Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria

Efectos de la infección con el virus de la leucosis bovina enzoótica sobre parámetros productivos y reproductivos en vacas lecheras de Costa Rica

Modalidad: Tesis

Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria

Ana Laura González Arias

Campus Presbítero Benjamín Núñez
2014

Efectos de la infección con el virus de la leucosis bovina enzoótica sobre parámetros productivos y reproductivos en vacas lecheras de Costa Rica

_____
Dr. Rafael Vindas Bolaños
Vicedecano

_____
Dra. Laura Castro Ramírez
Directora

_____
Dra. Gaby Dolz Wiedner
Tutora

_____
Dr. Juan José Romero Zúñiga
Lector

_____
Dr. Alfredo Sequeira Ávalos
Lector

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a Dios que me ha acompañado durante todo el camino y me seguirá guiando en todo lo que decida realizar. Se lo dedico a mi familia, sobre todo a mis papás que siempre están conmigo en todo momento y mis hermanos que siempre me están apoyando. A mis seres queridos y a mis amigos que siempre con sus palabras de aliento me empujan a hacer más de lo que puedo hacer y a dar el 100% en todo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primero a Dios por siempre estar presente y cuidarme en este largo camino. A mis padres y seres queridos que siempre están ahí en todo momento. A la Universidad Nacional y a la Escuela de Medicina Veterinaria por darme la oportunidad de estudiar esta maravillosa carrera. A mi tutora Dra. Gaby Dolz y mis lectores Dr. Juan José Romero y Dr. Alfredo Sequeira que con su guía y apoyo fue posible la culminación de este proyecto. Sé que me han tenido mucha paciencia y me han brindado su apoyo en todo momento y estaré eternamente agradecida con ustedes. A compañeros como Ari, Lisa, Antony, Alex, Martita, Connie, Juan Ca, Pame, Leo, entre otros que colaboraron con la toma y análisis de las muestras. A Miguel Bolaños, Jose Rojas y Sandra Guzmán que junto con el Dr. Romero nos ayudaron con la recolección de datos y análisis de los datos del VAMPP Bovino 3.0. A los doctores Manrique Oviedo y Gonzalo Carmona quienes fueron de los primeros en apoyar la idea de este proyecto. A la Cooperativa de Productores Dos Pinos y algunos de sus colaboradores como el Dr. Edgar Bonilla y el Dr. Luis Diego Rodríguez que nos ayudaron a recolectar algunas de las muestras. A profesores como el Dr. Jaime Murillo, Dr. Julio Murillo, Dr. Humberto Cedeño y al Dr. Frank Hückmann que durante el internado rotatorio me brindaron su tiempo para acompañarlos a muestrear fincas que ellos atienden.

Finalmente a los propietarios de las fincas porque sin su colaboración no habría sido posible realizar el proyecto.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN **1**
1.1 Antecedentes **1**
1.1.1 Historia, distribución y epidemiología **1**
1.1.2 Etiología **2**
1.1.3 Transmisión **3**
1.1.4 Patogénesis e inmunidad **5**
1.1.5 Signos clínicos y hallazgos de necropsia **6**
1.1.6 Diagnóstico **6**
1.1.7 Tratamiento, profilaxis y control **7**
1.1.8 Pérdidas económicas ocasionadas por el BLV **9**
1.2 Justificación **15**
1.3 Objetivos **16**
1.3.1 Objetivo general 16
1.3.2 Objetivos específicos 16
2. METODOLOGíA **17**
2.1 Tipo de estudio **17**
2.2 Población a estudiar **17**
2.3 Toma de las muestras **18**
2.4 Análisis serológico **18**
2.5 Análisis de los datos **19**
3. RESULTADOS **25**
4. DISCUSIÓN **46**
5. CONCLUSIONES **52**
6. RECOMENDACIONES **53**
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **54**

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Variables utilizadas en el análisis de los efectos de la infección con BLV sobre los principales parámetros productivos y reproductivos en vacas lecheras de Costa Rica. 23

Cuadro 2. Incidencia de BLV en 20 fincas durante el primer periodo del estudio (2006-2009) 25

Cuadro 3. Incidencia de BLV en 13 fincas durante el segundo periodo del estudio (2009-2012). 26

Cuadro 4. Incidencia de BLV en 24 fincas durante el periodo total del estudio (2006-2012).. 27

Cuadro 5. Estadística descriptiva de las variables de producción para el primer y el segundo periodo.. 28

Cuadro 6. Estadística descriptiva de las variables de producción para el periodo total.. 28

Cuadro 7. Estadística descriptiva de las variables de reproducción para el primer y el segundo periodo.. 29

Cuadro 8. Estadística descriptiva de las variables de reproducción para el total del periodo. .30

Cuadro 9. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de producción total de leche (Kg Total) para el primer periodo (n=563) y segundo periodo (n=138). 31

Cuadro 10. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción total de leche (Kg Total) para el periodo total (n=172).. 32

Cuadro 11. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción de leche a 305 días (Kg 305d) para el primer periodo (n=568) y segundo periodo (n=138). 33

Cuadro 12. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción de leche a 305 días (Kg 305d) para el periodo total (n=172). 34

Cuadro 13. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo entre partos (IEP) promedio para el primer periodo (n=548) y segundo periodo (n=137).....35

Cuadro 14. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo entre partos (IEP) promedio para el periodo total (n=221).. 36

Cuadro 15. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-concepción (IPC) promedio para el primer periodo (n=576) y segundo periodo (n=138). 37

Cuadro 16. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-concepción (IPC) promedio para el periodo total (n=222).. 38

Cuadro 17. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer celo (PPC) promedio para el primer periodo (n=442) y segundo periodo (n=123).. 39

Cuadro 18. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer celo (PPC) promedio para el periodo total (n=194). 40

Cuadro 19. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer servicio (PPS) promedio para el primer periodo (n=579) y segundo periodo (n=138). 41

Cuadro 20. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer servicio (PPS) promedio para el periodo total (n=222). 42

Cuadro 21. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre la cantidad de servicios por concepción (SC) promedio para el primer periodo (n=576) y segundo periodo (n=138). 43

Cuadro 22. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre la cantidad de servicios por concepción (SC) promedio para el periodo total (n=222). 44

Cuadro 23. Análisis de las pérdidas producidas por el BLV para animales seropositivos y seroconvertidos. 45

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

LBE = Leucosis Bovina Enzoótica

BLV = Virus de la leucosis bovina, Bovine Leukemia Virus

ARN = Ácido ribonucléico, Ribonucleic acid

LTR = terminaciones largas repetitivas, Long Terminal Repeats.

IgM = Inmunoglobulina M

CTLs = Linfocitos citotóxicos

ELISA = Inmunoensayo enzimático, Enzyme-linked immunosorbent assay

VAMPP Bovino = Programa para almacenamiento de datos del manejo de hatos bovinos lecheros, doble propósito, cría y engorde

PP = Porcentaje de Positividad

DO = Densidad óptica

IEP = Intervalo entre partos

IPC = Días parto a concepción

PPC = Días parto al primer celo

PPS = Días parto al primer servicio

SC = Servicios por concepción

Kg Total = Producción total de leche

Kg 305d = Producción de leche a los 305

LD = Lactancia al descarte

CRIPAS = Centro Regional de Informática para la Producción Animal Sostenible

bp-MB = Bosque Pluvial Montano Bajo

bp-P = Bosque Pluvial Premontano

bh-P = Bosque Húmedo Premontano

bmh-M = Bosque muy Húmedo Montano

bmh-T = Bosque Muy Húmedo Tropical

H8 = Holstein pura

H4J4 = Chumecas, cruce de Holstein pura y Jersey pura

Dif = Diferencia

EE = Error estándar de la diferencia

p = Nivel de significancia estadística

RESUMEN

Se realizó un estudio longitudinal durante cuatro lactancias completas, con el objetivo de determinar el efecto de la infección con el virus de la leucosis bovina enzoótica (BLV) sobre parámetros de producción (producción total de leche (Kg Total) y producción a 305 días (Kg 305d)), y sobre parámetros de reproducción (intervalo entre partos (IEP), intervalo parto-concepción (IPC), intervalo parto-primer celo (PPC), intervalo parto-primer servicio (PPS) y servicios por concepción (SC)) en vacas lecheras especializadas de Costa Rica. Las muestras fueron tomadas en el 2006, 2009 y 2012 y analizadas mediante ensayo inmunoenzimático. Todas las fincas utilizaron el programa VAMPP Bovino 3.0. Los datos fueron analizados estadísticamente por un modelo de regresión lineal mixta, ajustado por raza, número de lactancias, zona ecológica y el efecto aleatorio hato-época. Además, se realizó un estimado de pérdidas económicas tomando en cuenta el costo del día abierto, costo por inseminación y pajilla de semen y el precio por Kg de leche al productor. En el primer periodo (2006-2009) se analizaron 20 fincas, determinándose una incidencia global de 21,98% (458 negativos, 129 seroconvertidos y 29 positivos), durante el segundo periodo (2009-2012) se analizaron 13 fincas y se estimó una incidencia global de 17,48% (85 negativos, 18 seroconvertidos y 35 positivos), mientras que en el periodo total (2006-2012) se analizaron 24 fincas mostrando una incidencia global de 34,22% (148 negativos, 77 seroconvertidos y 57 positivos). Animales seropositivos mostraron un efecto significativo sobre Kg Total durante el primer periodo, produciendo 710 Kg leche menos que seronegativos (p=0,04), no se determinó efecto significativo sobre Kg Total en el segundo periodo ni en el periodo total. Los animales seroconvertidos mostraron un efecto significativo sobre Kg 305d, produciendo 654 Kg menos leche que seronegativos durante el segundo periodo (p=0,02). Durante el periodo total el IEP

de seroconvertidos fue de 19,24 días más que seronegativos (p=0,05), también se determinó un PPC 22,97 días mayor (p=0,009) que en animales seronegativos, mientras que en el primer periodo el PPS de seroconvertidos fue 7,17 días más que en seronegativos (p=0,03). No se demostró efecto del estatus al BLV sobre la variable SC en ninguno de los periodos. Por cada lactancia se estimó una pérdida de $172 a $231 por cada animal seropositivo y $264 a $333 por cada animal seroconvertido en la finca. La infección con BLV parece tener efecto negativo sobre algunos de los parámetros productivos y reproductivos con el subsecuente impacto económico para el hato. Estudios con mayor cantidad de animales seguidos en el tiempo darían mayor fuerza a estos resultados.

ABSTRACT

A longitudinal study over four complete lactations was conducted to determine the effect of the infection with bovine leukemia virus (BLV) on production (total milk yield and 305 days milk yield) and reproduction (calving interval [CI], calving conception interval [CCI], calving first estrus [CFE], calving to first service [CFS] and services per conception [SPC]) in specialized dairy herds in Costa Rica. The samples were taken in 2006, 2009 and 2012 and analyzed with an immunoenzymatic assay. All herds used VAMPP Bovino 3.0. Data were statistically analyzed by a multiple linear regression model, adjusted by breed, parity number, ecoregion and random herd/time effect. An estimation of economic losses was performed taking into account the costs of open days, insemination price, and price of semen and milk. During the first period (2006-2009) 20 dairy herds were analyzed, showing an overall incidence of 21,98% (458 seronegative animals, 129 seroconverted and 29 seropositives), during the second period (2009-2012) 13 dairy herds were analyzed, showing an overall incidence of 17,48% (85 seronegatives, 18 seroconverted and 35 seropositives), while during the total period (2006-2012) the analysis was performed with 24 herds, showing a global incidence of 34,22% (148 seronegatives, 77 seroconverted and 57 seropositives). Significant differences in the total milk yield were found in seropositive bovines during the first period, this group produced 710 Kg milk less than seronegative animals (p=0,04). No differences were found in the total milk yield during the second and the total period. However, in the group of animals that showed seroconversion to BLV, significant differences were established in the 305 days milk yield, producing 654 Kg less milk than seronegative cows during the second period (p=0,02). The analysis of the effect on reproduction during the total period of the study established that bovines that seroconverted to BLV showed 19,24 more

days of CI (p=0,05), 22,97 more days of CFE (p=0,009), and 7,17 more days more of CFS (p=0,03), compared to seronegative animals. No effect was found for SPC in any of the periods and groups. The total loss during one lactation period was estimated in $171 to $226 for a seropositive animal and $264 to $331 for a seroconverted animal in the herd. The infection with BLV seems to have negative effects on productive and reproductive parameters, and represents an economic impact in the herd. Studies with more animals followed over the time would give more strength to these results.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1 Historia, distribución y epidemiología

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad que afecta principalmente el tejido linfoide en ganado de leche y carne (Ott et al., 2003; Losinger, 2006).

Los estudios sobre la leucosis bovina iniciaron en Hannover, Alemania, en 1953 por Götze y colaboradores (Olson & Miller, 1987). Luego de la Segunda Guerra Mundial los casos de tumores se incrementaron en partes del país donde no se habían reportado antes (Olson & Miller, 1987). En 1969 Miller y colaboradores aislaron el agente causal de la enfermedad y se describió la etiología (Rodríguez et al., 2011).

El virus y la enfermedad se encuentran distribuidos por todo el mundo, se cree que por la introducción de razas de ganado europeo a lugares libres del virus.

Ha sido reportado en países de los cinco continentes como África (Argelia, Suráfrica), América (Canadá, Estados Unidos, Chile, Venezuela, Colombia, Uruguay, Argentina, Brasil, Costa Rica, Panamá), Asia (Indonesia, China, Taiwán, Japón, Korea), Europa (Alemania, República Checa, Dinamarca, Irlanda, Luxemburgo, Suecia, Suiza, Turquía, Irán) y Oceanía (Australia, Nueva Zelanda), entre otros. Gracias al uso de diversos programas de control, los cuales son mencionados en este trabajo, se ha logrado eliminar en países como Escandinavia, Austria, Bélgica, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Irlanda, Islandia, Luxemburgo, Holanda, Noruega, Eslovenia, Suiza, Eslovaquia y el Reino Unido (Toma et al., 1990; MacLachlan y Dubovi, 2011; Rodríguez et al., 2011).

