



## Virus de la leucemia bovina: características generales, prevalencia en América del Sur e impacto en la salud animal y humana

Brasso, N.<sup>1,2</sup> ; Fuentealba, N.A.<sup>1,2</sup> ; Bravi, M.E.<sup>1,2</sup> ; Panei, C.J.<sup>1,2</sup> \*

<sup>1</sup>Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), 60 y 118, La Plata, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290 (C1425FQB) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

✉ javierpanei@fcv.unlp.edu.ar

### Resumen

El virus de la leucemia bovina (VLB), pertenece a la familia *Retroviridae* y es el agente causal de la leucosis enzoótica bovina (LEB). Esta enfermedad produce grandes pérdidas económicas en los rebaños tanto de manera directa como indirecta. Su transmisión puede ser horizontal, mediante el contacto con fluidos infectados como sangre, o vertical por vía intrauterina y/o por consumo de calostro en los neonatos. Para la detección de la LEB, la Organización Mundial de Salud Animal recomienda la utilización de pruebas serológicas como el inmunoensayo ligado a una enzima (ELISA) y la doble inmunodifusión en gel de agar (IDGA), como también las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que detecta un segmento de ADN proviral en el animal infectado. El VLB se encuentra presente en numerosos países, con una prevalencia de hasta el 90% de los rebaños en zonas endémicas como Europa del Este, varios países de Asia y América del Sur. Se reportaron once genotipos del VLB circulantes a nivel mundial. Se encuentra en discusión el potencial oncogénico del virus en humanos debido a la reciente detección de ADN proviral en muestras de sangre y tejido mamario de pacientes con adenocarcinoma. Sin embargo, la relación entre esta virosis y la presencia de tumores aún no es concluyente. La elección de las medidas preventivas para esta enfermedad basadas en selección, eliminación y buenas prácticas de manejo, dependen de la prevalencia de la misma en cada región. A pesar de que no existen vacunas comerciales contra esta enfermedad, las mismas se encuentran en vías de desarrollo en Argentina. La LEB es una de las enfermedades bovinas más importantes en nuestro país, y su estudio continuo y sistemático permite a los organismos oficiales tomar medidas sanitarias con el fin de disminuir la prevalencia de esta virosis.

**Palabras clave:** leucosis enzoótica bovina, sanidad, prevalencia, genotipos

## Bovine leukemia virus: general characteristics, viral prevalence in South America and its impact on animal and human health

**Abstract.** Bovine leukemia virus (VLB) is a member of the *Retroviridae* family and the causative agent of enzootic bovine leukosis (EBL). This disease leads to economic losses in cattle herds and is transmitted horizontally through contact with infected fluids, such as blood, or vertically via in utero transmission and/or colostrum consumption by newborn calves. For EBL detection, the World Organisation for Animal Health recommends serological tests such as enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and agar gel immunodiffusion (AGID), as well as polymerase chain reaction (PCR) tests, which detects proviral DNA segments in infected animals. VLB is prevalent in numerous countries, with herd prevalence reaching up to 90% in endemic areas such as Eastern Europe, several Asian countries, and South America. To date, eleven circulating genotypes have been reported worldwide. Recent findings have raised concerns regarding the oncogenic potential of VLB in humans due to the detection of proviral DNA in blood and breast tissue samples with adenocarcinoma. However, the association between VLB infection and tumor development remains inconclusive. Preventive measures, including selective culling, eradication programs, and improved management practices, depend on the regional prevalence of the disease. Although no commercial vaccines are currently available, vaccine development efforts are underway in Argentina. EBL remains one of the most critical bovine diseases in the country, and continuous, systematic research in collaboration with government agencies is essential for implementing sanitary measures aimed at reducing the prevalence of this viral infection.

**Key words:** enzootic bovine leukosis, animal health, prevalence, genotype.

## INTRODUCCIÓN

El virus de la leucemia bovina (VLB), pertenece a la familia *Retroviridae*, Subfamilia *Orthoretrovirinae*, género *Deltaretrovirus*. Este género también incluye a los virus linfotrópicos de células T humano tipo I y tipo II, (HTLV I and II, por sus siglas en inglés: *Human T-Lymphocyte Virus type I and II*) (Meertens et al. 2002). El VLB es el agente causal de la Leucosis enzoótica bovina (LEB), que es la enfermedad neoplásica más común en los bovinos (Aida et al. 2013), El virus afecta naturalmente a bovinos, búfalos de agua y cebúes, y también puede transmitirse de forma experimental a cabras, ovejas, alpacas, cerdos, ratas, conejos entre otras especies, sin embargo, sólo produce leucemia y/o linfoma en bovinos y ovejas (Bai et al. 2019).

El VLB posee un genoma de ARN diploide de 8.714 nucleótidos, que está constituido por los genes estructurales clásicos de los retrovirus (*gag*, *pol* y *env*) y por los genes reguladores que se encuentran localizados en la región pX, y codifican para la síntesis de las proteínas regulatorias virales (*tax*, *rex*, *r3* y *g4*). Dentro del ciclo de replicación viral, una vez que se pierde la envoltura, la transcriptasa reversa (RT) transcribe el ARN viral a ADN de doble cadena. Esta copia de ADN es transportada al núcleo e integrada en el genoma de la célula huésped mediante la enzima integrasa. El ADN viral integrado al ADN de la célula huésped se denomina provirus y se caracteriza por ser estable pudiendo ser transcrito por la maquinaria de la célula huésped. Este provirus se encuentra flanqueado (5' y 3') por secuencias repetidas llamadas: Repeticiones Terminales Largas (LTR- *long terminal repeat*). Por lo tanto, la secuencia genómica completa estaría formada de la siguiente manera: LTR - *gag* - *pol* - pX - *env* - LTR (Donnik et al. 2017). Estas LTR se dividen en 3 regiones denominadas U3, R y U5. El gen *gag* se traduce como una poliproteína precursora denominada Pr44, que se escinde en tres proteínas maduras: p15 matriz (MA), p24 cápside (CA) y p12 nucleocápside (NC) (Sagata et al. 1984, Hamard-Peron et al. 2011). Los genes *pro* y *pol* codifican para proteasas (Pro) p14, transcriptasa inversa (RT) y p80 integrasa (Sagata et al. 1984, Gillet et al. 2007).

Por otro lado, el gen *env* codifica para un precursor llamado precursor Pr72 que genera después de la escisión, dos glicoproteínas de envoltura: la gp51 de superficie (SU) y la gp30 de transmembrana (TM) (Sagata et al. 1984). La glicoproteína Env gp51 tiene un papel esencial ya que se requiere para el ingreso del virus a la célula huésped y es el blanco de los anticuerpos neutralizantes (Johnston et al. 2000). Esta región se ha utilizado para estudios de genotipo y estudios filogenéticos recientes a partir de cepas virales aisladas en todo el mundo demuestran que el VLB se puede clasificar en 11 genotipos diferentes (LE et al. 2020). La región de los genes reguladores o pX codifica para las proteínas Tax (p34) y Rex (p18), y para las proteínas accesorias R3 (p5) y G4 (p11). La p34 jugaría un papel crítico en la leucemogénesis inducida por el virus (Willems et al. 1990), mientras que la proteína p18 es la responsable de la exportación nuclear de ARN viral y de promover la actividad citoplasmática de acumulación y traducción de ARN mensajero viral en células infectadas. Las proteínas p5 y p11 contribuyen al mantenimiento de una carga viral

alta (Willems et al. 1994, Florins et al. 2007). Los análisis de secuencias correspondientes a la región pX en bovinos infectados naturalmente que presentaban los tres estadios de la enfermedad, no evidenciaron sustituciones relevantes que permitan diferenciar estos estados (Panei et al. 2013a).

