una largo periodo de latencia (Burny, 1988).

La manifestación clínica más conspicuo de la infección por LVB es el desarrollo de tumores linfoides. Linfoma fatal o linfosarcoma (LS) se produce en menos de un 5-10% de los animales infectados. El desarrollo de los tumores no está necesariamente precedido por una fase de PL, pero este es el caso en dos tercios de los animales. A diferencia de linfocitosis persistente, la expansión de las células B es de origen mono u oligoclonal origen. La proliferación local de células B, llamado linfosarcoma, puede ocurrir dentro de diferentes órganos y tejidos que conducen a una serie de defectos que son finalmente incompatible con la supervivencia del animal. Además, las células B transformadas también pueden inducir la ampliación de los ganglios linfáticos y causando así el linfoma. Además de un impacto en la supervivencia, la infección por LVB también deteriora el sistema inmune que conduce a infecciones oportunistas (González et al., 2001).

Transmisión

LVB se transmite horizontalmente, fundamentalmente a través de la transferencia de las células infectadas. El virus libre es muy inestable, las células infectadas con LVB (B-linfocitos, monocitos / macrófagos, etc.) presentes en la sangre o leche parecen ser los mejores vehículos de transmisión natural (Olson, 1985). Debido al gran número de células infectadas que contienen, los animales con PL son particularmente eficientes en la transmisión del virus. En rebaños, la propagación de la infección es debida en gran parte a los procedimientos de manejo de ganado, los cuales implican la transferencia de sangre infectada tales

como es decir, el descorné, el tatuaje en la oreja, la palpación rectal, y, esencialmente, el uso de agujas infectadas.

Además, el contacto directo prolongado entre animales infectados y sanos también ha sido considerado como un factor de riesgo para la transmisión de LVB. Transferencia de sangre infectada también puede ocurrir en regiones con alta densidad de insectos hematófagos. La transmisión perinatal o postnatal de LVB sucede con frecuencia en condiciones de rebaño (Dusty, 2007). La tasa de transmisión en el útero varía entre 4 y 18% , con el riesgo más alto en los terneros nacidos de vacas con PL. Aunque la transmisión LVB se ha postulado que se produzca de la vaca a través de la leche a terneros, esta vía de infección solamente se demostró experimentalmente. A pesar de la presencia de ADN proviral LVB en el calostro y la leche de vacas infectadas, los terneros pueden permanecer sin infectarse durante períodos prolongados de tiempo probablemente debido a la función protectora de los anticuerpos maternos presentes en el calostro (Blood y Radostits, 1992).

Epidemiología

La infección por LVB se ha generalizado en todos los continentes excepto en Europa. Los esfuerzos en la implementación de medidas de control y campañas para erradicar la infección por LVB en Europa occidental han tenido éxito. Recientemente, la Comunidad Económica Europea (CEE) declaró la mayor parte de sus Estados miembros oficialmente indemnes de leucosis bovina enzoótica. Por el contrario, la situación es diferente en Europa del Este, donde la enfermedad todavía está presente en varios países (Bulgaria, Croacia, Estonia, Letonia, Polonia, Rumania, Ucrania). Intentos similares para erradicar la infección por BLV en Australia y Nueva Zelanda en rebaños lecheros comenzaron a mediados de la década de 1990. Más del 98% de los rebaños lecheros fueron negativos en 2005 (Hayes, 2007). Toda la información sobre la situación epidemiológica en los Estados Unidos de América se recogió a través de la Supervisión Nacional de Salud Animal (NAHMS). Estudios de encuesta en 2007 reveló que el 83.9% de los rebaños lecheros de Estados Unidos fueron positivos para LVB (NAHMS-USDA 2007).

Se cree que la prevalencia a la enfermedad, puede estar influenciada por tres factores; prevalencia dentro del grupo, incidencia de la infección (tasa de seroconversión) y tasa de segregación de los animales seropositivos en relación con los sero negativos (Pollari, 1993). Diferente factores favorecen la transmisión de LVB; la prevalencia de anticuerpos a Leucosis tiende a incrementar con los partos, las vacas seleccionadas por su alta habilidad por producir más grasa y más proteina tienen menor riesgo de ser seropositivas para Leucosis que otra lineas geneticas (Detilleux et al., 1991).

Patogénesis

LVB es una de las enfermedades neoplásicas más importantes de esta especie animal. Afecta al tejido linfoide, y aunque todas las razas son susceptibles, su frecuencia es predominante en el ganado lechero adulto (Piper, 1975). El rasgo patológico distintivo es la transformación neoplásica de linfocitos, los cuales proliferan anárquicamente infiltrando órganos diversos y generando tumores. El proceso neoplásico afecta con frecuencia a ganglios linfáticos, corazón, abomaso, útero, bazo, riñones y menos frecuentemente a médula ósea, canal espinal, hígado y vejiga (UNRC, 2005). La infección por LVB se caracteriza por una latencia clínica de largo plazo y una respuesta inmunitaria persistente asociado a bajos signos clínicos o expresión viral transitoria (Jensen et al., 1991;Haas et al, 1992). Aproximadamente el 65% de los animales infectados permanecen clínicamente y hematológicamente sin presentar alteraciones en células B que albergan provirus que representan el 0-18% de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) (Mirsky et al., 1996). En 30% de ganado infectado con LVB, una acumulación persistente no neoplásica de linfocitos B (linfocitosis persistente PL), que representa el 46 a 65% de la población total, se produce sin un aumento concomitante en el número absoluto de células B no infectadas (Mirsky et al., 1996). En menos de 5% de las infecciones aparecen la transformaciones neoplásicas de linfocitos B, lo que resulta en la leucemia linfocítica (LL) o linfoma maligna (ML). En el ganado vacuno con LL, las células mononucleares de sangre periférica CMSP consisten casi exclusivamente de las células B neoplásicas infectadas con LVB, mientras

que el ganado con ML suelen exhibir perfiles hematológicos normales a pesar de tener tumores sólidos con apreciado aumento de los linfocitos B infectados por el LVB. Debido a que el riesgo. La mayoría de los animales infectados con LVB aparecen asintomática (clínicamente sanos) 0.5 Aproximadamente un tercio de los animales infectados desarrollan linfocitosis persistente (PL) debido a la proliferación policlonal de los linfocitos B, y 0.1%-10% desarrollan tumores linfoides, principalmente linfosarcomas de células.