En Costa Rica fue descrito por primera vez en 1976 en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional por medio de histopatología y signos clínicos. Más adelante, en 1980, se corroboró la presencia de BLV por medio de varios métodos de diagnóstico (inmunodifusión en agar gel y método hematológico), y se determinó una prevalencia de 39% en los animales (Rodríguez et al., 1980). En 1995 Jiménez y colaboradores aislaron y caracterizaron el virus, el cual no presentó diferencia con el aislado en Estados Unidos. En el 2008 Beita reportó una seroprevalencia de 41% a nivel de animales.

1.1.2 Etiología

El agente que causa la LBE es un virus que forma parte de la familia Retroviridae, género Deltaretrovirus, virus de la leucosis bovina enzoótica (BLV, Bovine Leukemia Virus, por sus siglas en inglés). Son virus ARN envueltos de un diámetro de 80-100 nm y tienen una estructura única de tres capas: la envoltura, la matriz y la cápside (Ferrer, 1980; Toma et al., 1990; Murphy et al. 1999; Ott et al., 2003; Losinger, 2006; Aida et al., 2013).

El genoma del retrovirus es diploide y contiene tres genes importantes. Cada uno codifica para dos o más proteínas (Murphy et al. 1999). El gen *gag*, cuyo nombre se obtiene del inglés "group-specific antigen", codifica las proteínas de la cápside del virión. El gen *pol* codifica la transcriptasa reversa (polimerasa); y el gen *env* codifica para las proteínas de la envoltura del virión (Murphy et al., 1999; Aida et al., 2013). Existen otros componentes que forman parte del virus, hay una secuencia única llamada pX situada entre el *env* y la 3'LTR (Long Terminal Repeats) que codifica para las proteínas regulatorias. Las proteínas regulatorias *tax* y *rex* no son oncogenes. La proteína *tax* es un activador transcripcional de la expresión viral, tiene potencial oncogénico y activa la ruta NF-kappa B, la proteína *rex* es un

exportador nuclear de mRNAs virales. Las proteínas R3 y G4 también son codificadas en la región pX y se encargan de mantener la carga viral alta; la proteína G4 además tiene potencial oncogénico (Aida et al., 2013). La carga viral se mantiene baja en animales asintomáticos, en animales con linfocitosis persistente aumenta y es mucho mayor cuando son animales que desarrollan linfoma (Aida et al., 2013).

El virus es frágil e inestable en el medio ambiente y va perdiendo infectividad en rutinas de manipulación comunes como centrifugación y congelación. Puede ser destruido a temperaturas de 63°C por 30 minutos y puede ser inactivado a temperaturas de pasteurización (Rubino & Donham, 1984). No sobrevive a procesos de secado para producción de sustitutos de calostro. Tratamientos de congelación a temperaturas de -25°C por 24 horas han demostrado ser efectivos para inactivar la infectividad de linfocitos con BLV. Sustancias como el agua caliente, el cloro, la etilenamina binaria y la N-acetileneimina ayudan a inactivar el virus (Toma et al., 1990; Sharma & Adlakha, 2009; Choudhury et al., 2013; Kanno et al., 2013).

1.1.3. Transmisión

La transmisión del BLV se da principalmente por medio de linfocitos B infectados, que pasan de un animal infectado a otro sano. Solamente se necesita 1µl de sangre que contenga al menos 2500 linfocitos infectados para causar infección. Las células blanco del virus de la leucosis bovina enzoótica son linfocitos B que expresan IgM; sin embargo, pueden infectar también en menor cantidad células T CD4+, células T CD8+, células T γ/δ, monocitos, macrófagos y granulocitos (MacLachlan y Dubovi, 2011; Aida et al., 2013). Una vez que los animales adquieren la infección, los virus permanecerán en el cromosoma celular

de los linfocitos B y T de por vida; por lo que los anticuerpos contra ciertas proteínas (como la gp51), no se dejarán de producir nunca, por lo cual resultarán seropositivos siempre y representarán una fuente de infección para otros animales (Divers et al., 1995; Trainin et al., 1996; Ott et al., 2003; Losinger, 2006).

La forma más frecuente en que se transmiten linfocitos infectados de un animal a otro es la iatrogénica. Entre los factores de riesgo asociados a la positividad del BLV se encuentran: no utilizar un guante desechable por animal en labores ginecológicas o en valoraciones al realizar un diagnóstico clínico, no utilizar una aguja por animal, no desinfectar el equipo de identificación o descorne, utilizar animales de otras fincas con estatus serológico desconocido, utilizar monta natural con animales seropositivos, no calentar calostro, usar leche de vacas positivas para criar a las terneras y no separar las vacas con mastitis (Beita, 2008; Kobayashi et al., 2010). La transmisión intrauterina se puede dar en menos de un 10% de los casos, principalmente son animales nacidos de vacas con linfocitosis persistente o linfoma maligno (Toma et al., 1990; Lassauzet et al., 1991; Hopkins & DiGiacomo, 1997; Divers & Peek, 2008). Puede haber transmisión vertical a través de leche o calostro (Meas et al., 2002).

Aunque por mucho tiempo se reportó que el BLV no es transmitido a los humanos, estudios recientes han analizado muestras de 257 sueros humanos mediante pruebas para detectar anticuerpos específicos (IgG1, IgM, IgA e IgG4) contra la proteína de cápside p24 del BLV y un 74% de los casos resultaron seropositivos; además, una investigación realizada con 211 tejidos de seno de mujeres con y sin cáncer de mama encontró que es más frecuente encontrar BLV en tejidos con diagnóstico de cáncer de seno que en mujeres sin historia de cáncer ($p<0.0001$, OR=5,4 e intervalo de confianza= 2,42-11,9) (Buehring et al, 2003; Buehring et al, 2005).

1.1.4 Patogénesis e inmunidad

De cada 100 animales infectados con el BLV, 100% van a desarrollar anticuerpos contra el virus, 30% desarrollarán linfocitosis persistente sin síntomas clínicos evidentes y solamente 10% van a desarrollar linfosarcoma (Toma et al., 1990; Pollari et al., 1992; Trainin et al., 1996; Ott et al., 2003; Losinger, 2006). La transformación de linfocitos no es resultado de la inserción de provirus cerca de secuencias celulares particulares (c-oncogenes) y su activación como sucede en otros virus; por el contrario el BLV produce la oncoproteína reguladora tax que promueve la supervivencia celular y proliferación, lo que lleva al final a la aparición de células transformadas, esta oncoproteína es importante ya que aumenta la transcripción de LTR (MacLachlan y Dubovi, 2011). La replicación del virus durante la diseminación temprana depende de proteínas virales necesarias para la activación de promotores virales (LTR) y están involucradas en la activación de la célula y en la supervivencia de la misma (MacLachlan y Dubovi, 2011). Se producen anticuerpos particularmente contra la proteína de la envoltura viral gp51 y contra las proteínas de cápside p24. Sin embargo, los anticuerpos pueden ser dirigidos a proteínas reguladoras como la tax; estos anticuerpos son los responsables de mediar la lisis celular dependiente de anticuerpos. Cuando el BLV infecta la célula, la seroconversión se da entre 2 a 8 semanas (Toma et al., 1990). El virus no puede ser eliminado, lo que produce una infección persistente, por lo que los anticuerpos van a mantenerse por el resto de la vida, sin embargo, pueden haber fluctuaciones del título en épocas como al final de la gestación o al iniciar la lactación en donde va a ser más bajo (Toma et al., 1990; MacLachlan y Dubovi, 2011).

1.1.5 Signos clínicos y hallazgos de necropsia

La enfermedad puede cursar con varias presentaciones. En muchos de los casos los animales infectados permanecerán asintomáticos por mucho tiempo, y solamente alrededor de un 10% desarrollarán síntomas luego de un largo periodo de incubación, los signos clínicos se manifestarán por el rápido desarrollo de linfosarcomas multicéntricos. Además, según su localización u órgano afectado producirán una gran variedad de signos y síntomas, como por ejemplo: adenopatías externas, adenopatías internas, paresia del tren posterior, afección respiratoria, exoftalmo bilateral o unilateral y afección cardiovascular por daño en la pared de la aurícula derecha, lo que provoca insuficiencia cardiaca congestiva que puede llegar a ocasionar la muerte del animal. También pueden presentar signos inespecíficos como fiebre, adelgazamiento, disminución del apetito, diarreas persistentes y disminución en la producción de leche (Radostits, 2002, Ott et al., 2003).

1.1.6 Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad se basa en la detección tanto de antígeno como de anticuerpos contra el BLV. Tanto el gen como el antígeno están presentes a lo largo de la fase de infección y se puede utilizar la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para detectar el provirus. Hasta ahora el método más sensible y rápido es la PCR anidada seguida de electroforesis. Este método es utilizado para confirmar resultados de serología, en caso de resultados de ELISA positivos débiles o dudosos, pero puede ser útil en casos de terneros jóvenes con anticuerpos calostrales, casos de tumores, para diagnóstico diferencial de la Leucosis Bovina Esporádica, tejido tumoral de animales decomisados en matadero o análisis de animales que van a entrar en un centro de inseminación artificial. Esta técnica es muy cara

y tediosa, solo se lleva a cabo en aquellos laboratorios que dispongan de instalaciones para virología molecular y se utiliza sobre todo para fines investigativos, se deben tener en cuenta las precauciones normales y los procedimientos de control necesarios para asegurar la validez de los resultados de la prueba (MacLachlan y Dubovi, 2011; OIE, 2012).

La detección de anticuerpos se realiza mediante ensayos serológicos tales como el inmunoensayo enzimático (ELISA) e inmunodifusión en gel de agar (AGID). Los anticuerpos más detectados son aquellos dirigidos contra la gp51 o p24. La mayoría de los ELISA y AGID de rutina detectan gp51, pues es la primera en aparecer. Se comercializan varios kits de AGID y ELISA, la prueba que se prefiere utilizar es el ELISA ya que son más sensibles que los AGID, son más rápidos de ejecutar, la lectura de sus resultados es objetiva y tiene más posibilidades de automatización (Wu et al., 1989; Toma et al. 1990; Dolz & Moreno, 1999; MacLachlan y Dubovi, 2011; OIE, 2012).

1.1.7 Tratamiento, profilaxis y control

No existe una vacuna ni tratamiento específico, por lo que se recomienda aplicar programas de control para disminuir y erradicar el virus. Los programas de control recomendados son: 1) Detección de animales positivos al BLV y la eliminación de animales seropositivos del hato por medio del sacrificio. Esto es difícil de realizar si se tienen prevalencias muy altas en el hato y si no existen subvenciones para los propietarios por el sacrificio de los animales. 2) En caso de no poder eliminar los animales seropositivos, se pueden manejar dos hatos separados (uno libre de leucosis y uno seropositivo), pero es alto el costo; 3) Instaurar buenas medidas de manejo dentro del hato para disminuir la transmisión del BLV como el uso de agujas y guantes individuales y la desinfección de los equipos,

instrumentos, instalaciones y áreas comunes. Se puede utilizar desinfección con agua caliente, luego clorhexidina (Nolvassan) y luego hipoclorito de sodio (Clorox, Lejía o agua de Javel), entre otros, manejar animales de remplazo seronegativos al BLV, no utilizar leche de vacas mastíticas ni de vacas seropositivas en la crianza de terneras. Sin embargo, la literatura reporta, que con la pasteurización de la leche de vacas positivas se logra inactivar los linfocitos infectados con BLV. Se recomienda realizar exámenes serológicos a los toros que se van a utilizar para monta natural y a los animales que se van a comprar para la finca, realizar exámenes de control a animales mayores de seis meses para ir descartando animales seropositivos, y se puede incluso realizar exámenes de control periódicos a la leche del tanque por medio de ELISA para verificar la ausencia del virus y manejar un hato cerrado cuando se tenga un hato libre de BLV. Si se maneja un hato negativo y uno positivo, se deben mantener al menos 50 metros de distancia uno de otro, y cuando se realicen descornes mantener los animales separados y siempre desinfectar el equipo entre cada animal (Ruppanner et al., 1983; Rubino & Donham, 1984; Toma et al. 1990; Mora, 1997; Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación España, 2006; Beita, 2008).

El programa a utilizar depende del país y de sus posibilidades, por ejemplo, en lugares como España, Finlandia y Turquía se realizaron métodos de muestreo y sacrificio de los animales positivos, en cambio en lugares como Lituania, Estados Unidos y Canadá les fue imposible utilizar el sacrificio de los animales positivos, pues habían hatos con prevalencias muy altas, por lo tanto optaron por muestrear y mejorar el manejo del hato (limpieza y desinfección de instrumentos, crianza de negativos, hato cerrado y muestrear todos los animales 2 veces al año, entre otros) (Ruppanner et al., 1983; Nuotio et al., 2003; Burgu et al., 2005; Acaite et al., 2007).

La experiencia de los países europeos que iniciaron su campaña contra la erradicación del virus hace varios años, muestra que la aplicación de medidas sanitarias clásicas, permite controlar la enfermedad. El plazo para lograr la erradicación depende de que tan alta sea la tasa de infección inicial de los rebaños y de las medidas que son aplicadas. Cuando los protocolos son empleados correctamente y la tasa de infección de los animales no es muy elevada, el saneamiento de los rebaños infectados se obtiene rápidamente (Toma et al. 1990).

1.1.8 Pérdidas económicas ocasionadas por el BLV

Hay una controversia en cuanto a las pérdidas que se generan por causa del BLV en el hato. Hay autores que reportan que el BLV no es responsable de pérdidas económicas considerables, y que éstas se verían únicamente en los bovinos que desarrollan linfomas (Toma et al., 1990; Pollari et al., 1991; Tiwari et al., 2007). Existen otros autores, que reportan pérdidas económicas de varios tipos, como por ejemplo, disminución en la producción de leche, restricción en las importaciones a otros países de productos o animales, aumento en el descarte voluntario prematuro, pérdidas al sacrificio por disminución de la condición corporal que puede llegar a bajar el valor del animal o pérdidas económicas por decomisos de la canal y condenas por tumores encontrados, costos por servicios veterinarios, medicamentos, horas extras de trabajo para aplicarlos y posible afección de la inmunidad de los animales (aumento de otras enfermedades) (Sargeant et al., 1997; Chi et al., 2002; Radostits, 2002; Ott et al., 2003; Erskine et al., 2012; OIE, 2012).