La LEB es una de las enfermedades infecciosas de distribución mundial con mayor incidencia en las explotaciones lecheras, en gran medida debido al hacinamiento de los animales y las diferentes prácticas veterinarias que facilitan la transmisión viral. La LEB ha sido erradicada en varios países europeos (Righi et al. 2021). Sin embargo, un aumento en las prevalencias de la enfermedad han sido reportados en varios países, entre ellos Argentina, Brasil, Canadá (Nekouei et al. 2015), Japón (Murakami et al. 2013) y Estados Unidos (LaDronka et al. 2018). La importancia de esta enfermedad radica en que genera grandes pérdidas económicas, provocando de manera directa la muerte de animales de producción por leucemia/linfosarcoma, o la eliminación prematura de los mismos y restricciones en el comercio internacional de bovinos y de material genético positivos. Por otro lado, las pérdidas económicas indirectas incluyen el reemplazo del animal en producción, diagnóstico y atención veterinaria, aumento del intervalo entre partos y mayor número de servicios por concepción, pérdida de terneros y baja en la producción de leche durante aproximadamente 10 meses (estimando un 1,5% por vaca/año) (Norby et al. 2016), equivalente a una pérdida de 11.000 kg por animal en su vida productiva (Nekouei et al. 2016).

Otro de los efectos negativos es la disminución en la calidad de la leche debido al aumento en el recuento de células somáticas, lo cual sucede especialmente en vacas con más de cuatro lactancias. Este aumento es un indicador de mastitis clínica y subclínica, las que se asocian a una menor producción láctea, leche con mayor carga bacteriana y menor porcentaje de grasa y caseína, menor producción y calidad de quesos, y menor tiempo de conservación de los productos lácteos (Yang et al. 2016). Al producirse la infección con el virus la mayoría de los animales son asintomáticos (70%) y presentan un número estable de linfocitos B en sangre, mientras que un 25% demuestra un aumento sostenido de linfocitos B, denominado linfocitosis persistente (LP). Los LP se produce como resultado de una proliferación de linfocitos B y una disminución en la apoptosis de dichas células infectadas. Por otro lado, menos del 5% manifiesta la presencia de linfomas en diversos órganos luego de varios años de infección (Juliarena et al. 2017).

El objetivo de este trabajo es abordar las características generales del VLB, su mecanismo de transmisión, patogenia y analizar las prevalencias en América del Sur, su impacto en la salud animal y su posible impacto en la salud humana, considerando los aspectos productivos en bovinos, promoviendo estrategias de control y prevención efectivas.

**Replicación del VLB.** El ciclo de replicación del VLB es similar al de otros retrovirus. Sus células blanco son los linfocitos B aunque también puede infectar otras células presentadoras de antígenos como los macrófagos y las células dendríticas (Tajima et al. 2002) como también

granulocitos (Panei et al. 2013b). En primer lugar se lleva a cabo una interacción entre las proteínas de la cubierta viral y los receptores celulares que permiten la posterior liberación de la nucleocápside en el citoplasma de la célula (Coffin et al. 1997). Varios receptores celulares han sido propuesto como blanco del VLB, AP3D1 (adaptor-related protein complex-3) y CAT1/SLC7A1 (cationic amino acid transporter-1/solute carrier family 7 member 1) (Olaya-Galán et al. 2022), sin embargo CAT/SLC7A1 demostró ser un receptor para la infección viral (Bai et al. 2019). Una vez que se produce este paso, el ARN viral se transcribe a ADN de doble cadena mediante la enzima transcriptasa reversa (RT). La RT se inicia mediante la unión del ARNt perteneciente a la célula huésped, al sitio de unión del cebador en el ARN viral (*PBS-primer binding site*). La síntesis de ADN se extiende desde el ARNt hasta el extremo 5' del molde de ARN viral, copiando así la región U5 y R en ese extremo. Asimismo, debido a la actividad ARNasa H de la RT, se produce la degradación del ARN molde que fue copiado, con la excepción de la región PBS que está protegida por la unión del ARNt. La corta cadena negativa de ADN generada todavía contiene el ARNt en su extremo 5', y se alinea por su extremo R con su complementario R 3' del ARN viral, continuando con la síntesis del ADN. La cadena de ARN molde restante se termina de degradar, manteniendo solamente el tracto de polipurina (*PPT-polypurine tract*), resistente a la ARNasa, que servirá como cebador para la síntesis de la cadena positiva de ADN. El ARNt de la cadena negativa de ADN se escinde, mientras se copia la región PBS y se produce la circularización de esta cadena. Además se produce la pérdida del PPT en el extremo 5' de la nueva cadena positiva de ADN, lo que permite que la síntesis de ADN de ambas cadenas se complete. El resultado final de esta síntesis es un complejo de pre integración de ADN bicatenario, con elementos de repetición terminal larga (LTR) idénticos y redundantes (U3-R-U5) en ambos extremos (5' y 3') (Brenner y Malech 2003). Esta copia de ADN es transportada al núcleo e integrada al genoma de la célula huésped mediante la enzima integrasa, a lo que se denomina "provirus" y se caracteriza por ser estable pudiendo ser transcrito por la maquinaria celular. La transcripción del provirus conduce a la producción, por una parte, de ARN genómico necesario para la formación de nuevos virus y por otra parte, de los ARN mensajeros para la síntesis de proteínas estructurales y proteínas regulatorias virales. La traducción tiene lugar en los ribosomas de las células. Después de una etapa de maduración en el retículo endoplasmático rugoso, algunas proteínas son glicosiladas en las vesículas del aparato de Golgi. Posteriormente todos los componentes virales se ensamblan formando nuevas partículas que se liberan de la célula huésped por gemación a través de la membrana celular y pueden infectar nuevas células. Otra vía de replicación del VLB es la mitótica, donde el virus integrado (provirus) en el linfocito B multiplica su genoma durante la expansión clonal de esta célula blanco (Florins et al. 2007).