Diagnóstico

La técnica de Inmunodifusión en medio sólido es la prueba de diagnóstico prescrita por el comercio internacional y el método más común utilizado para la detección de anticuerpos específicos de LVB. Varios ensayos inmunoenzimáticos como la prueba de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas conocida comúnmente como ELISA, por sus Siglas en inglés, también están disponibles para diagnosticar LVB. La prueba de inmunodifusión en gel de agar es tan sensible como la prueba ELISA indirecto utilizado de forma rutinaria por ser altamente específico, fiable y fácil (González 1999). Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa, conocidas comúnmente como PCR, por sus siglas en inglés, han sido utilizadas también como pruebas diagnósticas, desarrollándose en la última década variedades de esta, tales como PCR de punto final y PCR en tiempo real (RT-PCR)para el diagnóstico cualitativo y cuantitativo de enfermedades virales, bacterianas y parasitarias que afectan al ganado (Fulton et al., 2009). El diagnóstico mediante PCR es un método útil para detectar animales infectados recientemente antes de la seroconversión. También se puede utilizar para confirmar la infección neonatal con LVB porque las pruebas serológicas no pueden diferenciar entre los anticuerpos producidos de becerros en respuesta a la infección y los que se transfieren pasivamente en calostro (De Souza, 2008). El 30% de los bovinos infectados desarrollaran linfocitosis persistentes (LP), y entre el 2 y 10% linfosarcoma (LFS). En consecuencia, una primera aproximación diagnóstica puede hacerse a través de la sintomatología clínica en bovinos con linfosarcoma. Los signos clínicos dependen del sistema u órgano afectado, pudiendo presentarse exoftalmus, trastornos digestivos, circulatorios, urinarios, reproductivos, locomotores y respiratorios.

Se han reportado muertes súbitas por ruptura de bazo especialmente en vacas. En animales mayores la sintomatología concuerda con un proceso caquéxico (Giraudo, 2010).

Impacto Económico

Es una enfermedad económicamente importante si bien los costos y las perdidas por LVB no han sido estimados, es posible acercarse a ellas teniendo en encuentra las cifras de otros países extrapolando lo que pierden los sistemas productivos de estos con los nuestros, para lo cual además habría que considerar el número de animales en producción, el tipo de alimentación y manejo productivo (Thurmand, 1987). Las pérdidas totales por causa de la lecucosis viral bovina se estimaron alrededor de 7 millones de dólares al año en la industria lechera de Norte América (Sorensen y Beal, 1979), y en la actualidad se han estimado perdidas en Estados Unidos para la industria láctea cerca de $ 86 millones de dólares al año aumentando cada año los índices de perdidas economicas por esta enfermedad (Mohammadabadi et al., 2011); así mismo el 89% de los hatos lecheros en este país tiene una pérdida económica anual de $525 millones en disminución de la producción exclusivamente de leche por esta enfermedad (Florins et al., 2007;Kobayashi et al., 2010).

Las perdidas radican en el descarte, muerte, sacrificio de animales, la no exportación de productos, reproductivos , susceptibilidad a otros agentes infecciosos y con esto el costo de medicamentos. Así mismo y en todos los puntos antes mencionados los gastos originados por los servicios médicos veterinarios (Malatestinic, 2003).

MATERIALES Y METODOS

Lugar de estudio

El presente estudio se realizó durante el periodo comprendido entre los años 2015 al 2016 en un hato lechero del Valle de Mexicali, el cual contaba con una población de 85 hembras, de los cuales 50 fueron vacas en producción, 20 hembras destinadas al reemplazo (vaquillas y becerras) y 15 vacas secas. El hato en estudio se encontraba declarado libre Brucelosis y Tuberculosis.

Colección de muestras e información

Se colectaron muestras de sangre de toda la población del hato, durante el periodo de estudio con el fin de establecer el diagnóstico de la enfermedad por medio de pruebas de PCR Anidada. Mediante la utilización de tubos vacutainer, se obtuvieron 2 tubos vacutainer de 5 ml de sangre cada uno de la vena coccígea en cada uno de los animales incluidos en la prueba, las muestras se identificaron inmediatamente con el nombre del productor y el numero del animal, posteriormente la muestras fueron refrigeradas y enviadas al laboratorio para ser analizadas, se recopiló la información pertinente a las vacas en producción, obteniéndose información sobre el número de lactancias, días en producción de vacas positivas, días abiertos, servicios por concepción, edad de gestación en vacas positivas desechadas, presencia de abortos y la etapa en que se presentaron, manejo y destino de los animales detectados positivos, así como las medidas de manejo establecidas para el control de la enfermedad.

Estudios serológicos

Los estudios serológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la

Universidad Autónoma de Baja California. Estos se realizaron mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR anidada).