Los resultados de estudios que buscan relación entre el estatus al BLV y su efecto en producción y reproducción han sido inconsistentes. Por ejemplo, en la zona de Ontario, Canadá, Sargeant et al. (1997) analizaron una población de 1330 vacas de 102 granjas

diferentes, recolectaron muestras de suero de los animales durante un año y analizaron mediante AGID para detectar anticuerpos contra BLV. La prevalencia encontrada fue de 23%, y durante los siguientes 12 meses se recolectó información de la producción de los animales, encontrando que hatos con nivel de prevalencia bajos tenían más cantidad de producción (relación negativa entre nivel de producción y estatus serológico al BLV).

En cambio, un estudio más reciente realizado por Tiwari et al. (2007), buscó asociación entre la seropositividad al Virus de la Leucosis Bovina Enzoótica, Diarrea Viral Bovina, *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis y Neospora caninum* con las variables de producción kilogramos de leche a 305 días, grasa y proteína. Ellos recolectaron los siguientes datos durante enero de 1999 hasta diciembre del 2003: resultados de las muestras de suero, datos de producción de leche a 305 días, grasa y proteína en leche para un promedio de 2,3 lactancias por cada animal, información demográfica y datos de descarte. En los datos finales analizaron 342 hatos con 9834 vacas y 22665 lactaciones. Se tomaron muestras mensuales para las enfermedades estudiadas. Para buscar anticuerpos contra el BLV se utilizó ELISA. Los datos se analizaron por medio de un modelo linear mixto y tomando en cuenta las variables aleatorias. No se logró asociar el estatus de seropositivo a BLV con una disminución de la producción de leche a 305 días, la grasa y la proteína de la leche.

En otro estudio, Chi et al. (2002) realizaron un análisis de pérdidas directas y por tratamientos, usando un modelo parcial de presupuesto, en una hoja de cálculo para enfermedades como Diarrea Viral Bovina, Leucosis Bovina Enzoótica, Paratuberculosis y *Neospora*. El promedio de población utilizado para este estudio fue de 50 animales por hato. Los valores del estimado de leche por vaca a 305 días, precio de la leche, el costo de remplazo de animales, promedio de valor al matadero, valor del hato y valor de recién nacidos se

basaron en los resúmenes anuales de la Corporación para el Mejoramiento del Ganado de Leche en el Atlántico (ADLIC, por sus siglas en inglés) del año 2000 y comunicaciones personales de la industria. Para el caso de BLV los cálculos de prevalencia se obtuvieron del trabajo realizado por VanLeeuwen et al. (2001), en donde escogieron 90 hatos de Canadá (30 de cada una de las siguientes zonas: New Brunswick, Nova Scotia y Prince Edward Island) y en cada finca eligieron 30 animales al azar. Se utilizó la prueba ELISA para detectar anticuerpos contra BLV en los animales y se encontró 20,8%, 2,6% y 20,3% prevalencia en cada una de las zonas antes mencionadas. Las pérdidas directas fueron calculadas de la siguiente manera: en cuanto al rendimiento productivo tomaron en cuenta el estudio de VanLeeuwen et al. (2001), que estableció que la infección con BLV no tuvo efecto significativo en la producción de leche a 305 días, al igual que otros estudios anteriores, por lo que asumieron un 0% de reducción en la producción de leche debido a la infección con BLV. El rubro de descarte voluntario prematuro se calculó como el costo de remplazo. El precio del matadero y bajo valor en el matadero en el caso de BLV (ya que puede haber animales con linfosarcoma) se tomó como una reducción en el precio de matadero debido a la disminución en la condición corporal de los animales. En estos casos ellos consideraron valor al sacrificio 0 y el costo como el valor de remplazo sano. Como para el riesgo de sacrificio no se cuenta con estudios previos para calcular el valor del riesgo del sacrificio voluntario prematuro de animales infectados con BLV, se asumió que el riesgo era 0%, pues se asumió que no había pérdidas en la producción de leche en vacas seropositivas.

En cuanto a mortalidad se fijó un 2% basado en estudios previos debido a tumores en linfonodos, ya que una vez que se detectan tumores en más de un órgano interno la carcasa es decomisada, por lo tanto se asumió un 2% de mortalidad por año para animales infectados.

Las pérdidas productivas causadas por aborto debido a BLV se asumieron en un 0% ya que no se contaban con estudios sobre éste parámetro y no se había asociado el BLV a abortos hasta la fecha. En conclusión, se determinó para BLV costos anuales para un hato positivo de 50 animales las siguientes pérdidas directas de mortalidad ($775), costos de tratamiento veterinarios ($18.6), costos de medicamentos ($11.3), mano de obra adicional ($2.0), para un total de costos por tratamiento de $31.9. En total, a nivel de un hato de 50 animales los costos por presencia de BLV representarían $807 anuales (Chi et al., 2002).

En Estados Unidos se han realizado también estudios, pero se han enfocado más a estudiar las pérdidas económicas ocasinadas por hatos positivos a BLV. Por ejemplo, Ott et al. (2003) realizaron un estudio con 25 956 vacas de 976 fincas ubicadas en 20 estados de Estados Unidos. Las muestras se analizaron por medio de una prueba AGID, la prevalencia encontrada fue de 41%. Luego se realizó un análisis sobre la relación entre porcentaje de seropositividad contra el valor de producción anual (AVP) y la producción de leche. El valor de producción anual (AVP) se definió como: precio de la leche por Kg + valor anual de ternero al nacimiento - costo anual por remplazos (que incluye costo anual por cabeza - costo anual por vaca vendida - costo anual de vaca al matadero). En los resultados encontraron, que un incremento de un 1% en el resultado de seropositividad significaba una disminución de $1,28 por vaca por año ($p<0,01$) y una disminución de 4,7 Kg de leche producida por vaca por año ($p<0,01$). Al comparar hatos que poseían únicamente animales negativos contra hatos con animales positivos, los que tenían seropositivos produjeron 218 Kg menos de leche por vaca por año. El promedio en la reducción de AVP fue de $59 por vaca por año para hatos con vacas positivas comparado con hatos que tenían solo animales negativos. Hablando de la industria de la leche como un todo, la seropositividad al BLV se asocia a pérdidas para los

productores de $258 millones al año por disminución en la cantidad de dinero que dejan de percibir por la disminución en la producción de leche. Al disminuir la cantidad de leche a nivel mundial, para los consumidores hay pérdidas por $240 millones anuales por concepto de aumento en el precio de la leche (Ott et al., 2003).

Pollari et al. (1991) realizaron un estudio con 400 vacas de hatos lecheros de Estados Unidos. Se muestreó los animales al menos 1 vez al año por 3 años, y cuando eran descartados. Se muestrearon por medio de AGID para detectar anticuerpos contra BLV. Cuatro grupos fueron comparados: seronegativos (79), seropositivos sin linfocitosis (176), seropositivos con linfocitosis (74) y seropositivos con linfosarcoma (29). Los grupos de animales seropositivos parieron más veces y tuvieron intervalos entre partos más largos en comparación a los seronegativos. Sin embargo, el grupo de animales seropositivos tuvieron mayor potencial de producción a 305 días en la edad adulta, mayor % de grasa y fueron más viejas al descarte en comparación con animales seronegativos. Sin embargo, el porcentaje de producción de grasa por cada lactación fue mayor en animales seronegativos. En la última lactación completa las diferencias en predicción del potencial de producción, días abiertos y edad al descarte fueron no significativos. En la lactación al descarte únicamente los animales con leucocitosis tuvieron una producción de leche reducida en comparación con animales seronegativos, sin embargo, la diferencia no fue significativa. Únicamente animales con linfocitosis fueron descartados cuatro meses antes que el promedio de animales sin linfocitosis.

D'Angelino et al. (1998) realizaron un estudio con hatos de Sao Paulo, Brasil, en los cuales se analizaron animales de distintas fincas de producción de leche. Se recolectaron las muestras y se analizaron por medio de AGID. Se analizó la producción y reproducción durante

un periodo productivo, tomando en cuenta: producción de leche (n=547), intervalo entre partos (n=444) y tasa de preñez (n=557). En producción, la media fue 11% menor en animales positivos a BLV (19,4 Kg por día) en comparación con animales seronegativos (21,8 Kg por día), en cuanto a los valores de reproducción no se encontró diferencia significativa.

En cuanto a nuestro país, Dávila (2010) realizó un estudio longitudinal durante dos lactancias con 1321 animales de 26 fincas de Costa Rica. Las muestras fueron analizadas por medio de ELISA indirecto. En total resultaron 621 vacas seronegativas, 173 seroconvertidas y 527 seropositivos, determinándose una incidencia global de 21,79%. En este estudio se determinó una disminución en la media de producción de leche de un 4,82% en seropositivas (7062,17 Kg) y 15,58% en seroconvertidas (6263,75 Kg), en comparación con las vacas seronegativas (7420,55 Kg). En cuanto a reproducción, se comparó intervalo entre partos (IEP), parto primer celo (PPC), parto primer servicio (PPS), servicios por concepción (SC) y días abiertos (DA). Se encontró una diferencia significativa en IEP en grupo de vacas seroconvertidas y seropositivas con respecto a vacas seronegativas en los grupos de 1-2 lactancias y 3-5 lactancias ($p<0,05$ en ambos grupos). Se determinó efecto significativo del BLV sobre el IEP en los grupos de vacas con 1-2 lactancias con diferencias de 21 días entre vacas seronegativas (396,38 días) y seropositivas (418,82 días). Sin embargo, se concluyó que la seropositividad tenía poco efecto sobre los parámetros reproductivos.

1.2 Justificación

En Costa Rica hay aproximadamente 14 355 fincas productoras de leche, con un total de 173 433 cabezas de ganado, de las cuales 93% son hembras. Si se considera la seroprevalencia de BLV del 41,0% (Beita, 2008), se podría estimar un total de 66 420 vacas seropositivas al BLV (Zúñiga et al., 2005; González 2012).

En el país se han realizado hasta la fecha estudios transversales que determinan el estado serológico al BLV en un hato en un momento dado (Rodríguez, 1980; Jiménez et al., 1995; Beita, 2008). Dávila (2010) realizó un estudio longitudinal, en donde se determinó una disminución en la producción de leche en vacas seropositivas y seroconvertidas, pero no encontró diferencias en parámetros reproductivos durante dos lactancias. Sin embargo, no se han realizado estudios longitudinales por cuatro o más lactancias, y que calculen las pérdidas ocasionadas por BLV en Costa Rica.

En el 2012 la estructura porcentual de los costos de producción de una finca lechera se distribuyó de la siguiente manera: 51,82% alimentación, 20,34% mano de obra, 5,97% reproducción y salud, 7,42% mantenimiento, 5,72% transportes, 2,95% servicios, 2,47% egresos financieros, 2,20% depreciación de activos y 1,11% otros (González, 2012). Al estar presente el BLV en una finca, algunos de estos costos podrían aumentar y no se obtendría la misma relación costo/beneficio pues los animales podrían no estar produciendo como se espera.

El presente trabajo pretende determinar el efecto de la infección con BLV sobre los principales parámetros productivos y reproductivos de animales con estatus serológico conocido (positivas, negativas o seroconvertidas) durante al menos cuatro lactancias completas y calcular un estimado de las pérdidas económicas que representa.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Estimar el efecto de la infección con BLV sobre parámetros productivos y reproductivos de hatos lecheros especializados de Costa Rica en un periodo de al menos cuatro lactancias completas.

1.3.2 Objetivos específicos

- Estimar el efecto de la infección con BLV sobre los parámetros productivos como producción total de leche y producción de leche a los 305 días en los animales estudiados.
- Estimar el efecto de la infección con BLV sobre los parámetros reproductivos como intervalo entre partos, intervalo parto-concepción, intervalo parto-primer celo, intervalo parto-primer servicio y servicios por concepción en los animales estudiados.

2. METODOLOGíA

2.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio longitudinal, donde se analizó la misma población durante cuatro lactancias completas, y se estimó la incidencia, el efecto de la infección con BLV sobre los principales parámetros productivos y reproductivos en los animales estudiados y se realizó un cálculo estimado de las pérdidas económicas que representaría.

2.2 Población a estudiar

Se realizaron tres muestreos para conocer el estatus serológico al BLV de una población de vacas especializadas de diferentes lugares del país. El primer muestreo se realizó en el 2006, el segundo en el 2009 y el tercero en el 2012.

La población a estudiar se dividió en diferentes periodos, a saber:

- Primer periodo: fincas que fueron analizadas en el primer y segundo muestreo, en total 20 fincas.
- Segundo Periodo: se incluyó fincas que se analizaron en el segundo y tercer muestreo, en total 13 fincas
- Periodo Total: se analizó 24 fincas en el primer y tercer muestreo.

Todas estas explotaciones utilizaron el programa VAMPP Bovino durante el tiempo que duró el proyecto. A cada uno de los productores se les invitó a participar en la parte final de la investigación y se les envió la lista de los animales que fueron analizados hace seis años (seropositivos y seronegativos), éstos fueron los animales que participaron en la presente investigación.

2.3 Toma de las muestras

La muestra de sangre se tomó de la vena coccígea, con el sistema de vacutainer, con un tubo con vacío sin anticoagulante. Se tomó 3 ml de sangre por cada animal, la cual se dejó a temperatura ambiente 30 minutos hasta formar el coágulo. Luego se transportó al laboratorio a 4°C, donde se centrifugó a 10 000 g por 10 minutos. Se separó el suero y se almacenó a -20°C hasta su análisis.

2.4 Análisis serológico

Se utilizó un ensayo inmunoenzimático indirecto (ELISA) de la compañía SVANOVA, Uppsala, Suecia (SVANOVIR® BLV gp51-Ab), para la detección de anticuerpos contra BLV en suero bovino. Este ensayo reporta una sensibilidad de 100% y una especificidad de 99,7% (Svanova, 2011).