**Relación entre carga y transmisión viral.** Los bovinos infectados con VLB pueden tener un número variable de provirus integrado en su célula blanco. Los animales con LP poseen entre un 25% a 35% de

los linfocitos circulantes con el provirus integrado. En vacas sin linfocitosis (AL), sólo el 5% de los linfocitos circulantes tienen provirus integrados. Aún no está claro si la carga proviral (CPV) de un animal infectado permanece constante una vez establecida la infección (Merlini et al. 2016). No obstante, el ganado infectado con VLB con una alta carga proviral (ACPV) tiene más probabilidades de desarrollar LP, progresar a leucemia o ambas (Kobayashi et al. 2019). El ganado también puede tener una ACPV y un recuento de linfocitos normal, sin embargo, es probable que el ganado con LP tenga una CPV más alta que aquellos con un recuento de glóbulos blancos normal (Juliarena et al. 2007). Por lo tanto, estos animales con ACPV y aumento de recuento de linfocitos necesitarán menor volumen sanguíneo para infectar a otro animal. La principal vía de transmisión del virus es la horizontal, ya sea en forma natural o iatrogénica. Los fluidos que contienen linfocitos infectados como sangre, leche u otra secreción, pueden transmitir la infección viral al entrar en contacto con las membranas mucosas o tejidos lesionados de los animales (Hopkins y DiGiacomo 1997). Dentro de las maniobras que se consideran factores de riesgo, debido a una posible contaminación sanguínea, se encuentran la reutilización de material como agujas y jeringas entre animales (Erskine et al. 2012, Ramírez Vásquez et al. 2016), al igual que la realización de tatuajes y descornado (Kobayashi et al. 2010, Erskine et al. 2012). Otra posible vía de transmisión horizontal es a través de insectos hematófagos, lo cual ha sido comprobado bajo condiciones experimentales con tábanos, mosca de los establos y mosca de los cuernos (Ooshiro et al. 2013, Panei et al. 2019). Aunque el papel de las moscas en la transmisión del VLB continúa sin arrojar respuestas definitivas, las tasas de seroconversión del VLB en las granjas lecheras y de carne disminuyeron cuando se implementaron medidas para disminuir el número de moscas hematofagas (Ooshiro et al. 2013, Kohara et al. 2018).

Por otro lado, la reproducción natural del ganado lechero se asoció con una mayor prevalencia del VLB dentro del rebaño (Erskine et al. 2012). Se logró detectar al VLB tanto en semen (Sharifzadeh et al. 2011, Asadpour y Jafari 2012, Khamesipour et al. 2013) como en esmegma de toros (Benitez et al. 2019a), lo que implica un potencial riesgo de transmisión viral durante la reproducción natural. Sin embargo, los toros reproductores con BCPV no pudieron transmitir al VLB (Mekata et al. 2018, Benitez et al. 2019b), comparados con aquellos animales que tenían ACPV (Mekata et al. 2018). En base a estos hallazgos, se podría considerar a la reproducción natural como posible vía de transmisión del VLB; aunque no está esclarecido si el virus puede ser transmitido a través del semen o la infección podría deberse a microabrasiones de la mucosa genital, dependiendo de las cargas provirales en los toros. La otra vía de transmisión es la vertical, que sucede vía calostro/leche y por vía intrauterina (Kirkbride 1992). La carga proviral de VLB en una vaca influye en la tasa de transmisión a su cría. Aquellas vacas con ACPV (>400 copias/10 ng de ADN o >3000 copias/50 ng de ADN) tienen más probabilidad de transmitir VLB a sus terneros, que aquellas con BCPV (< 400 copias/10 ng de ADN o ≤10 copias/50 ng de ADN).

## DIAGNÓSTICO VIRAL

La Organización Mundial de Salud Animal (OMSA) recomienda como pruebas serológicas el Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzima (ELISA) y la Inmunodifusión en Gel de Agar (AGID) para la detección de anticuerpos contra el VLB, mientras que como prueba molecular recomienda el uso de la *nested* PCR para la detección de un segmento específico del gen *env* viral (OMSA 2018). La última técnica mencionada es un método específico y confiable que se puede utilizar para detectar VLB en terneros jóvenes que han sido alimentados con calostro de vacas seropositivas; diferenciar entre linfomas esporádicos e infecciosos (enzoóticos) en tejidos tumorales recogidos de casos sospechosos en mataderos, en infecciones recientes antes del desarrollo de anticuerpos; como control cuando los resultados de ELISA son dudosos o muestran reacciones positivas débiles; y para la vigilancia de toros en pruebas de descendencia antes de su uso en centros de inseminación artificial (OMSA 2018). La PCR en tiempo real cuantitativa (real time qPCR) es un método de confirmación, de alta sensibilidad, para la detección de carga proviral de VLB en ganado infectado, permitiendo además definir resultados no concluyentes de las pruebas serológicas (Rola-Łuszczak et al. 2013). La real time qPCR permite clasificar a los animales en alta y baja carga proviral además de detectar genoma viral en muestras de leche y de subproductos lácteos (Petersen et al. 2018). Una PCR cuantitativa denominada qPCR de coordinación de motivos comunes del VLB (VLB-CoCoMo-qPCR) es un variante de la PCR en tiempo real, específica y sensible que se puede utilizar para detectar VLB en muestras que tuvieron resultados negativos en pruebas de *nested* PCR (Jimba et al. 2012). Esta técnica también se puede utilizar para medir la carga proviral de VLB de variantes conocidas como novedosas y para demostrar la correlación entre la carga proviral del VLB y la progresión de la enfermedad (Panei et al. 2013a). Otras de las técnicas moleculares para la detección del VLB es la digital droplet PCR (ddPCR), la cual es capaz de detectar un número significativamente mayor de números de copias de virus que la qPCR, lo que se puede explicar por la mayor sensibilidad y resistencia a los inhibidores. Esta técnica puede ser una ventaja importante en el control de VLB si pretendemos utilizar muestras de

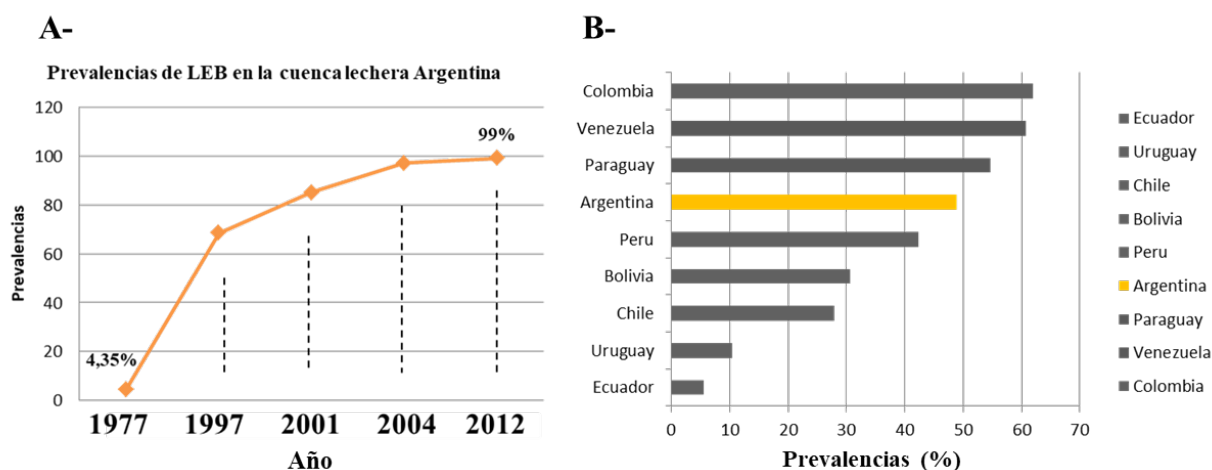
fácil acceso como la leche tanque a granel o individual (De Brun et al. 2022).