Extracción de ADN

El protocolo utilizado está diseñado para la purificación de ADN total, obtenido de las células nucleadas de la sangre de los animales: Pipetear 20 µl de proteinasa K en un tubo de micro centrífuga de 1,5 ml o 2 ml. Añadir 50-100 µl de sangre anti coagulada. Ajuste el volumen a 220 µl Con PBS. Mezclar por vórtex, e incubar durante 2 min a temperatura ambiente. Añadir 200 µl de tampón AL (sin etanol añadido). Mezclar agitando con vortex, y Incubar a 56 ° C durante 10 min. Es esencial que la muestra y el tampón AL se mezclen inmediatamente y completamente Mediante agitación con vórtex o pipeteado para dar una solución homogénea. Añadir 200 µl de etanol (96-100%) a la muestra, y mezclar bien vortexando. Pipetear la mezcla de la etapa 3 en la columna de centrifugación DNeasy Mini colocada en un recipiente de 2 ml Tubo de recogida (suministrado). Centrifugar a \ sim 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min. Descarte Tubo de flujo y tubo de recogida. Coloque la columna de rotación DNeasy Mini en un nuevo tubo de recogida de 2 ml (suministrado), añada 500 µl de tampón AW1, y centrifugar durante 1 minuto a 6000 x g (8000 rpm). Descarte Tubo de flujo y tubo de recogida. Coloque la columna de centrifugado DNeasy Mini en un nuevo tubo de recogida de 2 ml (suministrado), añada 500 µl de tampón AW2 y centrifugar durante 3 minutos a 20.000 x g (14.000 rpm) para secar La membrana DNeasy. Deseche el tubo de flujo y de recogida. Es importante secar la membrana de la columna de rotación DNeasy Mini, ya que la Etanol puede interferir con las reacciones posteriores. Después de la etapa de centrifugación, retire cuidadosamente la columna de rotación DNeasy Mini De manera que la columna no entre en contacto con el flujo, ya que esto Resultan en la acumulación de etanol. Si se produce acumulación de etanol, vacíe la colección Y luego reutilizarlo en otra centrifugación durante 1 min a 20.000 x g (14.000 rpm). Coloque la columna de centrifugado DNeasy Mini en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml o 2 ml (No suministrado) y pipetee 200 µl de Tampón AE directamente

sobre la membrana DNeasy. Incubar a temperatura ambiente durante 1 min, y luego centrifugar durante 1 min a \ sim 6000 x g (8000 rpm).

Detección de provirus BLV por PCR anidada

El virus causante de la LVB fueron detectados por PCR anidada, utilizando el Primers mostrados BLTR256F 50-GAGCTCTCTTGCTCCCGAGAC-30 Este estudio BLTR453R 50-GAAACAAACGCGGGTGCAAGCCAG-30 BLTR306F 50-GTAAGGCAAGCACGGTTT-30 BLTR408R 50-AGGAGGCAAAGGAGAGAGT-30 Brevemente, la primera amplificación de PCR se realizó con los cebadores BLTR256F y BLTR453R. Cada cebador a una concentración final de 5 µM, 2 µl de 10 µg de tampón de PCR rTaq (Toyobo, Osaka, Japón), 2 µl de 25 µM de MgCl2, 2 µl de dNTP 1 mM, 0,1 µl De 5 U / ll rTaq y 10,4 l de agua libre de nucleasa Se añadió a cada muestra, que se amplificó en una Volumen de 20 ll durante 45 ciclos de 94ºC durante 30 s, 58ºC para 30 s y 72ºC durante 30 sy luego una etapa de extensión final de 4 min. Los primeros amplicones de PCR fueron posteriormente Aplicado a la segunda PCR con cebadores BLTR306F y BLTR408R. Cada cebador en una Concentración de 5 µM, 2 µl de 10 µg de tampón de PCR rTaq, 2 l1 de 25 pM de MgCl, 2 l de dNTP 2 mM, 0,1 l de 5 U / Ll rTaq y 11,9 ll de agua libre de nucleasa se anadieron a cada producto de PCR. El agua esterilizada Utilizado como control negativo.

Programa de control de Leucosis Viral Bovina

En esta revisión, esbozamos los enfoques actualmente disponibles para disminuir las tasas de infección de LVB. Segregar o administrar, la puesta bajo vigilancia oficial de la explotación ganadera con un control este enfoque tiene como objetivo reducir parte de estos costos segregando en lugar de eliminar animales infectados. Los programas de control basados en la segregación requieren la detección de animales seropositivos y el confinamiento de LVB infectados. Se ha propuesto que una distancia mínima de 200 metros debe

separar los dos rebaños para evitar la transmisión. La principal ventaja de este enfoque es la reducción de costosas pérdidas debidas a la eliminación prematura obligatoria y el reemplazo de los animales LVB positivos. Aunque muy exigente, este tipo de programa ha sido útil para disminuir la prevalencia o incluso lograr la erradicación de la enfermedad. La desventaja es que puede ser más lenta que la opción probar y eliminar.

Estimación de costos y pérdidas

En la estimación del impacto económico se identificaron los costos y pérdidas atribuibles a Leucosis, los cuáles se consideran como aquellos que estén asociados con los efectos de la enfermedad, para lo cual se tomaron en cuenta los costos para tratar los efectos de la enfermedad, así como los costos asociados con los métodos de prevención de la misma. En la determinación se consideraron tres aspectos principales: 1) Pérdidas en producción de leche, 2) Pérdidas en becerros, 3) Perdidas por días abiertos y 4) Costos por control de la enfermedad (McInerney et al., 1992).

Pérdidas en producción de leche.

Para determinar el efecto del virus de la leucosis bovina enzoótica (LVB) sobre parámetros productivos (producción total de leche [Kg Total] y producción a 305 días Kg 305d]) promedio de días de lactación de cada vaca, se utilizó una formula basada en el promedio de producción vaca por día, numero de vacas positivas a leucosis, el precio del litro de leche obteniendo así una cantidad que refleja la merma en la producción de leche de toda la población enferma, la producción de leche se estimó de acuerdo producción individual durante los meses de lactancia en el establo y la cantidad de animales que se encontraban en ordeña. Las pérdidas en producción incluyeron además la disminución en la producción de leche estimada en un 5%, expresada como el porcentaje de merma en producción de leche considerado:

Merma en producción de leche = [MQ (0.05)] (QVLE) (PL)

MQ = Promedio de producción de leche por vaca por día.

