

Prevalencia de Leucosis Bovina en la cuenca lechera de la provincia, Cercado de Trinidad, Beni.

Prevalence of Bovine Leukosis in the dairy basin of the province, Cercado de Trinidad, Beni.

Prevalência de Leucose Bovina na bacia leiteira da província Cercado de Trinidad, Beni.

 Francis Ferrier Abidar ¹

 Ariel Loza Vega ²

Resumen

Introducción: Este estudio determinó la prevalencia de rebaño y predial de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Bovina en ganado lechero en la provincia Cercado del departamento del Beni. **Método:** Se visitaron treinta lecherías en cuatro zonas geográficas para estudiar 390 cabezas de ganado lechero. En cada lechería se realizaron cuestionarios, muestreos de sangre. Los sueros de bovinos individuales se analizaron utilizando el método de diagnóstico de inmunodifusión en agar gel (AGID) para la detección de anticuerpos contra el virus de la leucosis bovina, la comparación estadística se realizó mediante el método de Chi Cuadrado, con un nivel de significancia de 0,95 y un valor alfa de 0.05. **Resultados:** Los resultados obtenidos revelaron una seroprevalencia de 18.20 % (IC.95 %: 14,25-22,16 %) La zona V presentó un 23.07 %, la zona III un 19.23 %, la zona VI un 17.94 %, y la zona IV un 15.38 %. Sin embargo, no se observó diferencias estadísticas significativas entre las zonas estudiadas ($P < 0.05$), develando una diseminación natural de la enfermedad en toda la cuenca lechera. Respecto a la prevalencia por raza, se observó 20.79 % para la raza Criolla, 20.51 % para Gyr Holando, 16.66 % para Mestizas Holando, 18.64% para Pardo Suizo y 12.96 % para Nelore. No se identificaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre las razas. El análisis por grupos de edad reveló que las vacas de 5 a 6 años presentaron la mayor prevalencia (21.21 %), seguidas por las de 6 a 7 años (19.51 %), las de más de 7 años (16.66 %), las de 4 a 5 años (12.50 %) y las de 3 a 4 años sin positivos. **Conclusión:** Estos hallazgos sugieren una distribución homogénea de la leucosis bovina en la población estudiada, independientemente de la procedencia de las vacas.

Palabras clave: Leucosis bovina, Seroprevalencia, Ganado, Anticuerpos.

Abstract.

Introduction: This study determined the herd and farm prevalence of antibodies against the Bovine Leukosis virus in dairy cattle in the Cercado province of the Beni department. **Method:**

Correspondencia a:

¹ Universidad Autónoma del Beni.

² Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno.

Email de contacto:

fferriera@uabjb.edu.bo

arielloza@uagrm.edu.bo

Procedencia y arbitraje:

No comisionado, sometido a arbitraje externo

Recibido para publicación:
20 de julio del 2023

Aceptado para publicación:
25 de septiembre del 2023

Citar como:

Ferrier Abidar F, Loza Vega A. Prevalencia de Leucosis Bovina en la cuenca lechera de la provincia, Cercado de Trinidad, Beni. *Revista UNITEPC.* 2023;2(2):21-29.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Thirty dairies in four geographical areas were visited to study 390 heads of dairy cattle. Questionnaires and blood sampling were carried out at each dairy. Individual bovine sera were analyzed using the agar gel immunodiffusion (AGID) diagnostic method for the detection of antibodies against bovine leukosis virus, statistical comparison was performed using the Chi Square method, with a level of significance of 0.95 and an alpha value of 0.05. **Results:** The results obtained revealed a seroprevalence of 18.20% (95% CI: 14.25-22.16%) Zone V presented 23.07%, zone III 19.23%, zone VI 17.94%, and zone IV 15.38%. However, no significant statistical differences were observed between the studied areas ($P < 0.05$), revealing a natural spread of the disease throughout the dairy basin. Regarding the prevalence by race, 20.79% was observed for the Creole race, 20.51% for Gyr Holando, 16.66% for Mestizas Holando, 18.64% for Brown Swiss, and 12.96% for Nelore. No significant statistical differences ($P < 0.05$) were identified between breeds. The analysis by age groups revealed that cows 5 to 6 years old had the highest prevalence (21.21%), followed by those 6 to 7 years old (19.51%), those over 7 years old (16.66%), those 4 to 5 years old (12.50%), and those from 3 to 4 years without positives. **Conclusion:** These findings suggest a homogeneous distribution of bovine leukosis in the studied population, regardless of the origin of the cows.