El ensayo se realizó de la siguiente manera: se añadieron 100 µl de tampón de dilución en todos los pozos y luego se añadieron 4 µl del suero control positivo y negativo por duplicado a los primeros cuatro pozos y 4 µl de cada una de las muestras de suero. Se agitó la placa y se dejó incubar por 1 hora a 37ºC. Se lavó la placa 3 veces con solución PBS-Tween, luego se agregó 100 µl de conjugado (antibovino IgG peroxidasa) a cada pocillo y se dejó incubar por otra hora a 37ºC. Se lavó la placa 3 veces con solución PBS-Tween, luego se añadió 100 µl de sustrato tetrametilbenzidina (TMB) a cada pocillo y se dejó incubar en la oscuridad y temperatura ambiente por 10 minutos. Finalmente se agregó 50 µl de solución de parado (H_2SO_4). El cambio de color en los pozos fue proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en el suero. Se midió la densidad óptica (DO) por medio de un fotómetro de microplacas a 450 nm y por medio de la siguiente fórmula se estableció el Porcentaje de

Positividad (PP) de cada suero: PP=*((DO Muestra o Control Negativo) / (DO Control Positivo)) x 100*. Los sueros de animales cuyos PP arrojaron valores mayores o iguales a 20% se consideraron positivos y sueros de animales con PP menores a 20% se consideraron negativos. El ensayo fue válido si la DO del control positivo resultó mayor a 1,0 y el PP del control negativo menor a 15%.

2.5 Análisis de los datos

Se determinó la incidencia de cada una de las fincas en los diferentes periodos (primero, segundo y periodo total), esto se calculó de la siguiente manera:

$$Incidencia = \left(\frac{seroconvertidos}{animales\ en\ riesgo}\right) * 100$$

Animales en riesgo son los animales seronegativos al inicio.

A cada finca se le asignó un número que coincidió durante todos los periodos analizados.

Los parámetros que se analizaron para cada animal fueron:

- **Parámetros productivos:** producción total de leche, producción de leche a los 305 días.
- **Parámetros reproductivos:** intervalo entre partos (IEP), intervalo parto a concepción (IPC), días parto al primer celo (PPC), días parto al primer servicio (PPS), servicios por concepción (SC).

Estos datos fueron recopilados por medio de la base de datos del programa VAMPP Bovino del Centro Regional de Informática para la Producción Animal Sostenible (CRIPAS) y se analizaron estadísticamente por medio de un modelo de regresión lineal mixta, utilizando

como covariables la raza, el número de lactancia, la zona ecológica y la variable de efecto aleatorio hato-época. La descripción de cada una de las variables utilizadas se describe en el Cuadro 1.

Se realizó también estadística descriptiva, donde se calculó la media, la mediana y la desviación estándar para las variables continuas y se calculó porcentajes para las variables discretas (Cuadro 1). El intervalo de confianza se estableció en 95%.

Asimismo, se estimó el efecto del BLV sobre los principales parámetros productivos y reproductivos durante al menos cuatro lactancias completas. Esto se realizó por medio de un modelo múltiple lineal mixto en donde se creó un modelo para evaluar cada variable dependiente (producción total de leche, producción de leche a 305 días, intervalo entre partos, intervalo parto-concepción, intervalo parto-primer celo, intervalo parto-primer servicio y servicios por concepción).

El modelo estadístico para cada variable dependiente fue:

$Yijkl = \mu 0 + est_i + eco_j + lace_k + ra_l + eijkl$

Donde:

Yijklm = variable dependiente evaluada.

$\mu 0$ = Media general.

est_i = Efecto fijo i-*ésimo* de la infección con BLV (i = positivo, negativo, seroconvertido)

eco_j = Efecto fijo *j-ésimo* ecozona (*j* = bh-MB, bh-P, bmh-P, bh-T, bp-MB, bp-P, bmh-M)

$lace_k$ = Efecto fijo *k-ésimo* del número de lactancias en estudio (*k* = ≤ 4 lactancias, > 4 lactancias)

ra_l = Efecto *l-ésimo* de la raza (*l* = H8, J8, H4J4, otras)

eijkl = Efecto aleatorio residual.

Finalmente se realizó el análisis de las pérdidas económicas que ocasiona el BLV en hatos de Costa Rica, tomando en cuenta el costo del día abierto, costo por inseminación, costo de la pajilla de semen y el monto que recibe el productor por Kg de leche vendida. A continuación se detallan los valores que se utilizaron:

El costo por día abierto se tomó de De Vries (2006), que reporta costos que varían entre $3.19 a $5.41 por vaca por año para cada día abierto extra en Estados Unidos. Dentro de ese estudio se tomó en cuenta valores como mano de obra, costos veterinarios, compra de animales, costos de crianza, costos de alimentación, venta de terneros, venta de vacas y venta de leche. Otros estudios hablan de costos operativos, tal es el caso, en el estudio realizado por Vargas et al. (2012), el cual reporta parámetros comparativos de la eficiencia bioeconómica de las tres principales razas Holstein, Jersey y Holstein x Jersey en la zona Bosque Muy Húmedo Premontano de Costa Rica. En ese estudio se determinó que para Holstein el costo operativo por vaca adulta fue de $1876 por vaca, con una desviación estándar (D.E.) de $232, las Holstein x Jersey de $1771 (D.E. $222) y las Jersey $1610 (D.E. $217). Este estudio incluyó el costo de alimentación. El costo por vaca por día abierto que se estableció en el presente estudio varió entre los $3 y $6.

Para el costo por inseminación se tomó el parámetro servicios por concepción. Para cada inseminación adicional hay un costo de pajilla de semen. No se incluyó el costo del servicio de inseminación como tal, porque usualmente cada finca tiene una persona encargada de esa tarea. El rango del costo de la pajilla es muy amplio pues depende del toro escogido, las cualidades que se desean mejorar, la casa productora del semen y del tipo de semen que se elija (sexado o sencillo), el valor que se estableció fue de $13 a $55 (Villavicencio, 2014).

En cuanto al precio de leche al productor, Proleche (2013) informó que los precios a nivel internacional rondaron entre los $0,44 en Estados Unidos y Nueva Zelanda y $0,48 para Europa. Costa Rica no está muy alejada de los datos internacionales teniendo en promedio precios por Kg de leche vendida en el 2010 de $0,46 para leche sin bonificaciones y $0,48 para leche con bonificaciones, y ya para el 2013, el precio se encontraba entre $0,45 a $0,49 dependiendo de la calidad de la leche y sin incluir bonificaciones (leche con 11,7% de sólidos totales (ST) y 3% grasa para el primer dato y 12,57% ST y 3,82% de grasa para el segundo). En el presente estudio se tomó en cuenta un rango de pago de $0,45 a $0,50.

En el análisis no se incluyeron los costos por concepto de medicamentos, trabajo extra en la finca, disminución en la condición corporal, costo por condenas en matadero y costo por restricciones en la importación, ya que estos son valores que no fueron cuantificadas dentro del estudio actual como parte de las variables analizadas.

Cuadro 1. Variables utilizadas en el análisis de los efectos de la infección con BLV sobre los principales parámetros productivos y reproductivos en vacas lecheras de Costa Rica.

Variable	Condición	Tipo de variable	Nivel de variable	Descripción
Producción total de leche	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Kg ≥ P65 *1 P36 - P64 ≤ P35
Producción de leche a los 305 días	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Kg ≥ P65 P36 - P64 ≤ P35
Intervalo entre partos (IEP)	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Días ≥ P65 P36 - P64 ≤ P35
Intervalo parto-concepción (IPC)	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Días ≥ P65 P36 - P64 ≤ P35
Intervalo parto-primer celo (PPC)	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Días ≥ P65 P36 - P64 ≤ P35
Intervalo parto-primer servicio (PPS)	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Días ≥ P65 P36 - P64 ≤ P35
Servicios por concepción (SC)	Dependiente	Continua Politómica	Continua Alto Medio Bajo	Servicios ≥ P65 P36 - P64 ≤ P35
Raza	Independiente	Politómica Discreta	H8 J8 H4J4 G4 O	Holstein Pura *2 Jersey Pura *2 Holstein x Jersey Guernsey Otras *3

*1 P=percentil i-ésimo.
*2 Raza pura posee más de 5/8 de la raza.
*3 Incluye otras razas puras y cruces.

Cuadro 1. (Continuación). Variables utilizadas en el análisis de los efectos de la infección con BLV sobre los principales parámetros productivos y reproductivos en vacas lecheras de Costa Rica.

Variable	Condición	Tipo de variable	Nivel de variable	Descripción
Zona Ecológica	Independiente	Politómica Discreta	bh-MB bh-P bmh-P bh-T bp-MB bp-P bmh-M	Según clasificación de zonas de vida de Holdridge*4
Cantidad de lactancias completas en el estudio (Cosechas)	Independiente	Dicotómica Discreta	> 4	Más de cuatro lactancias completas (>4 lactancias)
			= 4	Cuatro lactancias completas (= 4 lactancias)
Estatus serológico	Independiente	Politómica Discreta	0	Negativa PP<20 en ambos muestreos *5
			1	Seroconvertida PP<20 en primer muestreo y PP ≥20 en segundo muestreo
			2	Positiva PP ≥ 20 en ambos muestreos
Hato	Independiente Aleatoria	Continua Ordinal		1 - 34
Época de parto más frecuente		Politómica Discreta	0	Seca (Dic, En, Feb, Mar, Ab)
			1	Lluviosa (May, Jun, Jul, Ag, Set, Oct, Nov)

*4 bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bh-T = Bosque húmedo tropical, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.
*5 PP = porcentaje de positividad.

3. RESULTADOS

Durante el primer periodo (2006-2009) se analizaron 20 fincas y un total de 616 animales. Un total de 458 animales resultaron seronegativos, 129 seroconvirtieron y 29 permanecieron positivos. La incidencia global para este periodo se determinó en 21,98% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Incidencia de BLV en 20 fincas durante el primer periodo del estudio (2006-2009).

Finca Número	Total Animales	Negativos	Seroconvertidos	Positivos	Incidencia
1	27	17	8	2	32,00
2	34	14	19	1	57,58
3	40	39	1	0	2,50
4	18	4	14	0	77,78
5	39	36	3	0	7,69
6	79	69	10	0	12,66
7	11	0	11	0	100,00
8	65	64	1	0	1,54
9	28	27	1	0	3,57
10	26	21	5	0	19,23
11	12	3	9	0	75,00
12	54	14	14	26	50,00
13	27	25	2	0	7,41
14	14	4	10	0	71,43
15	12	7	5	0	41,67
16	63	63	0	0	0,00
17	18	16	2	0	11,11
18	8	4	4	0	50,00
19	22	17	5	0	22,73
20	19	14	5	0	26,32
TOTALES	**616**	**458**	**129**	**29**	**21,98**

Durante el segundo periodo (2009-2012) se analizaron 13 fincas y un total de 138 animales, de los cuales 85 resultaron seronegativos, 18 seroconvirtieron y 35 permanecieron positivos durante todo el estudio. La incidencia global para el segundo periodo fue de 17,48%. Las fincas 6 y 7 no se tomaron en cuenta para el análisis de incidencia porque todos los animales encontrados fueron seropositivos, pero si se incluyeron en el análisis estadístico (Cuadro 3)**.**

Cuadro 3. Incidencia de BLV en 13 fincas durante el segundo periodo del estudio (2009-2012).

Finca Número	Total Animales	Negativos	Seroconvertidos	Positivos	Incidencia
1	14	6	4	4	40,00
2	16	3	3	10	50,00
3	21	21	0	0	0,00
4	3	1	0	2	0,00
5	14	13	1	0	7,14
6	1	0	0	1	N/A
7	6	0	0	6	N/A
8	22	22	0	0	0,00
9	4	4	0	0	0,00
10	9	6	3	0	33,33
11	1	0	1	0	100,00
12	15	3	1	11	25,00
13	12	6	5	1	45,45
TOTALES	**138**	**85**	**18**	**35**	**17,48**

Para el periodo total (2006-2012) se analizaron 282 animales de 24 fincas, de los cuales 148 fueron seronegativos, 77 seroconvirtieron y 57 permanecieron positivos durante todo el periodo. La incidencia global para el periodo total fue de 34,22%. En la finca 11 el único animal encontrado fue seropositivo durante todo el estudio, por lo cual no se tomó en cuenta para la incidencia global de periodo total, sin embargo, si se incluyó dentro del análisis estadístico (Cuadro 4)**.**

Cuadro 4. Incidencia de BLV en 24 fincas durante el periodo total del estudio (2006-2012).

Finca Número	Total Animales	Negativos	Seroconvertidos	Positivos	Incidencia
1	17	7	8	2	53,33
2	16	3	13	0	81,25
3	24	24	0	0	0,00
4	4	1	2	1	66,67
5	17	13	1	3	7,14
6	1	0	1	0	100,00
7	12	0	7	5	100,00
8	22	22	0	0	0,00
9	4	4	0	0	0,00
10	9	6	3	0	33,33
11	1	0	0	1	N/A
12	15	3	9	3	75,00
13	17	8	5	4	38,46
14	6	3	2	1	40,00
*21	10	0	2	8	100,00
*22	12	9	1	2	10,00
*23	4	4	0	0	0,00
*24	13	2	6	5	75,00
*25	15	15	0	0	0,00
*26	36	2	15	19	88,24
*27	3	2	1	0	33,33
*28	13	9	1	3	10,00
*29	7	7	0	0	0,00
*30	4	4	0	0	0,00
TOTALES	**282**	**148**	**77**	**57**	**34,22**

*Fincas que se analizaron únicamente para el periodo total pues únicamente fueron muestreadas durante el 2006 y el 2012.

En los cuadros 5 y 6 se muestran los valores obtenidos en el análisis descriptivo de las variables producción total de leche (Kg Total) y producción de leche a 305 días (Kg 305d). Se determinó una tendencia para todos los periodos (primero, segundo y total) en que la cantidad de Kg producidos fue siempre mayor en los animales seronegativos, en comparación con animales seroconvertidos y positivos (Cuadros 5 y 6).