QVLE = Número de vacas lactantes positivas eliminadas.
PL = Precio del litro de leche.

(Xolalpa et al., 1993; SAGAR, 1998)

Pérdidas en becerros

El aborto bovino definido como la pérdida del producto de la concepción a partir del periodo fetal hasta antes de los 280 días en caso del bovino. La pérdida antes de los 42 días post concepción es denominado pérdida embrionaria, siendo un factor limitante del desarrollo ganadero en todos los países del mundo. Para estimar las pérdidas en becerros fueron incluidos el número de becerros abortados y el de becerros no nacidos de vacas eliminadas gestantes. Bajo el supuesto de que cada feto abortado y eliminado en vacas gestantes podría producir un becerro vivo, las estimaciones se realizaron de la siguiente forma:

Abortos

La proporción de abortos de vacas infectadas con leucosis es del 5 % las pérdidas de vaca/año desciende drásticamente, la cantidad exacta se obtuvo con los parámetros reproductivos como ser: número de vacas gestantes que presentan leucosis, tasa de aborto atribuida a leucosis, probabilidad de nacimiento de hembras o macho, valor del becerro al nacimiento. La fórmula para realizar esta estimación se presenta a continuación:

Pérdidas en becerros abortados = [QVG (TAB)] (0.5) (VB)
QVG = Número de vacas gestantes en el establo durante el año del brote.
TAB = Tasa de aborto atribuida a Leucosis.
0.5 = Probabilidad de nacimiento de hembra o macho.
VB = Valor del becerro al nacimiento.

Días Abiertos

Se realizó un estimado de pérdidas económicas tomando en cuenta el costo aproximado del día abierto, costo por inseminación, costo de pajilla de semen los animales infectados con el virus dada la inmunosupresión causada y por lo tanto los gastos en tratamientos o las fallas post-vacúnales las pérdidas indirectas por efectos sobre la capacidad reproductiva son parámetros que se consideran relevante para una explotación lechera (Sandez et al., 2006).
Para los cálculos se asumió un incremento de días abiertos por al menos siete meses en vacas que abortan y se descartaron los demás efectos adicionales (Romero, 1999).

Costos por control de la enfermedad

Para establecer los costos para el control de la enfermedad se tomaron en cuenta varios aspectos cuantitativos como ser el costo por monitereo de la toma de muestras de sangre y su posterior análisis del laboratorio mediante la prueba de PCR anidada con el objetivo principal de detectar animales positivos mediante una prueba de mayor sensibilidad y especificad con cual se examinaron un total de 85 muestra que tuvieron un costo total por muestra de 300 pesos, el costo total de las pruebas serológicas se obtuvo multiplicando el valor de la muestra por el número de muestras analizadas. Una de las prácticas de Bioseguridad Adoptadas en muchas Explotaciones de Bovinos es La segregación de animales enfermos para prevenir la exposición de patógenos a animales sanos del hato esto se realizó con el fin de ir desechando animales enfermos paulatinamente hasta llegar al objetivo de contar con establos lecheros libres de leucosis.

Evaluación del Programa Control

El análisis económico es una técnica valiosa en la planificación y gestión de los programas de sanidad animal, Diferentes métodos son apropiados para las enfermedades endémicas, para las enfermedades que ocurren intermitentemente como brotes locales y para las enfermedades que pueden causar una epidemia La información requerida para el análisis a nivel de rebaño individual es mucho

más simple. Se examinan las cuestiones relativas al grado de riesgo de las diferentes opciones y se introduce la aplicación del análisis de decisiones a las opciones de mayor riesgo Además de la estimación de pérdidas directas por efecto de la enfermedad y pérdidas indirectas por las medidas de control, se realizó una evaluación del programa de control establecido. Utilizando el método económico denominado presupuesto parcial. Este método de análisis es recomendado para evaluar programas de control de enfermedades así como la aplicación de nuevas tecnologías a una empresa.

El método es apropiado para analizar enfermedades endémicas y brotes de enfermedad principalmente a nivel de hato (Rushton et al., 1999; Morris, 1999). Un análisis de presupuesto parcial contempla cuatro conceptos principales: i) Ingresos percibidos, ii) Ingresos no percibidos, iii) Costos dejados de realizar y iv) Nuevos costos realizados. Los conceptos ii y iv son los costos del programa de control y los puntos i y iii representan los beneficios.

RESULTADOS Y DISCUSION

Pérdidas en producción de leche

Acorde con las fórmulas propuestas por Xolalpa et al. (1993) y SAGARPA (1998), para lo cual se consideró la producción de leche a 310 días de lactancia, siendo este número los días promedio de duración de periodo productivo. El promedio de producción de leche por vaca fue de 29 l/d y el precio por litro fue de $6.00 (seis pesos, M.N). En base a ello, el cálculo de producción total de leche fue de 449,500 litros. Considerando una merma del 5% en respuesta a la enfermedad, la producción de leche fue de 427,025 litros, es decir, se calculó la pérdida de 22,475 litros, a un precio de venta de 6.00 pesos, la pérdida financiera fue de fue $134,850 (Ciento treinta y cuatro mil ochocientos cincuenta pesos, M.N). El hato tuvo una alta prevalencia de leucosis afectando drásticamente. Sin embargo el virus está estrechamente relacionado con la producción ya que debido a la inmunosupresión que causa en las glándulas mamarias se hacen susceptibles a la colonización de microorganismos que ocasionan procesos infecciosos. La presencia de antígenos desencadena una respuesta inmunológica con repercusión en el tejido mamario deteniendo la producción por lesiones y proceso inflamatorio generando pérdidas económicas por disminución en la producción y baja en la calidad de los productos entregados (Báez, 2002) con pérdidas económicas que afectan los ingresos. En enfermedades que no afectan la producción de forma drástica, como es el caso de enfermedades subclínicas o enfermedades que no se manifiestan de forma evidente, el desecho podría considerarse no obligatorio. En estos casos, el tomar la decisión de desechar es una opción que debe ser analizada cuidadosamente (Lehenbauer, 1998). esta patología ha sido catalogada como una de las enfermedades de gran impacto económico para la ganadería tipo leche, su efecto sobre la disminución de la producción de leche como impacto primario, sumado a la baja en la calidad de leche por residuos de fármacos utilizados en el tratamiento tiene sus consecuencias en el precio de la leche y provoca restricciones comerciales, sumado a esto se da la pérdida de animales de alta producción por el descarte de