Keywords: bovine leukosis, Seroprevalence, livestock, antibodies.

Prevalência de Leucose Bovina na bacia leiteira da província Cercado de Trinidad, Beni

Resumo

Introdução: Este estudo determinou a prevalência de anticorpos contra o vírus da leucose bovina em rebanhos e fazendas em bovinos leiteiros na província de Cercado, no departamento de Beni. **Método:** Trinta fazendas leiteiras em quatro áreas geográficas foram visitadas para estudar 390 cabeças de gado leiteiro. Questionários e coletas de sangue foram realizados em cada laticínio. Os soros bovinos individuais foram analisados pelo método diagnóstico de imunodifusão em gel de ágar (AGID) para detecção de anticorpos contra o vírus da leucose bovina, a comparação estatística foi realizada pelo método Chi Square, com nível de significância de 0,95 e valor alfa de 0,05. **Resultados:** Os resultados obtidos revelaram uma seroprevalência de 18,20% (IC 95%: 14,25-22,16%). A Zona V apresentou 23,07%, a zona III 19,23%, a zona VI 17,94% e a zona IV 15,38%. Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as áreas estudadas ($P < 0,05$), revelando uma propagação natural da doença por toda a bacia leiteira. Quanto à prevalência por raça, foram observados 20,79% para a raça Crioula, 20,51% para Gyr Holando, 16,66% para mestiços Holando, 18,64% para Pardos Suíços e 12,96% para Nelore. Não foram identificadas diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$) entre as raças. A análise por faixas etárias revelou que as vacas de 5 a 6 anos tiveram as maiores prevalências (21,21%), seguidas das de 6 a 7 anos (19,51%), das maiores de 7 anos (16,66%), das de 4 a 5 anos. (12,50%) e aqueles de 3 a 4 anos sem positivos. **Conclusão:** Esses achados sugerem uma distribuição homogênea da leucose bovina na população estudada, independente da origem das vacas.

Palavras-chave: Leucose bovina, Soroprevalência, Pecuária, Anticorpos.

Introducción

La leucosis bovina (LB) es una enfermedad neoplásica contagiosa de distribución mundial que afecta a bovinos de todas las edades (1, 2). Se caracteriza por el desarrollo de tumores malignos en diversos órganos y tejidos (3, 4), causando pérdidas económicas significativas a la ganadería lechera por la disminución de la producción de leche y carne, además de gastos asociados al diagnóstico y control (5, 6).

En el Norte, Centro y Sudamérica, las lecherías presentan prevalencias altas de LB. En Argentina, entre el 80 y el 99 % de las granjas lecheras están infectadas con LB (2) y la prevalencia a nivel animal llega a 77-90 % (1, 7)

La transmisión de la BLV ocurre principalmente por contacto directo con animales infectados o a través de la placenta de madres portadoras al feto (8). La infección por BLV no siempre produce signos clínicos, pero puede derivar en el desarrollo de linfocitosis persistente y en la formación de tumores, especialmente linfomas (3, 6, 9)

El diagnóstico de la BLV se basa principalmente en la detección de anticuerpos contra el virus de la leucosis bovina (BLV) en suero o leche (6, 10). Entre las pruebas serológicas disponibles, la más utilizada es el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) (5, 11).