## PREVALENCIA EN AMÉRICA DEL SUR

El VLB continúa presente en numerosos países, con una prevalencia de hasta el 90% de los rebaños en zonas endémicas como Europa del Este, América del Sur y varios países asiáticos (Polat et al. 2017). La LEB fue detectada por primera vez en América del sur en el año 1943 (D'Angelino et al. 1998). En Argentina los primeros relevamientos serológicos de la LEB se realizaron entre los años 1979 y 1981 en la cuenca lechera Mar y Sierras ubicada en Tandil, encontrando solo que un 4,35% de los rodeos se encontraban infectados, y años más tarde este porcentaje se incrementó a un 68,5% (Ghezzi et al. 1997). La rápida diseminación del VLB también se vio reflejada en el resto de las cuencas lecheras argentinas. Entre los años 2018 y 2019 se llevó a cabo un muestreo en el departamento de Iriondo de la provincia de Santa Fe, donde se obtuvo como resultado una prevalencia del 79,1% de la enfermedad (Luciani et al. 2022). En la zona sur de la provincia de Córdoba se reportó una prevalencia del 78%, distinguiendo un 91% en la categoría vacas y un 69% en la categoría de vaquillonas (Maciò et al. 2019).

Por otro lado, mediante un estudio transversal del ganado bovino realizado en 13 provincias de Argentina entre los años 2019 y 2020, se evidenció que la prevalencia de infección por VLB en hatos de carne es de un 71,05% a nivel establecimiento, lo que representó al menos un aumento de siete veces con respecto a lo reportado anteriormente para el ganado de carne en el país. Asimismo, 11 de las 13 provincias evaluadas tenían más del 50% de los establecimientos infectados con VLB. Al evaluar a nivel animal se obtuvo una seroprevalencia media de 7,23%, ya que 413 de los 5.827 animales analizados fueron positivos para VLB (Porta et al. 2023).

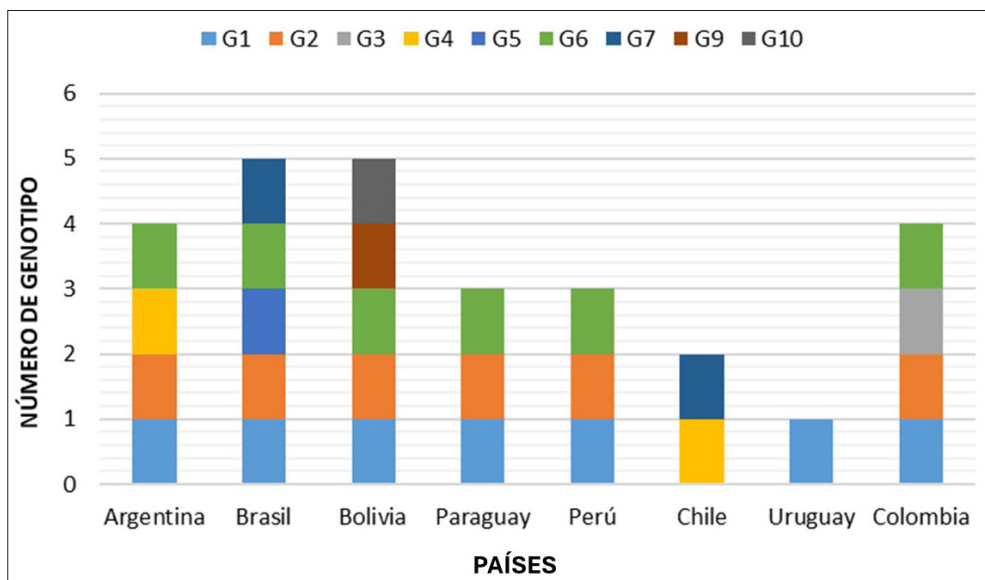
En otros países de América del Sur se encontraron prevalencias a nivel individual tales como 62% en Colombia, (Corredor-Figueroa et al. 2020), 60,83% en Venezuela (Nava et al. 2011), 54,70% en Paraguay (Cordero-Pulido et al. 2023), 42,30% en Perú (Polat et al. 2016), 30,70% en Bolivia, 27,90% en Chile, 10,4% en Uruguay (Furtado et al. 2013) y 5,6% en Ecuador (Bonifaz et al. 2012). Mientras que se encontró a nivel rebaño un porcentaje de 60,80% en Brasil (Cordero-Pulido et al. 2023) (Figura 1).



**Figura 1.** A) Evolución de la prevalencia de LEB en la cuenca lechera de Argentina; B) Prevalencia de VLB en América del Sur.

Once genotipos de VLB fueron detectados a nivel mundial (LE et al. 2020), en América del Sur, se realizaron análisis filogenéticos del genoma completo y secuencias parciales del gen *env* en los que se demostró la presencia de los genotipos 1, 2, 5, 6 y 7 en Brasil (Camargos et al. 2002, 2007), 1, 2, 3 y 6 en Colombia (Mendoza et al. 2024), mientras que se confirmó la presencia de los genotipos 1, 2, 4 y 6 en Argentina (Monti et al. 2005, Licursi 2003, Rodríguez et al. 2011). También se informó la infección por

VLB en Perú, Chile y Uruguay, detectando los genotipos 1, 2 y 6 en Perú, los genotipos 4 y 7 en Chile, y en Uruguay el genotipo 1. Por otro lado, en Paraguay se determinó la presencia de los genotipos 1, 6 y el 2, y en Bolivia los genotipos 1, 2, 6, 9 y 10 (Polat et al. 2016). Este estudio reveló una distribución generalizada y alta prevalencia de VLB en cinco países de la región de América del Sur en los que se incluye Perú, Chile, Argentina, Paraguay y Bolivia (Figura 2).



**Figura 2:** Genotipos de VLB circulantes en América del Sur.

### ESTRATEGIAS EN LA PREVENCIÓN Y CONTROL DEL VLB

La elección de la estrategia a utilizar dependerá de la prevalencia de la enfermedad en cada región. Por ejemplo, en Europa, donde la prevalencia de la infección por VLB es baja, se implementan con éxito políticas de testeo de todos los animales y sacrificio de aquellos que resultan positivos, junto con una vigilancia continua de la enfermedad para evitar así su ingreso a los establecimientos libres. En Argentina, donde existen altas prevalencias de la enfermedad, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) implementó bajo la resolución N° 337/94 un “Sistema de Certificación de Establecimientos Oficialmente Libres de Leucosis Enzoótica Bovina”; el cual es voluntario para todos los productores ganaderos que deseen incorporar sus rodeos. El esquema de certificación se inicia con el diagnóstico de la situación inicial del predio de forma periódica a la totalidad de los bovinos (vacas, vaquillonas, terneros, toros y novillos) mayores de seis meses de edad, mediante la prueba de AGID. Si se obtienen resultados negativos para el establecimiento, se realiza un segundo análisis dentro de un intervalo de 60 o 90 días, y si el resultado nuevamente es negativo, el establecimiento es considerado oficialmente libre de LEB. Estos predios además deben incorporarse a un plan de vigilancia e implementación de estrictas medidas sanitarias. Por otra parte, los establecimientos que resultaron positivos en el diagnóstico inicial, ingresan a la categoría de infectados teniendo como opción dos alternativas, por un lado la eliminación de los animales positivos o por otro lado la realización de un plan de saneamiento donde se los agrupa

en 3 categorías según el índice de infección que presenten: categoría A (1-15% de positivos), B (16-30% de positivos) y C (mayor a 30% de positivos). El objetivo es pasar a la categoría siguiente de menor índice de infección a través de la implementación de diversas prácticas que se enumeran a continuación:

- 1- Eliminación de los animales con mayor posibilidad de transmitir el virus, por ejemplo, aquellos con ACPV.
- 2- Segregación de positivos y su manejo aislado del resto del rodeo.
- 3- Reposición de animales provenientes de vacas negativas a VLB.
- 4- Intensificación del uso de inseminación artificial con semen de animales negativos.
- 5- Uso de agujas y jeringas descartables para cualquier práctica veterinaria.
- 6- Esterilizar el material quirúrgico y otros instrumentos de uso en el predio entre cada intervención.
- 7- Control de la población de insectos hematófagos.
- 8- Utilizar calostro y leche de vacas negativas para la crianza artificial de los terneros.
- 9- Evaluar el rodeo al menos cada 3 meses mediante pruebas serológicas durante 1 año para eliminar los animales reactivos.

Una estrategia práctica y económica para abordar el examen de un rodeo es investigar la presencia de anticuerpos contra el VLB en pool de leche utilizando el ELISA m108, que se basa en el bloqueo del epítipo conformacional de la glicoproteína gp51 de la envoltura del VLB por parte de los anticuerpos presentes en las

muestras de leche (Mariño et al. 2005). Si el resultado es negativo, la prevalencia de infección es inferior al 5%, siendo posible el control. Con estos resultados se deberían muestrear individualmente todos los animales y aquellos que se detecten infectados eliminarlos inmediatamente. Si el resultado del examen del pool de leches es positivo, se establece una prevalencia de infección igual o mayor al 5%, por lo que en este caso se puede determinar la prevalencia aproximada sobre muestras individuales de suero o leche del 10% de la población. Hasta el momento, no existen vacunas comerciales disponibles para prevenir la infección por VLB. Sin embargo, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y la Universidad de Liege (Bélgica) se encuentran desarrollando una vacuna para el control del VLB, utilizando una cepa viral atenuada, que fue creada por modificación genética de la cepa natural circulante. La misma se encuentra todavía en etapa de experimentación (Abdala et al. 2019, Suarez Archilla et al. 2022).

## RELACIÓN ENTRE EL CÁNCER MAMARIO EN HUMANOS Y DETECCIÓN DE ADN PROVIRAL DEL VLB

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), ciertos factores aumentan el riesgo de desarrollar cáncer de mama, entre ellos, la edad avanzada, la obesidad, el consumo de alcohol, los antecedentes familiares de cáncer de mama, los antecedentes de exposición a la radiación, entre otros. Sin embargo, algunos agentes virales podrían estar también involucrados en este tipo de cáncer por su potencial oncogénico, como el virus del tumor mamario de ratón, el virus del papiloma humano y el virus de Epstein-Barr. Recientemente, el VLB también podría incluirse en esta lista de agentes virales. La detección viral en muestras de cáncer de mama es extremadamente difícil porque la proporción de ácidos nucleicos virales en estas muestras suele ser muy pequeña en comparación con el material genético derivado del huésped. El tipo de célula infectada puede constituir solo una pequeña fracción de la muestra y además pueden contener un número relativamente bajo de copias del genoma viral. El MMTV y el VLB son retrovirus y poseen genomas que rara vez superan los 10-12 kb y, por lo tanto, constituyen una fracción menor del genoma de la célula infectada (Lawson et al. 2018). A pesar de esto, el ADN proviral fue detectado en tejido mamario de humanos en diferentes países, entre ellos, un 80% en Australia (Buehring et al. 2017), 59% en USA (Buehring et al. 2015), 35,8% en Colombia (Mesa et al. 2013), 30,5% en el sur de Brasil (Schwingel et al. 2019), y 22,6% en Argentina (Ceriani et al. 2018). También el ADN proviral fue detectado en sangre (Buehring et al. 2019a). Sin embargo, hasta el momento la relación entre esta virosis y el tumor mamario en humanos no es concluyente (Yamanaka et al. 2022).

Actualmente, se desconoce la vía de transmisión del VLB hacia los seres humanos, y es un punto que se considera de vital importancia poder esclarecer, para una mayor comprensión de la gravedad que podría implicar este virus y su potencial riesgo zoonótico, así como también, para poder establecer medidas de prevención y eliminación de la enfermedad. En el caso del VLB, los científicos aún no han identificado el receptor, pero se cree que es la subunidad

δ del complejo de proteína adaptadora bovina 3 (AP-3) (Suzuki et al. 2018). En los humanos existen cuatro tipos de complejos AP que están ampliamente distribuidos en el organismo y tienen un papel importante en el transporte intracelular (Robinson et al. 2001). La existencia de un homólogo humano del receptor del VLB bovino significa que existe la posibilidad de que el VLB pueda infectar a esta especie. Se considera que una posible vía de transmisión podrían ser los alimentos, y que la circulación de células sanguíneas infectadas con VLB podrían transportarlo a otros órganos para una posterior génesis del cáncer (Gao et al. 2020). Existe una correlación entre el consumo de carne y leche bovina, y el cáncer de mama. Los países con un alto consumo de estos productos tienen una mayor prevalencia de cáncer de mama que países como China o India que consumen menos productos de origen bovino (Lawson et al. 2018). A su vez el mecanismo de acción del virus dentro de las células humanas no está claro. Se conoce que el VLB contiene un oncogén que codifica la proteína Tax, que provoca una deficiencia en los mecanismos de reparación del ADN, previene la apoptosis e inhibe los supresores tumorales. Este gen Tax se encuentra dentro de la región pX entre el gen *env* y una de las repeticiones terminales largas (LTR) (Aida et al. 2013). Varios autores reportan que la presencia de VLB en el epitelio mamario es un factor de riesgo mayor para el cáncer de mama que muchos otros factores (Buehring et al. 2019b). Los únicos dos factores de riesgo que los autores clasificaron de mayor gravedad fueron la presencia de los genes BRCA1 y BRCA2 y la exposición a radiación ionizante. Por otro lado, se encontró que la sobreexpresión de marcadores de proliferación celular, KI67 y HER2, están asociados con la presencia del virus en tejidos mamaros malignos de pacientes argentinos y se concluyó que el daño observado en el ADN de dichas células, incluidas las mutaciones impulsoras, podría haberse iniciado por la inhibición de la reparación del ADN producida por la infección por VLB (Buehring et al. 2018).