Cuadro 5. Estadística descriptiva de las variables de producción para el primer y el segundo periodo.

Variable	Estrato	Primer Periodo (2006-2009)					Segundo Periodo (2009-2012)				
		n*	Media	DE**	IC***		n*	Media	DE**	IC***	
					Min	Max				Min	Max
Negativos	Kg Total	428	7103,29	1732,31	3200,00	11931,00	85	7131,87	1460,63	3200,00	9977,25
	Kg 305d	431	6503,91	1397,45	3200,00	10768,50	85	6611,41	1204,58	3200,00	8770,40
Seroconvertidos	Kg Total	109	6432,01	1588,41	3200,00	10966,50	18	6498,67	1468,11	3958,00	10546,00
	Kg 305d	111	6026,82	1388,20	3200,00	9489,40	18	6101,84	1189,21	3958,00	8583,50
Positivos	Kg Total	26	5051,49	971,86	3625,00	7757,67	35	6286,90	1348,08	3200,00	9134,00
	Kg 305d	26	4906,32	941,69	3584,50	7550,00	35	5882,70	1226,65	3200,00	9039,00

*n=número de animales analizado ** DE = desviación estándar ***IC = intervalo de confianza
Kg Total = producción total de leche, Kg 305d = producción de leche a 305 días promedio.

Cuadro 6. Estadística descriptiva de las variables de producción para el periodo total.

Variable	Estrato	Periodo Total (2006-2012)				
		n*	Media	DE**	IC***	
					Min	Max
Negativos	Kg Total	92	7031,23	1458,35	3200	9977,25
	Kg 305d	92	6545,53	1191,81	3200	8770,40
Seroconvertidos	Kg Total	53	6300,71	1469,83	3200	10546,00
	Kg 305d	53	5918,30	1301,69	3200	9039,00
Positivos	Kg Total	27	6663,71	1176,46	3200	8420,67
	Kg 305d	27	6274,47	1052,74	3200	8180,50

*n=número de animales analizado ** DE = desviación estándar ***IC = intervalo de confianza
Kg Total = producción total de leche, Kg 305d = producción de leche a 305 días promedio.

En los cuadros 7 y 8 se muestra el resultado del análisis descriptivo para las variables de reproducción para el primer y segundo periodo, y para el periodo total. Se determinó que la media de las variables IEP, IPC y PPC de los animales seropositivos fueron menores que la de los animales seroconvertidos o seronegativos durante el primer periodo, sin embargo, estos parámetros tienden a aumentar con el tiempo en los animales seropositivos. En el segundo periodo y el periodo total se observa por consiguiente una tendencia de mejores valores de IEP, IPC y PPC en animales seronegativos respecto a animales seroconvertidos y seropositivos. Los animales seroconvertidos mostraron valores más altos en comparación con el resto de los animales para el segundo periodo y el total del periodo (Cuadros 7 y 8).

El parámetro intervalo parto-primer servicio se comportó de una manera diferente. En el primer periodo las vacas seropositivas tuvieron menor intervalo PPS (78 días) en comparación con animales seroconvertidos y seronegativos (100 y 84 días, respectivamente), y los animales seroconvertidos el mayor intervalo; en el segundo periodo la variable se comportó de igual manera (85 días para seropositivos, 90 para seroconvertidos y 87 para seronegativos). Sin embargo, en el periodo total los animales seropositivos mostraron valores mayores de PPS (96 días), que vacas seronegativas (87 días) (Cuadros 7 y 8).

Los animales seropositivos mostraron valores menores de SC que el resto de los animales (1,85 SC) durante el primer periodo, sin embargo, para el segundo periodo y periodo total los animales seronegativos presentan valores de SC menores (2 SC y 1,99 SC, respectivamente) comparado con seropositivos que presentaron el mayor valor (Cuadro 7 y 8).

Cuadro 7. Estadística descriptiva de las variables de reproducción para el primer y segundo periodo.

Variable	Estrato	Primer Periodo (2006-2009)					Segundo Periodo (2009-2012)				
		n*	Media	DE**	IC***		n*	Media	DE**	IC***	
					Min	Max				Min	Max
Positivos	IEP	26	385,57	37,83	332,25	502,00	35	427,61	66,52	345,33	605,50
	IPC	26	118,61	35,68	64,60	195,33	35	146,87	49,46	77,38	278,00
	PPC	16	62,42	97,39	9,00	415,00	32	74,03	63,90	11,00	282,00
	PPS	27	78,83	17,76	51,00	135,00	35	85,48	21,48	57,33	150,75
	SC	26	1,85	0,68	1,00	3,50	35	2,31	0,93	1,00	5,25
Seroconvertidos	IEP	112	417,62	74,76	220,00	726,00	18	427,64	65,23	332,75	544,00
	IPC	115	155,35	76,52	62,50	412,00	18	148,32	61,12	61,80	284,00
	PPC	85	68,26	62,11	4,00	282,00	16	56,39	34,64	19,00	140,00
	PPS	115	100,91	46,12	36,25	293,50	18	90,24	26,77	61,80	147,00
	SC	115	2,14	1,08	1,00	6,50	18	2,09	0,73	1,00	3,67
Negativos	IEP	410	402,86	60,18	277,00	698,00	84	409,30	41,50	349,00	567,67
	IPC	435	145,51	80,31	45,00	761,00	85	131,30	41,23	58,00	283,67
	PPC	341	60,41	62,84	3,00	453,00	75	49,55	32,04	10,50	217,00
	PPS	437	84,85	25,31	39,00	210,50	85	87,24	19,69	53,33	153,60
	SC	435	2,21	1,26	1,00	11,00	85	2,00	0,64	1,00	4,25

*n=número de animales analizado ** DE = desviación estándar ***IC = intervalo de confianza. IEP=intervalo entre parto, IPC = intervalo parto-concepción, PPC = parto-primer celo, PPS = parto-primer servicio, SC = servicios por concepción.

Cuadro 8. Estadística descriptiva de las variables de reproducción para el total del periodo.

Variable	Estrato	Total del Periodo (2006-2012)				
		n*	Media	DE**	IC***	
					Min	Max
Positivos	IEP	37	424,05	61,92	337,25	595,67
	IPC	37	151,93	61,87	60,60	308,25
	PPC	32	64,75	40,66	11,00	164,00
	PPS	37	96,04	36,42	52,80	218,33
	SC	37	2,19	0,75	1,25	4,25
Seroconvertidos	IEP	59	432,54	70,26	332,75	689,00
	IPC	59	153,79	63,05	61,80	409,50
	PPC	53	76,05	54,73	21,00	282,00
	PPS	59	92,57	30,92	57,33	207,67
	SC	59	2,18	0,87	1,00	5,25
Negativos	IEP	125	407,59	42,49	334,00	567,70
	IPC	126	131,24	41,92	58,00	283,67
	PPC	109	49,46	30,11	10,50	217,00
	PPS	126	87,65	19,88	53,33	153,60
	SC	126	1,99	0,74	1,00	5,25

*n=número de animales analizado ** DE = desviación estándar ***IC = intervalo de confianza. IEP=intervalo entre parto, IPC = intervalo parto concepción, PPC = parto-primer celo, PPS = parto-primer servicio, SC = servicios por concepción.

En los cuadros 9 y 10 se muestran los resultados del análisis multivariado del efecto del estatus serológico a BLV sobre la producción total de leche. Se determinó efecto significativo de la producción total de leche en el primer periodo, produciendo los animales seropositivos 710 Kg de leche menos, en comparación con animales seronegativos (p=0,04) (Cuadro 9). No se determinó efecto significativo sobre la producción total promedio en el segundo periodo ni en el periodo total, esto ajustado por las variables zona ecológica, raza y número de lactancias (Cuadro 9 y 10). Los animales seroconvertidos mostraron resultados cercanos a lo estadísticamente significativo durante el primer y segundo periodo, produciendo 320 Kg y 679 Kg menos, en comparación con los animales seronegativos (p=0,06 para ambos periodos) (Cuadro 9).

Cuadro 9. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción total de leche (Kg Total) para el primer periodo (n=563) y segundo periodo (n=138).

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE	P
Intercepto		-	7309,33	693,62	<0,0001	-	7779,48	1054,46	<0,0001
Seroestatus	Positivos	6334,89	-710,01	346,17	0,04	7167,97	-98,09	357,20	0,78
al BLV	Seroconvertidos	6724,14	-320,76	173,74	0,06	6586,73	-679,34	357,98	0,06
	Negativos	7044,90	0	0	0	7266,07	0	0	0
Raza	H8	7206,24	558,48	378,16	0,14	7346,13	187,56	676,97	0,78
	J8	5940,62	-707,14	388,38	0,07	5942,22	-1216,35	734,47	0,10
	H4J4	7010,61	362,84	456,90	0,43	7580,79	422,22	762,78	0,58
	O	6647,77	0	0	0	7158,56	0	0	0
Lactancias	> 4	6918,57	434,52	119,95	0,0003	7406,99	800,14	243,72	0,0013
	= 4	6484,05	0	0	0	6606,85	0	0	0
Ecozona	bh-MB	6929,17	-307,37	1094,7	0,78	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	6657,85	-578,69	976,73	0,55	6681,78	-1086,98	1423,11	0,45
	bmh-P	7680,01	443,46	1407,07	0,75	7697,40	-71,36	1716,21	0,97
	bp-MB	5493,83	-1742,71	828,81	0,04	6797,10	-971,66	1221,49	0,43
	bp-P	6210,46	-1026,08	975,51	0,29	6089,57	-1679,19	1365,43	0,22
	bmh-M	7236,54	0	0	0	7768,76	0	0	0

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

Durante los tres periodos las vacas con más de cuatro lactancias produjeron mayor cantidad de leche (primer periodo 434 Kg, p=0,0003; segundo periodo 800 Kg, p=0,0013 y periodo total 539 Kg, p=0,02), en comparación con animales de cuatro lactancias (Cuadros 9 y 10).

Animales que vivían en la ecozona Bosque Pluvial Montano Bajo produjeron 1742 Kg menos de leche con respecto a vacas que vivían en la ecozona de referencia Bosque muy Húmedo Montano (p=0,04) (Cuadro 9).

Cuadro 10. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción total de leche (Kg Total) para el periodo total (n=172)

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	6874,04	847,32	<0,0001
Seroestatus	Positivos	6874,48	-296,30	339,21	0,38
al BLV	Seroconvertidos	6676,35	-494,43	293,64	0,09
	Negativos	7170,78	0	0	0
Raza	H8	7391,13	711,73	523,93	0,18
	J8	5868,15	-811,25	559,33	0,15
	H4J4	7690,11	1010,71	611,16	0,10
	O	6679,40	0	0	0
Lactancias	> 4	7176,79	539,18	229,58	0,02
	= 4	6637,61	0	0	0
Ecozona	bh-MB	7078,26	-29,59	1559,68	0,98
	bh-P	6561,05	-546,80	1201,83	0,65
	bmh-P	7548,69	440,84	1473,28	0,77
	bp-MB	6609,93	-497,92	982,07	0,61
	bp-P	6537,41	-570,44	1031,42	0,58
	bmh-M	7107,85	0	0	0

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

Los resultados del análisis del efecto del estatus serológico a BLV sobre la producción de leche a los 305 días se muestra en los cuadros 11 y 12. Los animales seroconvertidos mostraron un efecto significativo, produciendo 654 Kg menos de leche, en comparación con animales seronegativos, durante el segundo periodo (p=0,02), ajustado por las variables zona ecológica, raza y número de lactancias; mientras que en el periodo total los animales seroconvertidos mostraron diferencias cercanas a lo estadísticamente significativo, produciendo 427 Kg menos de leche, en comparación con las vacas seronegativas (p=0,08) (Cuadros 11 y 12).

Cuadro 11. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción de leche a los 305 días (Kg 305 d) para el primer periodo (n=568) y segundo periodo (n=138).

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	7159,07	507,61	<0,0001	-	7522,30	772,19	<0,0001
Seroestatus	Positivos	6199,59	-322,01	281,26	0,25	6596,53	18,47	296,13	0,95
al BLV	Seroconvertidos	6334,46	-187,14	140,85	0,18	5923,51	-654,55	296,82	0,02
	Negativos	6521,60	0	0	0	6578,06	0	0	0
Raza	H8	6824,18	302,04	304,64	0,32	6768,98	260,79	555,41	0,64
	J8	5535,43	-986,71	312,75	0,0017	5440,28	-1067,90	596,03	0,08
	H4J4	6525,79	3,64	370,77	0,99	6746,71	238,52	628,66	0,71
	O	6522,14	0	0	0	6508,18	0	0	0
Lactancias	> 4	6359,74	15,72	97,09	0,87	6531,99	331,91	202,55	0,10
	= 4	6344,02	0	0	0	6200,08	0	0	0
Ecozona	bh-MB	6418,84	-408,12	783,99	0,60	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	6433,52	-393,44	693,48	0,57	6118,85	-1215,23	1030,67	0,24
	bmh-P	7044,75	217,79	1005,90	0,83	6872,04	-462,04	1235,76	0,71
	bp-MB	5543,55	-1283,41	595,13	0,03	6189,06	-1145,02	890,02	0,20
	bp-P	5843,69	-983,27	700,30	0,16	5316,16	-2017,92	1000,90	0,05
	bmh-M	5826,96	0	0	0	7334,08	0	0	0

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

Animales que vivían en la zona Bosque Pluvial Montano Bajo produjeron 1283 Kg menos (p=0,02) de leche durante el primer periodo del estudio y los animales de la zona Bosque Pluvial Premontano produjeron 2017 Kg menos (p=0,05) durante el segundo periodo, comparado con animales de la zona bosque Muy Húmedo Montano (Cuadro 11).

Finalmente, se determinó para el primer periodo efecto de la raza Jersey sobre la producción a 305 días produciendo ésta 986 Kg menos de leche en comparación con el grupo otras razas (p=0,0017) (Cuadro 11).