La prevalencia de la BLV varía considerablemente entre países y regiones, siendo influenciada por factores de manejo, bioseguridad y control implementados en la ganadería (9).

En América del Sur, la prevalencia de la BLV en bovinos lecheros ha sido reportada en Argentina (19.9 %) (7), Brasil (13.5 %), Chile (2.6 %) (12) y Colombia (18.6 %) (11). Sin embargo, la información disponible sobre la prevalencia de la BLV en Bolivia es limitada y fragmentada, con estudios que reportan 29 % de seroprevalencia para lecherías de la cuenca de Santa Cruz, donde se observó diferencia significativa entre las diferentes provincias evaluadas (13, 14).

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de rebaño y predial de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Bovina, mediante un estudio serológico de cohorte transversal en lecherías de la provincia Cercado, del departamento del Beni.

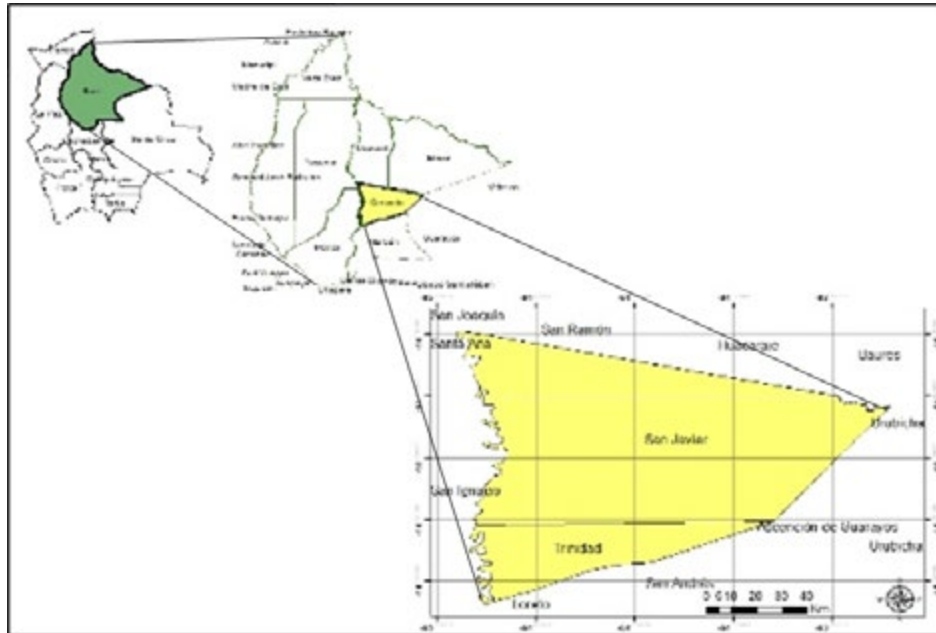
Materiales y métodos

El estudio se realizó en la cuenca lechera de la Provincia Cercado del Departamento del Beni, ubicado al Noreste de Bolivia, cuenta con una superficie de 213,564 km². Limita al Norte con el departamento de Pando y la República del Brasil; al Sur con los departamentos de Cochabamba y Santa Cruz; al Este con el Brasil y al Oeste con el departamento de La Paz. Se generó un mapa del área de estudio utilizando software ArcGIS® en su versión ArcMap 10.8. (figura 1).

La Asociación de Ganaderos de la Provincia Cercado, ASOCERCADO, forma parte de la cuenca lechera del departamento del Beni, en la cual se encuentran 13.939 cabezas (15), considerando como la unidad de muestreo las unidades productivas (lecherías), distribuidas en 4 zonas de la provincia Cercado, zona I que incluye lecherías de la carretera San Javier-San Pedro; zona II que incluye lecherías de la carretera Trinidad - San Javier, zona III incluye lecherías sobre la carretera Casarabe y El Carmen y zona IV lecherías sobre la carretera Sachojere, Puerto Almacén, Loma Suarez y Villa

Vecinal y El Cerrito, aplicando un diseño aleatorio mediante un método probabilístico, tomando en cuenta un mínimo de 10 animales en producción mayores de 2 años.