## CONCLUSIÓN

El VLB representa un problema significativo en América del Sur, donde la prevalencia supera en algunos países el 40%. Estos valores ponen de manifiesto la necesidad de implementar programas continuos de control más efectivos. Aunque el virus tiene un impacto directo en la producción bovina, como disminución de la productividad y mayores costos veterinarios, su potencial rol zoonótico está siendo objeto de investigación. A pesar de que la OMSA considera que el VLB no implica un riesgo para la salud humana, evidencias preliminares sugieren posibles asociaciones entre este y la aparición de tumores mamaros en los seres humanos, sin embargo, hasta el momento no se ha logrado establecer una relación causal definitiva. Esta revisión no solo menciona las características generales del VLB, destacando la importancia de priorizar distintas estrategias de prevención y control viral para disminuir las prevalencias de la LEB en la región, sino que también resalta la necesidad de continuar con la investigación sobre el posible impacto zoonótico de esta virosis.

## ORCID

Brasso, N.  <https://orcid.org/0009-0008-2028-8458>  
 Fuentealba, N.  <https://orcid.org/0000-0002-4623-8650>  
 Bravi, M.E.  <https://orcid.org/0000-0002-3748-5166>  
 Panei, C.J.  <https://orcid.org/0000-0002-4029-8484>

## REFERENCIAS

- Abdala A, Alvarez I, Brossel H, Calvinho L, Carignano H, Franco L, Gazon H, Gillissen C, Hamaidia M, Hoyos C, Jacques JR, Joris T, Laval F, Petersen M, Porquet F, Porta N, Ruiz V, Safari R, Suárez Archilla G, Trono K, Willems L. VLB: lessons on vaccine development. *Retrovirology*. 2019; 16(1): 26.
- Aida Y, Murakami H, Takagashi 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.
- Asadpour R, Jafari R. Detection of bovine leukosis provirus in blood and semen samples of bulls. *Comp. Clin. Pathol.* 2012; 21: 187-191.
- Bai L, Sato H, Kubo Y, Wada S, Aida Y. CAT1/SLC7A1 acts as a cellular receptor for bovine leukemia virus infection. *FASEB J.* 2019; 33(12): 14516-14527.
- Benitez OJ, Roberts JN, Norby B, Bartlett PC, Maeroff JE, Grooms DL. Lack of Bovine leukemia virus transmission during natural breeding of cattle. *Theriogenology*. 2019a; 126: 187-190.
- Benitez OJ, Roberts JN, Norby B, Bartlett PC, Takeshima SN, Watanuki S, Aida Y, Grooms DL. Breeding bulls as a potential source of bovine leukemia virus transmission in beef herds. *J Am Vet Med Assoc.* 2019b.; 254(11): 1335-1340.
- Bonifaz N, Ulcuango F. Prevalencia de leucosis bovina en la comunidad Santo Domingo n° 1, Cayambe-Ecuador. *La Granja Rev. De Cienc. De La Vida.* 2012. 22: 33-39
- Brenner S, Malech HL. Current developments in the design of onco-retrovirus and lentivirus vector systems for hematopoietic cell gene therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2003; 1640(1): 1-24.
- Buehring GC, Shen HM, Jensen HM, Jin DL, Hudes M, Block G. Exposure to Bovine Leukemia Virus Is Associated with Breast Cancer: A Case-Control Study. *PLoS One.* 2015; 10(9): e0134304.
- Buehring GC, Shen H, Schwartz DA, Lawson JS. Bovine leukemia virus linked to breast cancer in Australian women and identified before breast cancer development. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0179367.
- Buehring GC, Shen H, Baltzell K, Sison J, Krishnamurthy S, Lendez P, Matinez-Cuesta, L, Nieto-Farias, MV, Dolcini, GL, Ceriani, MC. Abstract B30: Bovine leukemia virus in breast tissue linked to increased cell proliferation and breast cancer risk. *Mol Cancer Res* 2018; 16(8\_Supplement): B30.
- Buehring GC, DeLaney A, Shen H, Chu DL, Razavian N, Schwartz DA, Demkovich ZR, Bates MN. Bovine leukemia virus discovered in human blood. *BMC Infect Dis.* 2019a; 19(1): 297.
- Buehring GC, Sans HM. Breast Cancer Gone Viral? Review of Possible Role of Bovine Leukemia Virus in Breast Cancer, and Related Opportunities for Cancer Prevention. *Int J Environ Res Public Health.* 2019b; 17(1): 209.
- Camargos MF, Stancek D, Rocha MA, Lessa LM, Reis JK, Leite RC. Partial sequencing of env gene of bovine leukaemia virus from Brazilian samples and phylogenetic analysis. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2002; 49(7): 325-31.
- Camargos MF, Pereda A, Stancek D, Rocha MA, dos Reis JK, Greiser-Wilke I, Leite RC. Molecular characterization of the env gene from Brazilian field isolates of Bovine leukemia virus. *Virus Genes.* 2007; 34(3): 343-50.
- Ceriani MC, Lendez PA, Martinez Cuesta L, Nieto Farias MV, Shen HM, Buehring GC, Dolcini GL. Bovine leukemia virus presence in breast tissue of argentinian females and its association with cell proliferation and prognosis markers. *Multidiscip Cancer Investig.* 2018; 2(4): 16-24
- Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE, editors. *Retroviruses.* Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997. PMID: 21433340.
- Cordero-Pulido RM, Martínez-Herrera DI, Vivanco-Cid H, Villagómez-Cortés JA, Arendt ML, Grube-Pagola P, Domínguez-Alemán CA. Molecular detection of bovine leukosis virus in naturally infected dairy and dual-purpose cattle in Mexico. *Vet Res Forum.* 2023; 14(8): 457-460.
- Corredor-Figueroa AP, Salas S, Olaya-Galán NN, Quintero JS, Fajardo Á, Soñora M, Moreno P, Cristina J, Sánchez A, Tobón J, Ortiz D, Gutiérrez MF. Prevalence and molecular epidemiology of bovine leukemia virus in Colombian cattle. *Infect Genet Evol.* 2020; 80: 104171.
- D'Angelino JL, Garcia M, Birgel EH. Epidemiological study of enzootic bovine leukosis in Brazil. *Trop Anim Health Prod.* 1998; 30: 13-15.
- De Brun ML, Cosme B, Petersen M, Alvarez I, Folgueras-Flatschart A, Flatschart R, Panei CJ, Puentes R. Development of a droplet digital PCR assay for quantification of the proviral load of bovine leukemia virus. *J Vet Diagn Invest.* 2022; 34(3): 439-447.
- Donnik I. Productivity and health markers for large cattle. *Int. J. Green Pharm.* (IJGP) 2017; 11: S620-S625
- Erskine RJ, Bartlett PC, Byrem TM, Render CL, Febvay C, Houseman JT. Herd-level determinants of bovine leukaemia virus prevalence in dairy farms. *J Dairy Res.* 2012; 79(4): 445-50.
- Florins A, Gillet N, Boxus M, Kerkhofs P, Kettmann R, Willems L. Even attenuated bovine leukemia virus proviruses can be pathogenic in sheep. *J Virol.* 2007; 81(18): 10195-200.
- Furtado A, Rosadilla D, Franco G, Piaggio J, Puentes R. Leucosis Bovina Enzootica en cuencas lecheras de productores familiares del Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, (2013) 49(191), 29-37.
- Gao A, Kouznetsova VL, Tsigelny IF. Bovine leukemia virus relation to human breast cancer: Meta-analysis.