los mismos y el alto costo de los tratamientos curativos y preventivos a utilizar para disminuir el impacto de la enfermedad (Romero, 1999).

Pérdidas en becerros

Durante el presente experimento se registraron 3 abortos. Considerando que el precio de venta de una becerra Holstein es de 16,000.00 pesos M.N., la pérdida por becerros fue de $48,000.00 (Cuarenta y ocho mil pesos, M.N.). La interacción número de aborto por animales infectados fue tomado en cuenta solamente 60 vacas del hato, entre este grupo se encuentran gestantes y las productoras, según los registros la tasa de abortos que se identificó en el brote de leucosis fue de 11.6% siendo un porcentaje importante económicamente, entre el primero y segundo parto no presentaron ningún problema con estadios del virus, pero todo los abortos fueron desde el tercer parto en adelante, esto se debe posiblemente, a que los individuos positivos desarrollan la enfermedad después de los 3 o 5 años de edad donde la vaca tipo lechera está llegando a su tercer parto y 0,5 - 1% llegan a la fase terminal presentando síntomas que afectan la reproducción (Kahn, 2007). Sin embargo, existen otros efectos indirectos asociados de forma secundaria a un aborto, como es el caso de retención placentaria, Histológicamente se da la infiltración de tejido linfoproliferativo en el útero alterando el funcionamiento normal del órgano, lo que impediría el proceso de implantación embrionaria en los estadios tempranos de la gestación teniendo como consecuencia aumento de los días abiertos, pérdidas en producción de leche (Valdespino J. R. 1993).

Costos por diagnóstico de la enfermedad.

Las estrategias de control consistió en la identificación mediante pruebas moleculares PCR y segregación de los animales positivos con el objetivo de poder eliminar los animales infectados gradualmente y remplazarlos por animales sanos libres de LVB, otro control puede ser probar y eliminar en el cual consiste en diagnosticar los animales positivos y eliminarlos del hato ha sido eficiente, su viabilidad se enfrenta a algunas restricciones importantes. Una limitación clave es que la tasa de prevalencia inicial de infección no debe ser alta debido a su costo

económico muy alto, se obtuvieron un total de 85 muestras de sangre con un costo de 300 pesos cada muestra analizada con un costo total de $25,500.00 (Veinticinco mil quinientos pesos, M.N.), el muestreo se realizó a todos los animales del hato la prevalencia de la enfermedad fue un total de 100% con 50 vacas en producción, 15 gestantes, 15 secas y 5 becerras de remplazo En un estudio realizado en la ciudad de Tijuana Baja California (Icedo y Rentería, 2003) reportaron una prevalencia global de 52% de los 46 hatos muestreados, 45 resultados con al menos un animal positivo lo cual nos indicó una prevalencia a nivel de hato del 97% utilizando una prueba comercial de inmunodifucion Agar Gel (Institut Pourquier) para detectar la presencia del antigeno gp51, En otra encuesta realizada en Florida en el ganado bovino lechero mayor a 18 meses se obserbo que 7,768 bovinos el 98%estaba infectado y de 4,911 bovinos productores de carne correspondio al 6% (Burridge et al., 1981). Se ha reportado que el 18% de los becerros procedentes de vacas infectadas con LVB Nacen infectados a través de la vía transplacentaria (Piper, 1994) así como al ser alimentados con calostro o leche provenientes de estos animales (Miller et Van Der Maaten, 1979). La reaccion de cadena polimerasa (PCR) puede detectar aquellos animales en los cuales la enfermedad se encuentra en periodo de incubación, por lo que no han desarrollado suficientes anticuerpos como para ser detectados por serología como una medida dentro de un programa control se decidió no eliminar los animales por su alta prevalencia pero se decidió utilizar programas estrictos de cuarentena y segregar vacas reactoras positivas, y darle un proceso termico a la leche para eliminar cepas del virus que pueden adquirir los becerros ya que las glándula mamaria se hace susceptible a la colonización de microorganismos que ocasionan procesos infecciosos, la presencia de antígenos desencadena una respuesta inmunológica (Evermann, 1992)**.** la estructura del tejido galactopoyetico sufre descamación celular como mecanismo de defensa, en esta descamación van linfocitos y macrófagos que llevan en su núcleo el ADN proviral, esta leche se convierte en una fuente de contaminación para crías que se alimenten de la misma y por la presencia de células leucocitarias se incrementa el recuento de células somáticas, bajando su calidad para el mercadeo en forma líquida (Báez, 2002). Los costos directos conformados por mano de obra y materiales tuvieron un valor de pruebas de diagnóstico de 25000 pesos.

Resultados de la evaluación económica del Programa de Control.