Figura 1. Mapa de ubicación de la provincia Cercado, dentro del departamento del Beni, en Bolivia



Fuente: Propia del autor.

Se implementó un muestreo aleatorio simple en lecherías de la región descrita y el tamaño de la muestra se determinó considerando la prevalencia esperada en 29 % (13) y un nivel de confianza del 95 % y asumiendo una precisión de ± 2.5 %, según la metodología previamente descrita (16).

De las 94 unidades productivas el tamaño de muestra resultó en 30 lecherías, la selección de las lecherías se realizó de forma aleatoria, a partir de una lista proporcionada por la Asociación de Lecheros Cercado, la distribución muestral y el tamaño de muestra se describe en el cuadro 1.

Cuadro 1. Selección y tamaño de muestra para las 4 zonas evaluadas

Localidad	N Lecherías	n Lecherías/ estrato	n Animales/ Lechería
Sachojere Izquierdo	8	2	26
Sachojere Derecho	10	3	39
Puerto Almacén	4	2	26
Loma Suarez	4	2	26
Villa Vecinal	2	1	13
Santa Cruz izquierdo	19	5	65
Santa Cruz derecho	31	9	117
Casarabe, El Carmen, El Cerrito	4	2	26
Trinidad San Javier	8	2	26
Trinidad San pedro	4	2	26
Total	94	30	390

Fuente: elaboración propia

Las muestras de sangre se recolectaron mediante venopunción de la vena coccígea seleccionada en cada lechería. Se siguieron las normativas y recomendaciones de la

Organización Mundial de Sanidad Animal (17) para la obtención y manipulación de muestras sanguíneas, previa autorización de la asociación de productores de leche de la provincia Cercado de Trinidad, ASOCERCADO.

Las muestras de suero se sometieron a la prueba de inmunodifusión en agar gel, siguiendo el protocolo descrito previamente (18), todas las muestras de suero fueron analizadas en el laboratorio PROVETSUR de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno, en los que se emplea un kit comercial, aprobado por Servicio Nacional de Sanidad Animal de Argentina (Exp. 41.285/87). El kit utiliza un suero positivo de referencia E4 diluido 1/10 y un suero negativo (19).

La prevalencia de la Leucosis Bovina se calculó como el número de animales seropositivos dividido por el total de animales evaluados. Se utilizaron análisis univariados y multivariados para describir las diferencias entre los grupos de ganado lechero categorizados según la seropositividad contra el virus de la Leucosis Bovina. Se efectuaron análisis univariados utilizando la estadística Chi-cuadrado de Pearson para predictores categóricos como Zona, Raza (Holstein-Friesian vs. otras) y estadística de índice de probabilidad para predictores continuos como Edad y Parto. y se emplearon intervalos de confianza del 95 %, considerando una probabilidad de $P < 0,05$. La bondad de ajuste del modelo se evaluó mediante la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow. El valor de P de la prueba más cercano a 1 indica un mejor ajuste. Todo el análisis estadístico se llevó a cabo utilizando software Epidat 3.1(20).

Resultados

Del total de animales evaluados, el 18,20 % reaccionaron como positivos (71/390), con IC95%: 14,25-22,16 (tabla 1). El número de vacas que se crían es variable entre las lecherías estudiadas (rango: 4-3628, mediana: 93). Se investigaron serológicamente muestras de sangre recolectada de 390 vacas lecheras, basándose en diferentes tamaños de muestra por granja (rango: 7-20, mediana: 20). El ganado lechero estudiado tenía una edad promedio de ocho años (rango: 3-14 años) y una mediana del número de partos de tres (rango: 0-9).