- Microb Pathog.* 2020; 149: 104417.
27. Ghezzi PC, Dolcini GL, Gutierrez SE, Bani PC, Torres JO, Arroyo G, Esteban EN. 1997. Prevalence of bovine leukaemia virus (VLB) in the "Mar y Sierra" dairy production area of Argentina between 1994 and 1995. *Rev. argent. microbiol.* 29; 137-146
  28. Gillet N, Florins A, Boxus M, Burteau C, Nigro A, Vandermeers F, Balon H, Bouzar AB, Defoiche J, Burny A, Reichert M, Kettmann R, Willems L. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology.* 2007; 4: 18.
  29. Hamard-Peron E, Muriaux D. Retroviral matrix and lipids, the intimate interaction. *Retrovirology.* 2011; 8: 15.
  30. Hopkins SG, DiGiacomo RF. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1997; 13(1): 107-28.
  31. Jimba M, Takeshima SN, Murakami H, Kohara J, Kobayashi N, Matsushashi T, Ohmori T, Nunoya T, Aida Y. VLB-CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status. *BMC Vet Res.* 2012; 8: 167.
  32. Johnston ER, Radke K. The SU and TM envelope protein subunits of bovine leukemia virus are linked by disulfide bonds, both in cells and in virions. *J Virol.* 2000; 74(6): 2930-5.
  33. Juliarena MA, Gutierrez SE, Ceriani C. Determination of proviral load in bovine leukemia virus-infected cattle with and without lymphocytosis. *Am J Vet Res.* 2007; 68(11): 1220-5.
  34. Juliarena MA, Barrios CN, Lützelshwab CM, Esteban EN, Gutiérrez SE. Bovine leukemia virus: current perspectives. *Virus Adaptation and Treatment.* 2017; 9: 13-26.
  35. Khamesipour FA, Doosti AK, Shahraki, and Goodarzi. Molecular detection of Bovine Leukemia Virus (VLB) in the frozen semen samples of bulls used for artificial insemination in Iran. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.* 2013; 3: 412-416.
  36. Kirkbride CA. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest.* 1992; 4(4): 374-9.
  37. Kobayashi S, Tsutsui T, Yamamoto T, Hayama Y, Kameyama K, Konishi M, Murakami K. Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *BMC Vet Res.* 2010; 6: 1.
  38. Kobayashi T, Inagaki Y, Ohnuki N, Sato R, Murakami S, Imakawa K. Increasing Bovine leukemia virus (VLB) proviral load is a risk factor for progression of Enzootic bovine leucosis: A prospective study in Japan. *Prev Vet Med.* 2019; S0167-5877(18)30795-5.
  39. Kohara J, Takeuchi M, Hirano Y, Sakurai Y, Takahashi T. Vector control efficacy of fly nets on preventing bovine leukemia virus transmission. *J Vet Med Sci.* 2018; 80(10): 1524-1527.
  40. LaDronka RM, Ainsworth S, Wilkins MJ, Norby B, Byrem TM, Bartlett PC. Prevalence of Bovine Leukemia Virus Antibodies in US Dairy Cattle. *Vet Med Int.* 2018; 2018: 5831278.
  41. Lawson JS, Salmons B, Glenn WK. Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (VLB), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein-Barr Virus (EBV). *Front Oncol.* 2018; 8: 1.
  42. LE DT, Yamashita-Kawanishi N, Okamoto M, Nguyen SV, Nguyen NH, Sugiura K, Miura T, Haga T. Detection and genotyping of bovine leukemia virus (VLB) in Vietnamese cattle. *J Vet Med Sci.* 2020; 82(7): 1042-1050.
  43. Licursi M, Inoshima Y, Wu D, Yokoyama T, González ET, Sentsui H. Provirus variants of bovine leukemia virus in naturally infected cattle from Argentina and Japan. *Vet Microbiol.* 2003; 96(1): 17-23.
  44. Luciani ME, Gorordo ML, Margineda CA, Rügger MJ, Magnano G. Seroprevalencia del virus de la leucemia bovina en rodeos lecheros del Departamento Iriondo, Santa Fe, Argentina. *Rev. vet.* 2022; 29-31.
  45. Mació M, Magnano G, Porta N, Petersen M, Macias A, Sticotti E, Ruiz V, Schneider M, Giraud J. Seroprevalencia de leucosis enzoótica bovina en tambos del sur de la Provincia de Córdoba, Argentina. *Vet Arg.* 2019; 36(371): 1-7.
  46. Mariño B, Nogues M, Iguzquiza I, Gutierrez S, Rodriguez N, Esteban E, Occhi H. Prevalencia de Tambos Infeccionados con el Virus de la Leucosis Bovina (VLB) mediante Determinación de Anticuerpos en Leche por el ELISA 108. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias.* 2005; 2(2): 117-121.
  47. Meertens L, Mahieux R, Maucière P, Lewis J, Gessain A. Complete sequence of a novel highly divergent simian T-cell lymphotropic virus from wild-caught red-capped mangabeys (*Cercocebus torquatus*) from Cameroon: a new primate T-lymphotropic virus type 3 subtype. *J Virol.* 2002; 76(1): 259-68.
  48. Mekata H, Yamamoto M, Hayashi T, Kirino Y, Sekiguchi S, Konnai S, Horii Y, Norimine J. Cattle with a low bovine leukemia virus proviral load are rarely an infectious source. *Jpn. J. Vet. Res.* 2018; 66: 157-163.
  49. Mendoza W, Isaza JP, López L, López-Herrera A, Gutiérrez LA. Bovine Leukemia Virus molecular detection and associated factors among dairy herd workers in Antioquia, Colombia. *Acta Trop.* 2024; 256: 107253.
  50. Merlini R, Gutiérrez G, Alvarez I, Jaworski JP, Carignano H, Poli M, Willems L, Trono K. Bovine leukemia virus becomes established in dairy herds before the first lactation. *Arch Virol.* 2016; 161(11): 3215-7.
  51. Mesa G, Ulloa JC, Uribe AM, Gutierrez MF. Bovine leukemia virus gene segment detected in human breast tissue. *Open J. Med. Microbiol.* 2013; 3(1): 84-90.
  52. Monti G, Schrijver R, Beier D. Genetic diversity and spread of Bovine leukaemia virus isolates in Argentine dairy cattle. *Arch Virol.* 2005; 150: 443-58.
  53. Murakami K, Kobayashi S, Konishi M, Kameyama K, Tsutsui T. Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009-2011. *J Vet Med Sci.* 2013; 75(8): 1123-6.