Cuadro 12. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el valor de la producción de leche a los 305 días (Kg 305 d) para el periodo total (n=172)

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	6808,37	649,41	<0,0001
Seroestatus	Positivos	6348,27	-247,05	281,23	0,38
al BLV	Seroconvertidos	6168,23	-427,09	243,44	0,08
	Negativos	6595,32	0	0	0
Raza	H8	6898,96	705,31	431,30	0,10
	J8	5422,07	-771,59	457,85	0,09
	H4J4	6967,74	774,08	505,36	0,12
	O	6193,66	0	0	0
Lactancias	> 4	6464,22	187,22	190,37	0,32
	= 4	6277,00	0	0	0
Ecozona	bh-MB	6638,49	-215,72	1185,33	0,86
	bh-P	6021,14	-833,07	908,40	0,36
	bmh-P	6816,37	-37,85	1106,11	0,97
	bp-MB	6067,35	-786,86	744,60	0,29
	bp-P	5826,07	-1028,15	782,15	0,19
	bmh-M	6854,21	0	0	0

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

En los cuadros 13 y 14 se analizó el estatus serológico al BLV sobre el intervalo entre partos, ajustado a las variables zona ecológica, raza y número de lactancias, determinándose un efecto significativo en el periodo total del estudio. El IEP en animales seroconvertidos fue de 463 días y en seronegativos fue 444 días. Al comparar estos dos grupos de animales, los seroconvertidos mostraron 19,24 días más de IEP comparados con seronegativos (p=0,05) (Cuadro 14).

En este análisis también se estableció que animales con más de cuatro lactancias mostraron 28,80 días, 62,75 y 52,90 más días de IEP, en comparación con animales de cuatro lactancias (p<0,0001) durante el primer periodo, el segundo periodo y el periodo total, respectivamente (Cuadros 13 y 14).

Cuadro 13. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo entre partos (IEP) promedio para el primer periodo (n=548) y segundo periodo (n=137).

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	- 370,1	17,4	<0,0001	-	377,19	26,97	<0,0001
Seroestatus	Positivos	383,4	-21,3	15,1	0,16	432,59	-2,2	13,24	0,87
al BLV	Seroconvertidos	404,0	-0,8	7,6	0,92	451,69	16,91	13,43	0,21
	Negativos	404,7	0	-	-	434,77	0	-	-
Raza	H8	411,0	20,2	15,1	0,18	437,53	7,34	24,19	0,76
	J8	394,9	4,1	15,1	0,79	432,67	2,48	25,16	0,92
	H4J4	392,9	2,1	19,5	0,91	458,34	28,15	27,81	0,31
	O	390,8	0	-	-	430,19	0	-	-
Lactancias	> 4	411,8	28,8	5,4	<0,0001	471,06	62,75	9,57	<0,0001
	= 4	383,0	0,0	-	-	408,31	0	-	-
Ecozona	bh-MB	407,0	23,2	22,5	0,30	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	378,9	-4,8	20,4	0,81	426,60	3,63	35,41	0,91
	bmh-P	416,6	32,8	27,7	0,24	446,74	23,77	41,03	0,56
	bp-MB	408,2	24,4	18,0	0,18	464,99	42,02	30,67	0,17
	bp-P	389,8	6,1	21,1	0,77	437,10	14,12	35,14	0,69
	bmh-M	383,8	0	-	-	422,97	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.
.

En los cuadros 15 y 16 se muestran los resultados del efecto del estatus serológico a BLV sobre el intervalo parto-concepción, ajustado por las variables zona ecológica, raza y número de lactancias. No se determinó efecto significativo sobre el IPC en ningún periodo del estudio. Sin embargo, si se observó un efecto significativo del número de lactancias sobre el IPC, al comparar animales de más de cuatro lactancias con animales de cuatro lactancias. Las vacas con más de cuatro lactancias mostraron 53,12 días (primer periodo), 51,35 días (segundo periodo) y 52,10 días (total del periodo) más de IPC, comparado con animales de cuatro lactancias (p<0,0001) (Cuadros 15 y 16).

La raza Holstein también mostró efecto durante el primer periodo, mostrando 42,57 días más de IPC, en comparación con la categoría otras razas (p=0,02) (Cuadro 15).

Cuadro 14. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo entre partos (IEP) promedio para el periodo total (n=221).

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto			389,59	21,53	<0,0001
Seroestatus	Positivos	453,98	10,15	10,83	0,35
al BLV	Seroconvertidos	463,07	19,24	9,93	0,05
	Negativos	443,83	0	-	-
Raza	H8	443,79	7,47	18,21	0,68
	J8	430,08	-6,24	18,95	0,74
	H4J4	461,83	25,51	22,92	0,27
	G4	496,13	59,80	47,76	0,21
	O	436,32	0	-	-
Lactancias	> 4	480,10	52,95	8,29	<0,0001
	= 4	427,15	0	-	-
Ecozona	bh-MB	466,63	23,45	29,78	0,13
	bh-P	439,68	-3,50	30,55	0,91
	bmh-P	463,71	20,53	36,04	0,57
	bh-T	457,79	14,62	40,29	0,72
	bp-MB	469,45	26,27	23,25	0,26
	bp-P	434,95	-8,22	23,13	0,72
	bmh-M	443,18	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

El efecto del estatus al BLV sobre el intervalo parto-primer celo se muestra en los cuadros 17 y 18. El estatus al BLV mostró efecto significativo sobre PPC únicamente en el periodo total, ajustado por las variables zona ecológica, raza y número de lactancias. Los animales seroconvertidos tuvieron 23 días más de PPC, comparado con los animales seronegativos (p=0,009) (Cuadro 18).

Cuadro 15. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-concepción (IPC) promedio para el primer periodo (n=576) y segundo periodo (n=138)

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE*	p
Intercepto		-	94,40	21,22	0,0007	-	115,20	27,95	0,003
Seroestatus al BLV	Positivos	117,01	-26,28	17,95	0,14	144,80	-8,78	11,43	0,44
	Seroconvertidos	133,55	-9,73	8,86	0,27	168,61	15,02	11,52	0,19
	Negativos	143,29	0	-	-	153,58	0	-	-
Raza	H8	156,12	42,57	17,88	0,02	153,17	-5,77	21,40	0,78
	J8	127,21	13,65	18,14	0,45	141,79	-17,14	22,80	0,45
	H4J4	128,24	14,69	23,26	0,53	168,76	9,82	24,29	0,68
	O	113,55	0	-	-	158,94	0	-	-
Lactancias	> 4	157,84	53,12	6,29	<0,0001	181,34	51,35	8,01	<0,0001
	= 4	104,72	0	-	-	129,99	0	-	-
Ecozona	bh-MB	139,01	12,32	28,23	0,66	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	107,76	-18,93	25,29	0,45	134,45	-5,24	37,05	0,89
	bmh-P	148,97	22,28	35,29	0,53	164,17	24,48	44,22	0,58
	bp-MB	139,88	13,18	22,16	0,55	182,11	42,42	32,12	0,19
	bp-P	125,37	-1,32	26,04	0,96	157,90	18,21	36,30	0,61
	bmh-M	126,69	0	-	-	139,69	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

También el número de lactancias mostró efecto significativo durante todos los periodos, al comparar animales de cuatro lactancias con animales de más de 4 lactancias (p<0,0001). Los animales de más de cuatro lactancias tuvieron 28,9 días (primer periodo), 28,16 días (segundo periodo) y 17,27 días (periodo total) más días de PPC que los de cuatro lactancias (Cuadros 17 y 18).

Cuadro 16. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-concepción (IPC) promedio para el periodo total (n=222).

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	125,20	20,92	<0,0001
Seroestatus al BLV	Positivos	176,70	12,18	9,99	0,23
	Seroconvertidos	178,07	13,54	9,16	0,14
	Negativos	164,52	0	-	-
Raza	H8	166,52	9,21	17,02	0,59
	J8	148,22	-9,09	17,70	0,61
	H4J4	177,27	19,96	21,19	0,35
	G4	216,16	58,85	46,61	0,21
	O	157,31	0	-	-
Lactancias	> 4	199,15	52,10	7,54	<0,0001
	= 4	147,05	0	-	-
Ecozona	bh-MB	181,10	5,49	29,51	0,85
	bh-P	152,09	-23,53	29,70	0,43
	bmh-P	182,01	6,39	36,05	0,86
	bh-T	178,68	3,07	39,66	0,94
	bp-MB	185,48	9,87	23,07	0,67
	bp-P	156,71	-18,90	22,96	0,41
	bmh-M	175,61	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

En los cuadros 19 y 20 se muestran los resultados del análisis realizado sobre el efecto del estatus al BLV sobre el intervalo parto-primer servicio, ajustado a las variables zona ecológica, raza y número de lactancias. Únicamente durante el primer periodo los seroconvertidos mostraron un efecto significativo, mostrando 7,17 días más de PPS, comparado con los seronegativos (p=0,03) (Cuadro 19).

Cuadro 17. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer celo (PPC) promedio para el primer periodo (n=442) y segundo periodo (n=123).

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	40,6	19,2	0,05	-	33,80	28,22	0,28
Seroestatus al BLV	Positivos	59,22	-6,60	20,00	0,74	80,55	15,86	12,65	0,21
	Seroconvertidos	58,14	-7,68	8,96	0,39	71,65	6,96	13,31	0,60
	Negativos	65,83	-	-	-	64,69	0	-	-
Raza	H8	69,80	2,8	18,3	0,88	77,26	22,79	25,37	0,37
	J8	58,61	-8,36	18,05	0,64	69,28	14,81	26,84	0,58
	H4J4	48,85	-18,13	24,69	0,46	88,18	33,71	29,61	0,26
	O	66,98	0	-	-	54,46	0	-	-
Lactancias	> 4	75,53	28,9	6,3	<0,0001	86,38	28,16	8,84	0,002
	= 4	46,59	0	-	-	58,22	0	-	-
Ecozona	bh-MB	59,00	14,64	23,53	0,53	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	54,55	10,18	21,60	0,63	77,44	4,12	36,48	0,91
	bmh-P	69,69	25,33	28,15	0,37	61,13	-12,19	42,37	0,77
	bp-MB	63,93	19,57	19,74	0,32	62,66	-10,65	33,08	0,75
	bp-P	74,81	30,45	22,27	0,17	86,93	13,61	36,91	0,71
	bmh-M	44,36	0	-	-	73,31	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

La variable raza también mostró efecto sobre el intervalo PPS, en las vacas Holstein se determinó una diferencia de 24 días más de PPS para el primer periodo (p=0,0009), de 23 días más durante el segundo periodo (p=0,03) y de 17 días más para el periodo total (p=0,05), en comparación con el grupo de otras razas (Cuadros 19 y 20). También la raza Holstein x Jersey mostró 31 días más de PPS para el segundo periodo (p=0,01) y 22,21 días más para el periodo total (p=0,04), comparado con animales del grupo otras razas, el resto de las razas no mostraron diferencias significativas (Cuadros 19 y 20).

Cuadro 18. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer celo (PPC) promedio para el periodo total (n=194).

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	50,90	16,49	0,115
Seroestatus	Positivos	69,17	5,63	9,44	0,55
al BLV	Seroconvertidos	86,51	22,97	8,64	0,009
	Negativos	63,54	0	-	-
Raza	H8	75,62	19,08	14,76	0,20
	J8	58,90	2,35	15,29	0,88
	H4J4	85,87	29,32	19,24	0,13
	G4	88,42	31,87	34,98	0,36
	O	56,55	0	-	-
Lactancias	> 4	81,70	17,27	7,10	0,02
	= 4	64,44	0	-	-
Ecozona	bh-MB	75,97	-9,62	21,63	0,66
	bh-P	79,17	-6,42	22,11	0,77
	bmh-P	69,33	-16,26	25,22	0,52
	bh-T	66,63	-18,96	28,83	0,51
	bp-MB	64,19	-21,40	17,80	0,23
	bp-P	70,62	-14,97	16,79	0,37
	bmh-M	85,59	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

Animales mayores a cuatro lactancias mostraron diferencias significativas, al mostrar 7,84 días más de PPS para el primer periodo (p=0,0006) y 8,81 días más durante el periodo total (p=0,02), comparado con animales de cuatro lactancias (Cuadros 19 y 20). Animales que vivían en la ecozona Bosque Pluvial Premontano fueron los únicos en mostrar una diferencia significativa de 27 días menos de PPS (p=0,03), en comparación con los animales de la ecozona base Bosque muy húmedo Montano durante el periodo total (Cuadro 20).

Cuadro 19. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer servicio (PPS) promedio para el primer periodo (n=579) y segundo periodo (n=138).

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	69,47	12,82	0,0001	-	78,14	12,99	0,0003
Seroestatus	Positivos	78,79	-2,49	6,53	0,70	83,81	-8,58	5,65	0,13
al BLV	Seroconvertidos	88,45	7,17	3,26	0,03	97,65	5,24	5,70	0,36
	Negativos	81,28	0	-	-	92,40	0	-	-
Raza	H8	96,46	23,76	7,10	0,0009	99,71	22,91	10,50	0,03
	J8	79,14	6,44	7,23	0,37	81,09	4,29	11,11	0,70
	H4J4	83,06	10,36	8,61	0,22	107,55	30,75	12,00	0,01
	O	72,70	0	-	-	76,80	0	-	-
Lactancias	> 4	86,75	7,84	2,27	0,0006	93,66	4,75	4,00	0,23
	= 4	78,92	0	-	-	88,91	0	-	-
Ecozona	bh-MB	75,82	-9,27	20,10	0,65	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	77,24	-7,85	17,80	0,66	83,75	-10,14	17,11	0,22
	bmh-P	90,10	5,01	25,77	0,85	92,67	-1,22	20,33	0,95
	bp-MB	89,58	4,50	15,21	0,77	96,39	2,50	14,89	0,87
	bp-P	79,18	-5,90	17,97	0,74	89,74	-4,15	16,90	0,81
	bmh-M	85,09	0	-	-	93,89	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

Los cuadros 21 y 22 muestran los resultados del efecto del estatus serológico al BLV sobre la variable servicios por concepción. Para el total del periodo no se observó efecto significativo del estatus serológico a BLV sobre el promedio de SC ajustado por las variables seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias. La ausencia de efecto del estatus serológico al BLV se repite en el resto de los periodos.