El programa de control establecido, el cual consistió en la detección de animales positivos a la enfermedad mediante pruebas molecular Nestel PCR y la segregación de éstos del hato, tal como se contempla en un programa de segregación en la Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, se evaluó mediante el método de presupuesto parcial. El análisis de presupuesto parcial puede ser empleado para comparar el impacto de un cambio tecnológico sobre los costos e ingresos del hato lechero. Este enfoque del presupuesto se denomina parcial porque no incluye todos los costos de producción, sino solo aquellos quo son diferentes al comparar las prácticas usuales de producción con las prácticas propuestas. El análisis de presupuesto parcial permite cuantificar el impacto que un cambio en el sistema de producción tiene sobre el ingreso neto sin necesidad de conocer todos los costos de producción. El análisis de presupuesto parcial es útil en cada fase del proceso de investigacion, extensión y adopción. En el primer caso, puede ayudarle al investigador a concentrar su atención en aspectos problemáticos de las tecnologías que está desarrollando, en las cuales es necesario reducir costos y aumentar retornos. Pero las decisiones deben estar basadas también en un buen conocimiento de la tecnología de enfermedad y de los sistemas locales de producción. Las consecuencias económicas de las decisiones tomadas en relación al control del brote de leucosis.

Costos por días abiertos

Acorde con los archivos consultados, en promedio la cantidad de días abiertos por vaca fue de 300 días, los cuales considerando las 50 vacas en producción más las 15 vacas en período seco nos da un total de 19,500 días. Acorde con los precios actuales, el costo diario de alimentación para las vacas gestantes y en período seco es de $2,870.00 pesos M.N. lo cual nos arroja un costo diario por animal de $44.15 pesos M.N. Por lo anterior, las pérdidas totales

calculadas por concepto de días abiertos es de 44.15 x 19,500 = 860,925.00 pesos M.N.

Costos para establecer el programa control

Para controlar la enfermedad en el hato lechero utilizamos técnicas dirigidas a la prevención y métodos adecuados estrictos de manejo, cuarentena de nuevos animales que entran a la población del hato (monitoreo para la detección de nuevos casos), mantener aislados a los animales enfermos y separar la leche procedente de los animales positivo en tratamiento (Costo directo asociado al programa control). Separar los animales en grupos positivos o negativos (Rodríguez, 2011). No utilizar calostro de vacas infectadas, realizar un control después de los 6 meses de edad, antes de ese período, los hijos de madres seropositivas deben ser considerados positivos y se les debe mantener asilados de los nacidos de madres negativas. Donde las consideraciones económicas o genéticas impiden la eliminación de los reactores, es preferible la segregación de los portadores siendo un método eficaz y eficiente en este tipo de enfermedades ya que nos permite trabajar con los animales sin tener que arriesgar la estabilidad económica de la empresa al momento de eliminarlos con la desventaja que el virus permanecerá por un largo tiempo teniendo que adoptar metodologías que nos ayuden mantener aislado el virus para no infectar los hatos futuros. Esta patología ha sido catalogada como una de las enfermedades de gran impacto económico para la ganadería de tipo leche, su efecto sobre la disminución de la producción de leche como impacto primario, ya que existe una asociación significativa entre la infección por LVB y la ocurrencia de mastitis clínica y subclínica. Tambien se encontró que los rebaños infectados con LVB tenían un mayor riesgo de problemas con pesuña, gastroenteritis, neumonía y sacrificios en comparación con los rebaños libres de LVB. Adquirir solo animales de los que se conozca su situación respecto a enfermedades y controlar su entrada en la explotación. Disponer de un programa de control de plagas. Mantener aislados a los animales enfermos y separar la leche procedente de los animales enfermos o en tratamiento.

(Dusty, 2007) En un estudio se demostró que pequeños volúmenes de sangre total administrada por distintas rutas (IM, IV, SC, ID) fueron efectivas en diseminar la enfermedad, esto acentúa la hipótesis de que el uso de agujas comunes contribuye a la diseminación de la enfermedad.

Con base a los análisis anteriores los cálculos nos arrojan lo siguiente:

	Pesos, M.N.
Costo por pérdidas en producción de leche	134,850.00
Costos por pérdidas en becerros	48,000.00
Costos por diagnóstico de la enfermedad	25,500.00
Costos por días abiertos	861,000.00
Total	**1´069,350.00**

CONCLUSIONES

- La prevalencia del virus de la Leucosis Viral Bovina fue del 100%, identificado mediante la técnica de PCR anidada en el hato de lechería especializada en el valle de Mexicali, Baja California, México distribuido en animales portadores positivos asintomáticos persistentes.

- Las principales pérdidas económicas debidas a la infección por LVB provienen de la merma de la producción de leche, la reducción de la eficiencia reproductiva, costos de diagnóstico y costos por días abiertos.