54. Nava Z, Obando C, Molina M, Bracamonte M, Tkachuk O. Seroprevalencia de la leucosis enzoótica bovina y su asociación con signos clínicos y factores de riesgo en rebaños lecheros del estado barinas, venezuela. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*. 2011; 52(1): 13-23.
55. Nekouei O, VanLeeuwen J, Sanchez J, Kelton D, Tiwari A, Keefe G. Herd-level risk factors for infection with bovine leukemia virus in Canadian dairy herds. *Prev Vet Med*. 2015; 119(3-4): 105-13.
56. Nekouei O, VanLeeuwen J, Stryhn H, Kelton D, Keefe G. Lifetime effects of infection with bovine leukemia virus on longevity and milk production of dairy cows. *Prev Vet Med*. 2016; 133: 1-9.
57. Norby B, Bartlett PC, Byrem TM, Erskine RJ. Effect of infection with bovine leukemia virus on milk production in Michigan dairy cows. *J Dairy Sci*. 2016; 99(3): 2043-2052.
58. Olaya-Galán NN, Corredor-Figueroa AP, Velandia-Álvarez S, Vargas-Bermudez DS, Fonseca-Ahumada N, Nuñez K, Jaime J, Gutiérrez MF. Evidence of bovine leukemia virus circulating in sheep and buffaloes in Colombia: insights into multispecies infection. *Arch Virol*. 2022; 167(3): 807-817.
59. Ooshiro M, Konnai S, Katagiri Y, Afuso M, Arakaki N, Tsuha O, Murata S, Ohashi K. Horizontal transmission of bovine leukemia virus from lymphocytotic cattle, and beneficial effects of insect vector control. *Vet Rec*. 2013; 173(21): 527.
60. Panei CJ, Serena MS, Metz GE, Bravi ME, González ET, Echeverría MG. Analysis of the pX region of bovine leukemia virus in different clinical stages of Enzootic Bovine Leukemia in Argentine Holstein cattle. *Virus Res*. 2013a; 171(1): 97-102.
61. Panei CJ, Takeshima SN, Omori T, Nunoya T, Davis WC, Ishizaki H, Matoba K, Aida Y. Estimation of bovine leukemia virus (VLB) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in VLB-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis using VLB-CoCoMo-qPCR. *BMC Vet Res*. 2013b; 9: 95.
62. Panei CJ, Larsen AE, Fuentealba NA, Metz GE, Echeverría MG, Galosi CM, Valera AR. Study of horn flies as vectors of bovine leukemia virus. *Open Vet J*. 2019; 9(1): 33-37.
63. Petersen MI, Alvarez I, Trono KG, Jaworski JP. Quantification of bovine leukemia virus proviral DNA using a low-cost real-time polymerase chain reaction. *J Dairy Sci*. 2018; 101(7): 6366-6374.
64. Polat M, Takeshima SN, Hosomichi K, Kim J, Miyasaka T, Yamada K, Arainga M, Murakami T, Matsumoto Y, de la Barra Diaz V, Panei CJ, González ET, Kanemaki M, Onuma M, Giovambattista G, Aida Y. 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.
65. Polat M, Takeshima SN, Aida Y. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. *Virol J*. 2017; 14(1): 209.
66. Porta NG, Suarez-Archilla G, Miotti C, Molineri AI, Alvarez I, Trono K, Signorini M, Ruiz V. Seroprevalence and risk factors associated with bovine Leukemia virus infection in argentine beef cattle. *Res Vet Sci*. 2023; 164: 104999.
67. Ramírez Vásquez NF, D Villar Argaiz JA, Fernández Silva J, Londoño Pino JJ, Chaparro Gutiérrez, and M. E. Olivera Á. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. *CES Med. Vet. Zootec*. 2016. 11: 15-25.
68. Righi C, Iscaro C, Petrini S, Lomolino R, Feliziani F. Enzootic Bovine Leukosis in Italy: Epidemiological Issues after Free Status Recognition and Measures Applied to Tackle the Last Persistent Clusters. *Pathogens*. 2021; 10(11): 1475.
69. Robinson MS, Bonifacino JS. Adaptor-related proteins. *Curr Opin Cell Biol*. 2001; 13(4): 444-53.
70. Rodríguez SM, Florins A, Gillet N, de Brogniez A, Sánchez-Alcaraz MT, Boxus M, Boulanger F, Gutiérrez G, Trono K, Alvarez I, Vagnoni L, Willems L. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. *Viruses*. 2011; 3(7): 1210-48.
71. Rola-Luszczak M, Finnegan C, Olech M, Choudhury B, Kuźmak J. Development of an improved real time PCR for the detection of bovine leukaemia provirus nucleic acid and its use in the clarification of inconclusive serological test results. *J Virol Methods*. 2013; 189(2): 258-64.
72. Sagata N, Yasunaga T, Ohishi K, Tsuzuku-Kawamura J, Onuma M, Ikawa Y. Comparison of the entire genomes of bovine leukemia virus and human T-cell leukemia virus and characterization of their unidentified open reading frames. *EMBO J*. 1984; 3(13): 3231-7.
73. Schwingel D, Andreolla AP, Erpen LMS, Frandoloso R, Kreutz LC. Bovine leukemia virus DNA associated with breast cancer in women from South Brazil. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 2949.
74. Sharifzadeh A, Doosti A, Dehkordi PG. Molecular detection of bovine leukemia virus (VLB) in the semen samples of bulls. *World J. Zoology*. 2011; 6: 285-290.
75. Suárez Archilla G, Gutiérrez G, Camussone C, Calvino L, Abdala A, Alvarez I, Petersen M, Franco L, Destefano G, Monti G, Jacques JR, Joris T, Willems L, Trono K. A safe and effective vaccine against bovine leukemia virus. *Front Immunol*. 2022; 13: 980514.
76. Suzuki T, Ikeda H, Mase M. Restricted viral cDNA synthesis in cell lines that fail to support productive infection by bovine leukemia virus. *Arch Virol*. 2018; 163(9): 2415-2422.
77. Tajima S, Aida Y. Mutant tax protein from bovine leukemia virus with enhanced ability to activate the expression of c-fos. *J Virol*. 2002; 76(5): 2557-62.
78. Willems L, Heremans H, Chen G, Portetelle D, Billiau A, Burny A, Kettmann R. Cooperation between bovine leukaemia virus transactivator protein and Ha-ras oncogene product in cellular transformation. *EMBO J*. 1990; 9(5): 1577-81.
79. Willems L, Kerkhofs P, Dequiedt F, Portetelle D, Mammerickx M, Burny A, Kettmann R. Attenuation of bovine leukemia virus by deletion of R3 and G4

- open reading frames. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91(24): 11532-6.
80. World Organisation for Animal health (OIE). Enzootic bovine leukosis. Chapter 3.4.9. In: OIE. *Terrestrial Manual 2018*. Disponible en: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.04.09\\_EBL.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.04.09_EBL.pdf)
81. Yamanaka MP, Saito S, Hara Y, Matsuura R, Takeshima SN, Hosomichi K, Matsumoto Y, Furuta RA, Takei M, Aida Y. No evidence of bovine leukemia virus proviral DNA and antibodies in human specimens from Japan. *Retrovirology.* 2022; 19(1): 7.
82. Yang Y, Fan W, Mao Y, Yang Z, Lu G, Zhang R, Zhang H, Szeto C, Wang C. Bovine leukemia virus infection in cattle of China: Association with reduced milk production and increased somatic cell score. *J Dairy Sci.* 2016; 99(5): 3688-3697.