Las variables que mostraron algún efecto son número de lactancias para los tres periodos y raza para el periodo total. Los animales con más de cuatro lactancias obtuvieron 0,7 SC, 0,64 SC y 0,56 SC más, que los animales con cuatro lactancias en el primer periodo, segundo periodo y periodo total, respectivamente (p<0,0001). Durante el periodo total

animales Guernsey necesitaron 0,47 SC (p<0,0001), mientras que animales Jersey necesitaron 0,48 SC más que el grupo otras razas (p=0,03) (Cuadros 21 y 22).

Cuadro 20. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre el intervalo parto-primer servicio (PPS) promedio para el periodo total (n=222).

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	92,82	11,42	<0,0001
Seroestatus al BLV	Positivos	105,16	7,28	5,02	0,15
	Seroconvertidos	102,53	4,66	4,60	0,31
	Negativos	97,88	0	-	-
Raza	H8	110,47	17,32	8,70	0,05
	J8	88,50	-4,66	9,04	0,60
	H4J4	115,37	22,21	10,69	0,04
	G4	101,78	8,63	25,66	0,74
	O	93,16	0	-	-
Lactancias	> 4	106,26	8,81	3,78	0,02
	= 4	97,45	0	-	-
Ecozona	bh-MB	105,71	-4,19	16,57	0,80
	bh-P	91,33	-18,57	16,65	0,27
	bmh-P	102,76	-7,14	20,48	0,73
	bh-T	120,08	10,18	22,08	0,65
	bp-MB	101,26	-8,65	12,97	0,51
	bp-P	81,94	-27,97	12,92	0,03
	bmh-M	109,90	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

En el cuadro 23 se muestra el cálculo de las posibles pérdidas económicas producidas por el BLV. Por concepto de pérdidas por disminución en la producción de leche se tomó el parámetro producción total de leche (296 Kg menos en animales seropositivos y 494 Kg menos en seroconvertidos). Tomando $0,45 a $0,50 el precio por Kg de leche, el rango de pérdida por disminución en la producción debido al BLV pudo haber rondado entre los

$133,34 a $148,15 por animal seropositivo y $222,5 a $247,22 por animal seroconvertido durante el periodo total del estudio (Cuadro 23).

Cuadro 21. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre la cantidad de servicios por concepción (SC) promedio para el primer periodo (n=576) y segundo periodo (n=138).

Variable	Estrato	Primer Periodo				Segundo Periodo			
		Estimado	Dif	EE	p	Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	1,44	0,3	<0,0001	-	1,56	0,26	0,0003
Seroestatus al BLV	Positivos	1,8	-0,4	0,3	0,21	2,09	-0,07	0,18	0,71
	Seroconvertidos	2,0	-0,2	0,1	0,08	2,27	0,10	0,20	0,62
	Negativos	2,2	0	-	-	2,17	0	-	-
Raza	H8	2,1	0,3	0,3	0,17	2,07	0,14	0,31	0,66
	J8	2,1	0,3	0,3	0,19	2,37	0,44	0,30	0,14
	H4J4	2,0	0,2	0,4	0,50	2,34	0,41	0,38	0,28
	O	1,8	0	-	-	1,93	0	-	-
Lactancias	> 4	2,3	0,7	0,1	<0,0001	2,50	0,64	0,14	<0,0001
	= 4	1,7	0	-	-	1,86	0	-	-
Ecozona	bh-MB	2,4	0,5	0,3	0,06	N/A	N/A	N/A	N/A
	bh-P	1,7	-0,1	0,3	0,59	2,00	-0,14	0,32	0,66
	bmh-P	2,0	0,1	0,3	0,69	1,92	-0,22	0,34	0,52
	bp-MB	2,0	0,2	0,2	0,52	2,28	0,14	0,29	0,52
	bp-P	2,2	0,4	0,3	0,17	2,55	0,41	0,35	0,23
	bmh-M	1,8	0	-	-	2,14	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

En cuanto a días abiertos, se tomó como parámetro el IPC con un valor de 12,18 días para seropositivos y 13,54 días para seroconvertidos, y como rango de costo por día abierto $3 a $6. El costo estimado por día abierto pudo haber rondado entre los $36,54 a $73,08 por animal seropositivo y $40,62 a $81,24 por uno seroconvertido (Cuadro 23).

Cuadro 22. Análisis multivariado del efecto de las variables de seroconversión, ecozona, raza y número de lactancias sobre la cantidad de servicios por concepción (SC) promedio para el periodo total (n=222).

Variable	Estrato	Periodo Total			
		Estimado	Dif	EE	p
Intercepto		-	1,49	0,20	<0,0001
Seroestatus al BLV	Positivos	2,51	0,19	0,15	0,20
	Seroconvertidos	2,40	0,09	0,14	0,52
	Negativos	2,31	0	-	-
Raza	H8	1,99	0,19	0,21	0,37
	J8	2,29	0,48	0,22	0,03
	H4J4	2,27	0,46	0,31	0,14
	G4	3,68	1,87	0,47	<0,0001
	O	1,80	0	-	-
Lactancias	> 4	2,69	0,56	0,12	<0,0001
	= 4	2,13	0	-	-
Ecozona	bh-MB	2,53	0,07	0,25	0,78
	bh-P	2,39	-0,07	0,26	0,78
	bmh-P	2,28	-0,18	0,26	0,48
	bh-T	1,87	-0,59	0,37	0,11
	bp-MB	2,52	0,06	0,18	0,74
	bp-P	2,77	0,31	0,19	0,10
	bmh-M	2,46	0	-	-

Dif = Diferencia. EE= Error estándar de la diferencia. p=Valor de P de la diferencia. H8 = Holstein, J8 = Jersey, H4J4 = Holstein x Jersey, O = otros. bh-MB = Bosque húmedo montano bajo, bh-p=Bosque húmedo premontano, bmh-p=Bosque muy húmedo premontano, bp-MB = Bosque pluvial montano bajo, bp-p=Bosque pluvial premontano, bmh-M = Bosque muy húmedo montano.

El aumento en la cantidad de servicios por concepción (SC) implica un costo adicional de pajillas de semen que se gastan, al intentar una nueva inseminación artificial. El valor que se tomó como rango del costo de una pajilla de semen fue de $13 a $55. Los animales seropositivos tuvieron 0,19 SC y los seroconvertidos 0,09 SC más que los seronegativos, por lo tanto el rango de pérdidas que se generaron por un aumento en los SC fue de $2,47 a $10,45 por animal seropositivo y $1,17 a $4,95 por animal seroconvertido (Cuadro 23).

El total de pérdidas calculadas por el efecto del BLV en producción y reproducción podría ser de $172 a $232 para cada animal seropositivo y entre $264 a $333 para cada animal seroconvertido durante una lactación (Cuadro 23). Si se toma como promedio de días de lactancia 305 días, hay una pérdida diaria por cada animal de $0,56 a $0,75 para seropositivos y de $0,86 a $1,09 para seroconvertidos en una finca. Con 100 animales y una prevalencia promedio de BLV de 41%, esta finca va a tener 41 animales seropositivos, por lo tanto el rango de pérdida en la finca podría ser de $7052 a $9512 debido a los animales seropositivos, sin tomar en cuenta a los animales seroconvertidos.

Cuadro 23. Análisis de las pérdidas producidas por el BLV para animales seropositivos y seroconvertidos.

	Seropositivos			Seroconvertidos		
Variable	**Cantidad**	**Pérdida menor**	**Pérdida Mayor**	**Cantidad**	**Pérdida menor**	**Pérdida Mayor**
Kg Total	-296,30	$133,34	$148,15	-494,43	$222,50	$247,22
IPC	+12,18	$36,54	$73,08	+13,54	$40,62	$81,24
SC	+0,19	$2,47	$10,45	+0,09	$1,17	$4,95
	TOTAL	$172,35	$231,68	**TOTAL**	$264,29	$333,41

4. DISCUSIÓN

Al realizar un estudio longitudinal se debe muestrear la misma población en varias ocasiones a través del tiempo y recopilar información proveniente de registros. En el caso del presente estudio, para realizar el análisis del efecto del estatus serológico al BLV sobre los parámetros productivos y reproductivos en vacas lecheras, hubiera sido deseable haberlo realizado durante la mayor cantidad de lactancias posibles, en múltiples fincas de diferentes zonas y analizando información de la mayor cantidad posible de animales. Sin embargo, el número de fincas y de animales varió en los distintos periodos, esto sobre todo porque animales que fueron parte del estudio de Beita (2006), ya no se encontraban en los hatos en el segundo y último muestreo. La tasa de remplazo y de descarte en Costa Rica ronda los 11% y 20%, respectivamente, y es posible que la seropositividad a BLV haya sido un criterio de descarte de parte del propietario (Morales et al., 2009; Cedeño & Vargas, 2004).

Al analizar la incidencia global de BLV en los diferentes periodos, se pudo determinar que no variaron mucho entre el primer, segundo y periodo total (21,98%, 17,48% y 34,22%, respectivamente), y son similares a la incidencia reportada por Dávila en el 2010, por lo que los procesos de educación, capacitación y charlas, no han tenido el efecto deseado a través del tiempo, ya que no se demostró una disminución de casos nuevos de BLV en los hatos.

Resultados de estudios sobre el efecto del estatus serológico al BLV sobre la producción de leche han sido controversiales. En el presente estudio los animales seropositivos a BLV produjeron significativamente menos leche (710 Kg) que animales seronegativos durante el primer periodo (6334,89 Kg para positivos y 7044,90 para negativos).

Este resultado es similar a lo determinado por Dávila (2010), el cual reporta, que los animales seropositivos produjeron 7062,17 Kg de leche, mostrando una diferencia de 358 Kg

menos de leche producida, en comparación con animales seronegativos. También concuerda con los resultados obtenidos por D'Angelino et al. (1998), donde las cantidades de leche producida por vacas positivas fue de 19,4 Kg por día, mostrando una disminución de un 11% en la producción, comparado con animales seronegativos, que produjeron 21,8 Kg por día. El estudio de Ott et al. (2003) reporta que el incremento de un 1% de seropositividad significa la disminución de 4,7 Kg de leche producida por vaca por año ($p<0,01$). Finalmente, el estudio de Sargeant et al. (1997) sugiere una relación negativa entre el nivel de producción y el estatus serológico al BLV, en donde reportan, que hatos con baja prevalencia producían más cantidad de leche, que hatos con altas prevalencias de BLV.

Animales seropositivos no mostraron efecto significativo en cuanto a producción de leche a 305 días en ninguno de los periodos del estudio. Esto concuerda con Tiwari et al. (2007), que no encontraron efecto del BLV sobre los Kg de leche producida a 305 días. Esto también fue reportado por VanLeeuwen et al. (2000), donde establecieron que la infección por BLV no tuvo efecto significativo en la producción de leche a los 305 días. En contraste, Pollari et al. (1991) determinaron en animales seropositivos mayor potencial de producción a 305 días en la edad adulta en comparación con animales seronegativos. Este hallazgo se debe posiblemente a que los animales seropositivos del estudio de Pollari y colaboradores hayan estado más tiempo en la finca, y al aumentar la cantidad de lactancias, las vacas tienden a aumentar la producción, en contraste, en el presente estudio, se controló las variables de edad, zona y raza.

Los animales seroconvertidos mostraron resultados cercanos a lo estadísticamente significativos durante los tres periodos (6724,14 Kg de leche para el primer periodo produciendo 320Kg menos de leche que seronegativos, 6586,73 Kg de leche, produciendo 679

Kg de leche menos que animales seronegativos durante el segundo periodo y 6676,35 Kg de leche, mostrando una disminución de 494 Kg durante el periodo total). De los estudios antes mencionados, solamente Dávila analizó un grupo de animales que seroconvirtieron durante el estudio, y sus resultados concuerdan con los del presente estudio. Dávila (2010) reportó que animales seroconvertidos producían 6263,75 Kg de leche por lactancia y calculó una disminución de 1156 Kg en la producción, comparado con vacas seronegativas que produjeron 7420,55 Kg de leche.

La razón por la cual los animales seroconvertidos tienden a mostrar una producción de leche menor, comparado con los negativos e incluso comparado con los seropositivos, se debe probablemente, a que con el inicio de la infección con BLV ocurre una disminución en la producción de IgM, en la población de células T (principalmente población de CD4+) y un aumento en la cantidad de linfocitos B circulantes, lo cual ocasiona una disminución temporal (3 a 5 meses) de la inmunidad del animal. Un tiempo después los valores de parámetros tienden a mejorar pero nunca al mismo nivel que un animal seronegativo (Trainin et al., 1996, Tiwari et al., 2007).

Cuando se analizó el efecto del estatus al BLV sobre el IEP se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) para seroconvertidos (19,24 días más en comparación con seronegativos) durante el periodo total. En este parámetro únicamente Dávila (2010), reportó que animales seroconvertidos en el grupo de vacas de 3-5 lactancias mostraron una diferencia de 14 días sobre el IEP. Este efecto podría deberse a que animales más longevos cuya producción tiende a ser mayor, pueden presentar un desbalance negativo de energía por el desgaste generado para producir grandes cantidades de leche. Esto compromete la función del ovario y la fertilidad, por lo tanto puede haber anestro o pueden no mostrar bien signos de

celo, lo que incide en un aumento del IEP (Santos et al., 2004).

Cuando se analizó el efecto del estatus al BLV sobre el IEP no se encontró diferencia estadísticamente significativa en animales seropositivos, lo que coincide con lo reportado por D'Angelino et al. (1998). En contraste, Pollari et al. (1991) reportan un IEP más largo en animales seropositivos que en seronegativos, al igual que Dávila (2010), que determinó efecto significativo del BLV sobre el IEP en los grupos de vacas con 1-2 lactancias con diferencias de 21 días entre vacas seronegativas (396,38 días) y seropositivas (418,82 días). La razón por la que en el presente estudio no se determinó diferencia significativa de los IEP entre seropositivos y seronegativos se debe posiblemente a la cantidad de animales positivos analizados, que resultaron ser muy pocos. Estudios en el país reportan un IEP de 380 a 395 días para animales sanos, y se considera un problema, cuando este intervalo es mayor de 456 días. Los valores obtenidos para animales seroconvertidos (463) y seropositivos (453) se encontraron cerca del rango problemático, sin embargo, también los seronegativos mostraron valores de IEP alejados del óptimo (443 días) (CORFOGA, 2000; Cedeño & Vargas, 2004; Morales et al., 2009).