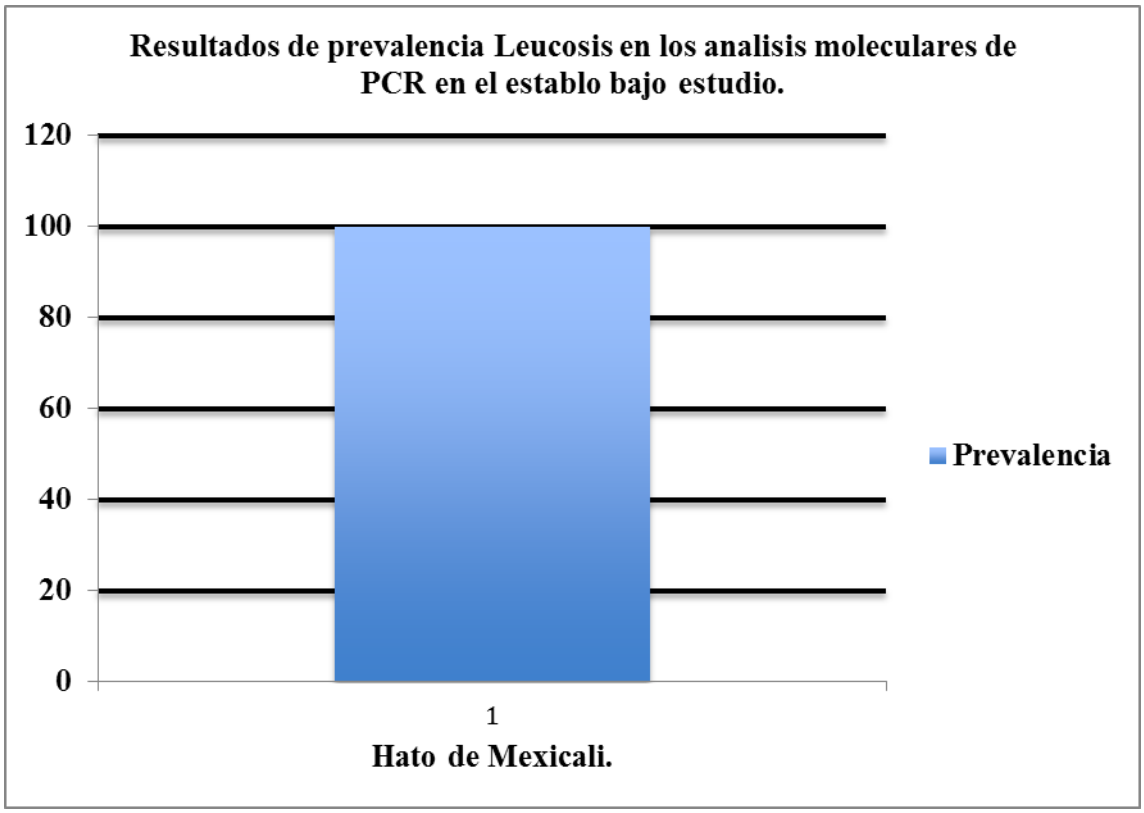
- El costo total estimado generado por la presencia de LVB fue de 1´069,350.00 (Un millón sesenta y nueve mil trescientos cincuenta pesos M.N.).

- La LVB es provocada por un virus de fácil diseminación, por lo cual es necesario de medidas de control especializadas que puedan mantener los márgenes de presencia bajos y evitar pérdidas económicas relevantes para el productor al obtener hatos libres.

- Se necesita establecer un programa eficiente de control para animales infectados en el hato, el cual considera adecuado la segregación de animales positivos y su eliminación gradual. Este programa permite desechar vacas que no sean rentables para el establo de manera gradual, debido a la alta prevalencia de la enfermedad, pérdida de ingresos, y los altos costo de remplazos.

- La no segregación de animales positivos pudo haber sido uno de las principales causas de la disminución de la eficiencia financiera observada.

Figura 1. Resultados de prevalencia de Leucosis en los analisis moleculares de PCR anidada en el establo bajo estudio.



LITERATURA CITADA

Báez, G. J. J. 2002. Estudio epidemiológico de mastitis subclínica bovina en el sector II de Téjaro, Michoacán. (Tesis). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán, México. 40-4.

Blood, D. C., and O. M. Radostits. 1992. Medicina Veterinaria. Séptima edición. P. 878-886.

Bollinger O. 1874. Über Leukämie bei den Haustieren. Virchows Arch. 59:341–349.

Burny, A., Y. Cleuter, R. Kettmann, M. Mammerickx, G. Marbaix, D. Portetelle, A. van den Broeke, L. Willems, and R. Thomas. 1988. Bovine leukaemia: Facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer. Vet Microbiol. 17:197–218.

Cleuter, Burny, A., C. Bruck, Y. D. Couez, J. Deschamps, D. Gregorie, J. Ghysdael, R. Kettmann, M. Mamme-Rickx, G. Marbaix, and D. Portetelle. 1988. Bovine leuke-mia virus and enzootic bovine leukosis. Onderstepoort J. Vet. Res. 52: 133-144.

De Souza, R. D. 2008. Efeito da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina na produção de leite e reprodução de rebanhos leiteiros. Tesis, 26 p.

Detilleux, J. C., A. E. Freeman, and L. D. Miller. 1991. Comparison of natural transmission of bovine leukemia virus in Holstein cows of two genetic lines selected for high and average milk production. Am. J. Vet. Res. 52:1551–1555.

Dusty, W. N., W. T. Jeff, and B. K. Steven. 2007. Timing of seroconversion and acquisition of positive polymerase chain reaction assay results in calves experimentally infected with bovine leukemia virus. Am J Vet Res. 68:72–75.

Evermann, J. F., and M. K. Jackson. 1997. Laboratory diagnostic tests for retroviral infections in dairy and beef cattle. Vet Clin N Am Food Animal Pract. 13:87–106.

Ferrer, J. F., R. R. Marshak, D. A. Abt, and S. J. Kenyon. 1979. Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle: A review. J Am Vet Med Assoc. 175:705–708.

Florins, A., Gillet, N., Asquith, B., Boxus, M., Burteau, C., Twizere, J.C., Urbain, P.,Vandermeers, F., Debacq, C., Sanchez, M.T., Schwartz, I., Kerkhofs, P., Jean, G., Théwis, A., Hay, J., Mortreux, F., Wattel, E., Reichert, M., Burny, A., Kettmann, R., Bangham, C., & Willems, L. (2007). Cell dynamics and immune response to BLV infection: a unifying model. Front Biosci. 12:1520-1531

Fulton, B. E., M. Portella, and K. Radke. 2006. Dissemination of Bovine Leukemia Virus-Infected Cells from a Newly Infected Sheep Lymph Node. J Virol. 80:7873–84.

Giraudo, J., E. Bérgamo, M. Schneider, G. Magnano, A. Macias, E. Sticotti, and M. Mació. 2010. Leucosis Enzootica Bovina. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. en:www.produccion-animal.com.ar .