Tabla 1. Prevalencia de Leucosis Bovina en la cuenca lechera de la provincia Cercado de Trinidad

Zona	N	Prevalencia		I.C.95 %	
		n	%	Min.	Max.
Provincia cercado	390	71	18,2	14,25	22,16

Fuente: elaboración propia

Los resultados que se aprecian en la tabla 2, expresa la seropositividad a la Leucosis Bovina determinada en las vacas estudiadas y agrupadas de acuerdo a la zona a la que pertenecían; observando la mayor prevalencia en los animales de la Zona V con el 23,07 %, seguido de la Zona III con el 19,23 %, luego la Zona VI con 17,94 % y por último la Zona III con el 15,38 %.

Con relación a la raza, en la tabla 3, se pudieron identificar cinco grupos raciales: Criolla con el 20,79 %, Gyr Holando 20,51 %, Mestizas Holando 16,66 %, Pardo Suizo 18,64 % y Nelore con el 12,96 %, no se observó diferencia significativa ($P < 0,05$).

De acuerdo a la edad, la tabla 4, que las mismas fueron estratificadas en cinco grupos etarios, correspondiendo la mayor seroprevalencia a las del grupo de 5 a 6 años de

edad con el 21,21 %, seguidas de las del grupo de 6 a 7 años con 19,51 %, a las de más de 7 años les correspondió un 16,66 %, a las de 4 a 5 años el 12,50 % y las del grupo de 3 a 4 años no presentaron ningún animal positivo a la presencia de Leucosis Bovina.

Tabla 2. Seroprevalencia de leucosis bovina en la cuenca lechera de la provincia Cercado de Trinidad, Beni, según zona geográfica

ZONA	n	Positivo		I.C. 95 %	
		n	%	Min.	Max.
ZONA III 1	26	5	19,23	6,56	39,35
ZONA IV 2	26	4	15,38	4,36	34,87
ZONA V 3	26	6	23,07	8,97	43,65
ZONA VI 4	312	56	17,94	13,53	22,37
TOTAL	390	71	18,2	14,25	22,16

1 = Incluye lecherías sobre la carretera San Javier-San Pedro.

2 = Incluye lecherías sobre la carretera Trinidad - San Javier.

3 = Incluye lecherías sobre la carretera Casarabe, El Carmen.

4 = Incluye lecherías sobre la carretera Sajojere, Puerto Almacén, Loma Suarez y Villa Vecinal

Fuente: elaboración propia

Tabla 3. Seroprevalencia de Leucosis Bovina en la cuenca lechera de la provincia Cercado de Trinidad, Beni, Bolivia, según la raza.

RAZA	n	Positivos		I.C. 95 %	
		n	%	Min.	Max.
Criolla	101	21	20,79	12,38	29,2
Gyr holando	39	8	20,51	6,55	34,47
Mestizo holando	78	13	16,66	7,76	25,58
Pardo	118	22	18,64	11,19	26,09
Nelore	54	7	12,96	3,08	22,85
TOTAL	390	71	18,2	14,25	22,16

Fuente: elaboración propia

Tabla 4. Seroprevalencia de Leucosis Bovina en la cuenca lechera de la provincia Cercado de Trinidad, Beni, Bolivia, según la edad.

EDAD (años)	n	Positivo		I.C. 95%	
		n	%	Min.	Max.
3 a 4	18	0	0	0	18,53
4 a 5	56	7	12,5	2,94	22,05
5 a 6	198	42	21,21	15,27	27,16
6 a 7	82	16	19,51	10,33	28,7
>7	36	6	16,66	3,1	30,23
Total	390	71	18,2	14,25	22,16

Fuente: elaboración propia

En, la tabla 5 se evidencia la seroprevalencia de Leucosis Bovina y los animales provienen principalmente de otros establecimientos, siendo positivos en un 18,63 %.

Tabla 5. Seroprevalencia de Leucosis Bovina en la cuenca lechera de la provincia cercado de Trinidad, según procedencia

Procedencia	n	Positivos		I.C. 95%	
		n	%	Min.	Max.
Locales	84	14	16,67	8,1	25,23
Introducidas	306*	57	18,63	14,1	23,15
Total	390	71	18,2	14,25	22,16

*Vacas procedentes de Santa Cruz y otras localizaciones

Fuente: elaboración propia

Discusión

Al comparar nuestros resultados con los referenciales acerca de la seroprevalencia de Leucosis Viral Bovina, como el trabajo de Ruiz y col., 2009 (14) quienes determinaron el 27,81 % de positividad, resultado significativamente diferente a lo reportado en el presente estudio que de manera muy clara se encuentran por debajo de los encontrados fuera de nuestro país como dentro, atribuido probablemente a que la explotación lechera en nuestra región no se realiza con la característica de explotación intensiva como ocurre en el departamento de Santa Cruz.

Analizados estos resultados se pudo evidenciar que no existe diferencia significativa ($P < 0.05$), por lo que podemos indicar que la enfermedad se encuentra diseminada de manera natural en la cuenca lechera de la provincia Cercado, casi uniformemente, lo cual puede también deberse a la homogeneidad que presentan los establecimientos lecheros de todas las zonas estudiadas en cuanto a prácticas de manejo, sanidad, alimentación y otros aspectos inherentes a la explotación lechera en la zona.

Por tanto, además se puede deducir que en este caso no existe predilección alguna por determinado grupo racial para que la enfermedad se convierta en un problema por el factor raza, aunque no pasa desapercibido que la menor seroprevalencia correspondió al grupo racial de las vacas Nelore, que no es una raza especializada en producción lechera, razón por la cual estaríamos encontrando esta menor positividad como también indican los diversos autores acerca de la menor presentación en animales de producción de carne.

Los resultados nos conducen a deducir que la edad de los animales estudiados no es un factor predisponente para la presentación de la enfermedad de manera preferencial en alguno de los grupos de edad al que pertenecieron las vacas, ya que estadísticamente no presentan diferencia significativa. Sin embargo, se puede evidenciar de manera muy clara que los negativos, correspondió a las de menor edad, tal como indican los diferentes autores, sin que por ello podamos concluir de manera categórica que la edad de este grupo de vacas fue el factor intrínseco para que no se presente la enfermedad en ellas.

Cuando se tomó en cuenta la procedencia de los animales muestreados que se presentaron en la tabla 5, se puede evidenciar que la mayoría de las vacas provenían de otros establecimientos, principalmente de Santa Cruz de la Sierra, cuya cuenca lechera cuenta con animales de mayor especialización en este tipo de producción, ya que incluso en las lecherías de nuestro estudio existen en producción animal como las de raza Nelore, que también son integradas al plantel en producción sin que esa sea su aptitud. Sin embargo, tanto las vacas introducidas como las locales tuvieron un

comportamiento epidemiológico similar, pues las locales fueron positivas en el 16,67 % y las introducidas en el 18,63 % no obstante, no existe diferencia significativa entre ambos grupos para la seroprevalencia a la Leucosis Bovina en la zona estudiada, razón por la que podemos indicar que más bien la presencia de la enfermedad en la región se debe principalmente a las idénticas condiciones a las que son sometidas las vacas en la casi totalidad de los establecimientos estudiados.

Los resultados presentados constituyen la primera encuesta realizada para detectar anticuerpos contra el virus de la leucemia bovina en ganado lechero en el departamento del Beni. Durante el período abril-septiembre de 2011, la prevalencia individual observada de los anticuerpos en este estudio (18,20 %) fue ligeramente menor a la reportada por otros autores en países donde la infección por el virus de la leucemia bovina es endémica (2,7,8,13,14).

Referencias Bibliográficas.