González, E. T., E. B. Bonzo, M. G. Echeverrla MG et al. 1999. Enzootic bovine leukosis: development of an indirect enzyme linked immunosorbent assay (I-ELISA) in serological studies. Rev Microbiol. 30: 37–4.

González, E. T., N. Junzo, R. V. Alejandro, et al. 1999. A rapid and sensitive diagnosis of bovine leukaemia virus infection using the nested shuttle polymerase chain reaction 1. Pesq Vet Bras. 19: 63–1967.

González, E. T., G. A. Oliva, A. Varela, E. Bonzo, M. Licursi, and M. E. Etcheverrigaray. 2001. Leucosis enzootica bovina: evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, ELISA, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente. Analecta Veterinaira. 21:12-20.

Hayes, D., and L. Burton. 1998. Enzootic bovine leucosis eradication scheme. Surveillance. 25:3–5. **https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2167048**

Icedo, Tomas R /2003/Tesis/ Prevalencia de leucocis bovina en el valle de Tijuana/ Medico Veterinario/ Mexicali Baja California Mexico/ Universidad Autonoma de Baja California. 22 pag

Jensen, W. A., J. Rovnak, and G. L. Cockerell. 1991. *In vivo* transcription of the bovine leukemia virus tax/rex region in normal and neoplastic lymphocytes of cattle and sheep. J Virol. 65:2484–2490.

J.P.McInerney, J.A.Schepers/1992/ A framework for the economic analysis of disease in farm livestock/ Science Direct/ pag 137-154

Johnson, R., and J. B. Kaneene. 1992. Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. Vet Bull. 62:287–312.

Kahn, B.A. 2007. Manual Merck de Veterinaria. Sexta edición. 581-585.

Kettmann, R., and A. Burny. 1994. Bovine Leukemia Virus. In: Levy JA, editor. The Retroviridae. Vol. 3. Plenum Press; New York, NY, USA. pp. 39–81.

Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Kameyama, K., Konishi, M., & Murakami, K. (2010). Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairyfarms in Japan. BMC Veterinary Research 6:1 doi:10.1186/1746 6148-6-1

Leisering, A. 1871. Hypertrophy der Malpighischen Körperoen der Milz. Berl Vet West Kgr Sachsen. 16:15–16.

Malatestinic, A. 2003. Bilateral exophthalmos in a Holstein cow with lymphosarcoma. Can Vet J. 44:664–6.

Miller, J. M., L. D. Miller, C. Olson, and K. G. Gillette. 1969. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. J Natl Cancer Inst. 43:1297–1305.

Mirsky, M. L., C. A. Olmstead, Y. Da, and H. A. Lewin. 1996. The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two subclinical stages of infection. J Virol. 70:2178–83.

Morris, R. S. 1999. The application of economics in animal health programmes: a practical guide. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 18:305-314.

NAHIS-AHA Enzootic Bovine Leukosis Available online: http://www.animalhealthaustralia.com.au/nahis/pmwiki/pmwiki.php?n=Factsheet.90-1 (accessed on 27 April 2011).

NAHMS-USDA Bovine Leukosis Virus on U.S. Dairy Operations. 2007. Availableonline:http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_BLV.pdf (accessed on 27 April 2011).

Olson, C., and J. Miller. 1987. History and terminology of enzootic bovine leukosis. In: Burny A, Mammerickx M, editors. Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus. Martinus Nijhoff Publishing; Boston, MA, USA. pp. 3–14.

Piper, C. E., D. A. Abl, J. F. Ferre, and R. R. Marshak. 1975 Posnatal and prenatal transmisión of bovine leukemia virus under natural condition, J. Natl. Concenins. 62:162.

Piper, C. E., D. A. Abl, J. F. Ferre, and R. R. Marshak. 1975. Sero epidemiological evidence of horizontal of bovine C Type virus. Cancer Res. 35:2714.

Pollari, F. L., and J. F. Everman. 1993. Use of surviral análisis to compáre cull rates betwen bovine leukemia virus seropositive and seronegative dairy cows. Am Vet Res 54:1400-1403.

Rodríguez, S. M., A. Florins, N. Gillet, A. de Brogniez, M. T. Sánchez-Alcaraz, M. Boxus, et al. 2011. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV. Viruses. 9:1210–48.

Romero, C. H., G. B. Cruz, and C. A. Rowe. 1983. Transmission of bovine leukaemia virus in milk. Trop Anim Health Prod. 15:215–8

Rushton, J., P. K. Thomton, and M. J. Otte. 1999. Methods of economic impact assessment. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 18:315-342.

Sandez, N., Ilieva, D., Sizov, I., Rusenova, N., Iliev, E. 2006. Prevalence of enzootic bovine leukosis in the Republic of Bulgaria in 1977-2004. Arch Vet., 76(3): 263-268.

SENAS ICA-SAGARPA. 2008. Situación Zoosanitaria en los Estados de la República Mexicana: Informe mensual. Dirección de Vigilancia Epidemiológica, Dirección General de Salud Animal. México, D.F.

Sorensen, O. K, and V. Beal. 1979 Prevalence and economics of bovine leukosis in the United States Procc, Symposium College Bark, MDC (USDA). Pag. 33-50.

Thurmand, M. C, 1987, Economic of bovine leucosis, In Burny, A. and M. Manmerick, Enzootic Bovine Lucosis Virus (Nijhoff, Doston) 71-84.

UNRC, Esteban E. Leucosis Bovina Enzootica. Jornada de Sanidad Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UNRC. (2005).

Valdespino J. R. 1993. Pérdidas por desecho prematuro de vacas en un hato lechero en México. World Animal Review. 74: 64-67.

Xolalpa V. M., C. J. Jaramillo, y F. A. Pesado. 1993. Evaluación financiera de un programa de control de enfermedades bovina en la Comarca Lagunera (1987-1990). Vet. Méx. 2:127-134.