1. Gutiérrez SE, Lützelshwab CM, Barrios CN, Juliarena MA. Leucosis bovina: una visión actualizada. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2020;31(3).
2. Polat M, Takeshima SN, Hosomichi K, Kim J, Miyasaka T, Yamada K, et al. A new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis. *Retrovirology*. 2016;13:4.
3. Aida Y, Murakami H, Takahashi M, Takeshima SN. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Front Microbiol*. 2013;4:328.
4. L. Willems Ab, D. Collete, O. Dangoisse, F. Dequiedt, J.S. Gatot, P. Kerkhofs, L. Lefèbvre, C. Merezak, T. Peremans, D. Portetelle, J.C. Twizere, and R. Kettmann. Genetic Determinants of Bovine Leukemia Virus Pathogenesis. *AIDS Research And Human Retroviruses*. 2000;16:1787–95.
5. Klintevall K. N;lislund G. Svedlundi LHNLaBK. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *Journal of Virology Methods*. 1991;33:11.
6. I Schwartz DL. Pathobiology of bovine leukemia virus. *Veterinary Research*. 1994;25:521-36.
7. Polat M, Takeshima SN, Aida Y. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. *Virol J*. 2017;14(1):209.
8. Marawan MA, Alouffi A, El Tokhy S, Badawy S, Shirani I, Dawood A, et al. Bovine Leukaemia Virus: Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective. *Viruses*. 2021;13(11).
9. Frie MC, Coussens PM. Bovine leukemia virus: a major silent threat to proper immune responses in cattle. *Vet Immunol Immunopathol*. 2015;163(3-4):103-14.
10. Gutierrez G, Alvarez I, Politzki R, Lomonaco M, Dus Santos MJ, Rondelli F, et al. Natural progression of Bovine Leukemia Virus infection in Argentinean dairy cattle. *Vet Microbiol*. 2011;151(3-4):255-63.
11. José Leonardo Carrero Rojas FAM, Adalberto Tarazona Suárez, Boris Marcelo Cepeda. 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*. 2008;5:6.
12. Benavides B, Monti G. Assessment of Natural Transmission of Bovine Leukemia Virus in Dairies from Southern Chile. *Animals (Basel)*. 2022;12(13).
 13. R. Lopez KS, E.T. Gonzalez, G. Ruiz, A. Loza, C. Coca, J.A.C. Pereira and M.R. Pecoraro. Seroprevalence Against Bovine Leukaemia Virus in Dairy Cattle in Bolivia. *International Journal of Dairy Science*. 2010;5:271-5.
 14. Ruiz G. SK, López R., Pereira J., Coca C., Loza A., Guzmán J., Pecoraro M., González T. Seroprevalencia de la leucosis enzootica bovina en las principales provincias de la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz, Bolivia. *Analecta Veterinaria*. 2010;30(ISSN 0365-5148):11-6.
 15. Estadística INd. BENI: Número De Cabezas De Ganado Bovino Por Años, Según Grupos De Edad Y Sexo, 1984 - 2022. *Enuestas, Censo Agropecuario y Reportes de SENASAG*; 2013.
 16. Stevenson MA. Sample Size Estimation in Veterinary Epidemiologic Research. *Front Vet Sci*. 2020;7:539573.
 17. Organización Mundial de Sanidad Animal OMSA. Leucosis bovina enzootica. 2018.
 18. Lim SI, Jeong W, Tark DS, Yang DK, Kweon CH. Agar gel immunodiffusion analysis using baculovirus-expressed recombinant bovine leukemia virus envelope glycoprotein (gp51/gp30(T-)). *J Vet Sci*. 2009;10(4):331-6.
 19. Larsen AES, María Soledad; Metz, Germán Ernesto; Echeverría, María Gabriela; Mórtola, Eduardo Carlos; González, T. Expresión recombinante de la proteína p24 del virus de la leucosis bovina para su aplicación en el inmunodiagnóstico In: *Veterinaria RdM*, editor. II Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria (AAIV) Rosario, 16 y 17 de julio de 20092010.
 20. Epidat. Epidat: programa para análisis epidemiológico de datos. In: Xunta de Galicia OPS/OMS, version. 3.1 ed. 2016.