Para animales seroconvertidos los parámetros PPC y PPS mostraron efecto significativo. Durante el periodo total, el intervalo parto-primer celo mostró una diferencia de 22,97 días más para seroconvertidos en comparación con animales seronegativos (p=0,009), sin embargo, Dávila (2010) no encontró un efecto significativo para este parámetro. La razón de esto podría ser que los animales analizados durante el periodo total en animales seropositivos posiblemente tenían un mayor número de lactancias que los animales analizados por Dávila (2010) y el parámetro PPC es uno de los que se ve afectado con la edad del animal. En cuanto al intervalo parto-primer servicio se estableció una diferencia significativa para el

primer periodo del estudio, donde se encontró una diferencia de 7,17 días más de PPS para animales seroconvertidos a BLV en comparación con seronegativos (p=0,03), resultados que no concuerdan con lo investigado por Dávila (2010) que determinó diferencia significativa (p<0,05) en el grupo de vacas con ≥6 lactancias, pero no en las vacas seroconvertidas que mostraron mejores parámetros que las seronegativas. Esto se debe probablemente, a que animales con más de seis lactancias posiblemente ya empiecen a disminuir la cantidad de leche producida y su reproducción no se ve tan afectada. Los restantes parámetros reproductivos analizados en el presente trabajo (IPC, PPC, PPS y SC) no mostraron diferencias significativas entre animales seropositivos y animales seronegativos al BLV, al igual que otros estudios que no han detectado diferencia significativa con animales seronegativos.

La raza es un factor que puede afectar tanto la producción como la reproducción. En este sentido, los animales Jersey mostraron valores menores de cantidad de leche producida en cuanto a Kg total y Kg 305 d en cada uno de los periodos, lo cual concuerda con estudios realizados en Costa Rica por Vargas y Solano (1995), Cedeño y Vargas (2004), Vargas y Gamboa (2008) y Vargas et al. (2012), los cuales reportan que las vacas Jersey siempre tienden a producir menor cantidad de leche que el resto de las razas. En cuanto a la reproducción, esta raza mostró mejores parámetros de IEP, IPC y PPS, en comparación con el resto de las razas estudiadas, lo cual concuerda con otros autores, los cuales han observado un mayor rendimiento reproductivo de la raza Jersey en comparación con razas como Holstein o Guernsey en Costa Rica (Cedeño & Vargas, 2004; Vargas & Ulloa, 2008; Vargas et al., 2012).

La edad del animal y la cantidad de lactancias se determinaron como significativas afectando tanto la producción como la reproducción. Animales con más de cuatro lactancias

produjeron más Kg de leche durante el estudio, lo cual concuerda con lo reportado por Ray et al. (1992) y Mellado et al. (2011), ya que según avanza el número de lactancias aumenta la producción, con el pico entre la cuarta y quinta lactancia. Diferente se comportan los parámetros reproductivos. Los animales con más de cuatro lactancias mostraron peores valores que los animales con cuatro lactancias en el presente estudio, lo cual concuerda con lo reportado por Fricke & Shaver (2000), Silva del Rio et al. (2007) y Murillo et al. (2011).

El rango de pérdidas calculadas por la infección al BLV para cada animal seropositivo fue amplio, la perdida diaria por mantener un animal seropositivo en el hato no parece ser alta ($0,52 a $0,75), sin embargo en fincas donde la prevalencia es alta y se cuenta con gran cantidad de animales, la pérdida de dinero no es nada despreciable. Sobre todo, el mantener un animal seropositivo en la finca, parece representar el mayor riesgo en la finca, ya que no solamente es una fuente de infección para vacas negativas, sino que el proceso inicial de infección (seroconversión) con el virus parece ser el que más afecta a los bovinos y por consiguiente también la producción y reproducción.

En un país donde la producción de leche es un rubro importante en la economía y donde se puede estimar un total aproximado de 66 420 vacas seropositivas al BLV los rangos de pérdidas tanto en producción como en reproducción conlleva a un impacto en la economía del país (González, 2012).

5. CONCLUSIONES

- Se estimó un efecto negativo sobre el total de leche producida para animales seropositivos, en comparación con animales seronegativos (p=0,04) durante el primer periodo del estudio. Animales seropositivos produjeron 710 Kg de leche menos que los animales seronegativos. Animales seroconvertidos mostraron un efecto negativo sobre la cantidad de leche producida a 305 días, produciendo 654 Kg menos de leche, en comparación con animales seronegativos, durante el segundo periodo (p=0,02).

- El efecto de la infección del estatus serológico al BLV sobre el intervalo entre partos (IEP), se estimó en 19,24 días más para los seroconvertidos, comparado con los animales seronegativos (p=0,05). En animales seroconvertidos el IEP fue de 463 días y en seronegativos de 444 días. No se logró determinar efecto significativo para el resto de los parámetros reproductivos (IPC, PPC, PPS y SC).

- El total de pérdidas calculadas por el efecto del BLV en producción y reproducción por lactancia podría ser de $172 a $232 para cada animal seropositivo y entre $264 a $333 para cada animal seroconvertido.

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar estrategias, según las condiciones de cada finca y productor, para eliminar animales positivos al BLV de las fincas por ser una fuente de infección del virus y causar mayores efectos negativos en animales que seroconvierten.

- Se recomienda divulgar esta información a todas las entidades nacionales relacionadas con la ganadería, a propietarios de fincas y a trabajadores, con el objetivo de que tomen conciencia de la transmisión y los efectos sobre la producción y reproducción que causa el BLV.

- Se recomienda realizar un análisis económico del efecto del BLV, agregando otras variables que no se analizaron en este estudio como por ejemplo medicamentos, mano de obra extra, disminución de la condición corporal, costo por condenas en matadero y restricción de la importación.

- Se recomienda en un futuro estudio determinar el momento de seroconversión de los animales y analizar otras variables productivas como sólidos totales en leche, cantidad de grasa, cantidad de células somáticas, entre otros, para determinar, además si disminuye la calidad de la leche.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acaite, J., V. Tamosiunas, K. Lukauskas, J. Milius & J. Pieskus. 2007. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania. Prev. Vet. Med. 82:83-9.

Aida, Y., H. Murakami, M. Takahashi & S. Takeshima. 2013. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. Front Microbiol. 4: 328.

Beita, G. 2008. Epidemiología de la leucosis enzoótica bovina en hatos lecheros especializados de Costa Rica. Tesis para optar por el grado de Licenciatura. Universidad Nacional, Heredia, C.R.

Brenner, J., M. Van-Haamp, D. Savir & Z. Trainin. 1989. The implication of BLV infection in the productivity, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. Veterinary Vet. Immunol. Immunopathol. 22:299-305.

Buehring, S., S. Philpott & K. Choi. 2005. Bovine leukemia virus infection and human breast cancer risk. California breast cancer research symposium, [en línea]. USA. http://cbcrp.org,127.seekdotnet.com/research/PageGrant.asp?grant_id=1815 (Consulta: 26 ago. 2012)

Buehring, G., S. Philpott & K. Choi. 2003. Humans have antibodies reactive with bovine leukemia virus. AIDS Res. Hum. Retrov. 19:1105-13.

Burgu, I., F. Alkan, T. Karaoglu, S. Bilge-Dagalp, K. Can-Sahna, B. Güngör & B. Demir. 2005. Control and eradication programme of enzootic bovine leucosis (EBL) from selected dairy herds in Turkey. Dtsch. Tierarztl. Woch. 112:271-274.

Cedeño, D. & B. Vargas. 2004. Optimización de políticas de descarte en ganado bovino lechero de Costa Rica. Arch. Zootech. 53:203-250.

Chi, J., J. VanLeeuwen, A. Weersink & G. Keefe. 2002. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and *Neospora caninum*. Prev. Vet. Med. 55:137-153.

Choudhury, B., C. Finnegan, J. Frossard, C. Venables & F. Steinbach. 2013. Colostrum replacer and Bovine Leukemia Virus seropositivity in calves. Emerg. Infect. Dis. 19:1027-1028.

CORFOGA (Corporación Ganadera Nacional). 2000, [en línea]. Costa Rica. www.corfoga.org (Cosulta: 03 dic. 2012).

Dávila, G. 2010. Efecto de la infección con el virus de leucosis viral bovina (VLVB) sobre los parámetros productivos y reproductivos, e inscidencia, en hatos lecheros de Costa Rica. Tesis para optar por el grado de *Master Scientiae*. Universidad Nacional, Heredia, C.R.

D'Angelino, J., M. Garcia & E. Girgel. 1998. Productive and reproductive performance in cattle infected with bovine-leukosis virus. J. Dairy Res. 65:693-695.

De Vries, A. 2006. Determinants of the cost of days open in dairy cattle, [en línea]. *In* Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Florida, USA. www.sciquest.org.nz (Consulta: 15 nov. 2013).

Divers, T., R. Bartholomew, D. Galligan & C. Littel. 1995. Evidence for transmission of bovine leukemia virus by rectal palpation in a comercial dairy herd. Prev. Vet. Med. 23:133-141

Divers, T. & S. Peek. 2008. Rebhun's diseases of dairy cattle. Sauders, Elsevier, USA.

Dolz, G. & E. Moreno. 1999. Comparison of agar gel inmunodiffusion test, enzyme-linked inmunoabsorbent assay and western boltting for the detection of BLV antibodies. J. Vet. Med. 46:551-558.

Erskine, R., P. Bartlett, T. Byrem, C. Render, C. Febvay & J. Houseman. 2012. Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. J. Dairy. Sci. 95:727-734.

Ferrer, J. 1980. Bovine lymphosarcoma. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 24:1-68

Fricke, P. & R. Shaver. 2000. Managing reproductive disorders in dairy cows. [en línea]. U.S.A. http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/product download/du_ 603.en_.pdf. (Consulta: 15 ene. 2013)

González, J. 2012. Situación actual y perspectivas del sector lácteo costarricense. Congreso Nacional Lechero. Nov. 21-22. Cámara Nacional de Productores de Leche (Proleche), Costa Rica.

Hopkins, S. & R. DiGiacomo. 1997. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 13:107-28.

Jiménez, C., J. Bonilla, G. Dolz, L. Rodriguez, L. Herrero, E. Bolaños, M. Cortez & E. Moreno. 1995. Bovine Leukaemia-virus infection in Costa Rica. J. Vet. Med. 42:385-390.

Kanno, T., R. Ishihara, S. Hatama, Y. Oue, H. Edamatsu, Y. Konno, S. Tachibana & K. Murakami. 2013. Effect of freezing treatment on colostrum to prevent the transmission of Bovine Leukemia Virus, [en línea]. J. Vet. Med. Sci. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/76/2/76_13-0253/_article (Consulta: 20 jun. 2013)

Kobayashi, S., T. Tsutsui, T. Yamamoto, Y. Hayama, K. Kameyama, M. Konishi. 2010. Risk factors associated within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan, [en línea]. Veterinary Reserch. http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/1 (Consulta: 15 abr. 2011).

Lassauzet, M., M. Thurmond, W. Johnson & C. Holmberg. 1991. Factors associated with in utero or periparturient transmission of bovine leukemia virus in calves on a California dairy. Can. J. Vet. Res. 55:264-268.

Losinger, W. 2006. Evaluating the uncertainty in estimates of the economic impacts of bovine leukosis virus in U.S. dairy cows. Agr. Econ. 35:363-372

MacLachlan, N. & E. Dubovi (ed). 2011. Fenner's veterinary virology. 4. ed. Elsevier, USA.

Meas, S., T. Usui, K. Ohashi, C. Sugimoto & M. Onuma. 2002. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. Vet. Microbiol. 23:275-282.

Mellado, M., E. Antonio, C. Meza, F. Veliz, J. Arevalo, J. Mellado & A. de Santiago. 2011. Effect of lactation number, year, and season of initiation of lactation on milk yield of cows hormonally induced into lactation and treated with recombinant bovine somatotropin. J. Dairy Sci. 94:4524-4530.

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

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 2006. Programa nacional de vigilancia de la Leucosis Bovina y de la perineumonia contagiosa bovina. España.

Mora, E. 1997. Evaluación de prácticas de manejo asociadas al riesgo de la transmisión del virus de la leucosis bovina enzoótica en hatos lecheros de Costa Rica. Tesis para optar por el grado de Licenciatura. Universidad Nacional, Hereida, C.R.

Morales, D., B. Pérez & R. Botero. 2009. Parámetros productivos y reproductivos de importancia económica en ganadería bovina tropical. [en línea]. Universidad Earth, Costa Rica. http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/genetica/articulos/parametros-productivos-reproductivos-importancia-t2278/103-p0.htm. (Consulta: 17 oct. 2013.)

Murillo, J., S. Estrada, J. Rojas, M. Bolaños, E. Valverde & J. Romero. 2011. Efecto de partos gemelares sobre parámetros productivos y reproductivos en vacas de hatos lecheros especializados de Costa Rica. Cien. Vet. 28:7-22.

Murphy F., E. Gibbs, M. Horzinek & M. Studdert. 1999. Veterinary Virology. 3. ed. Academic Press, USA.

Nuotio, L., H. Rusanen, L. Sihvonen & E. Neuvonen. 2003. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. Prev. Vet. Med. 59:43-49.

Olson, C. & J. Miller. 1987. History and terminology of Enzootic Bovine Leukosis. p.2-8. *In* Burny A, Mammerickx M (eds). Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus. Martinus Nijhoff Publishing, USA.

OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2012. Terrestrial manual- Enzootic bovine leukosis. http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.04.11_EBL.pdf (Consulta: 10 may. 2013)

Ott, S., R. Johnson & S. J. Wells. 2003. Association between bovine leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on U.S. dairy farms. Prev. Vet. Med. 61:249-262.

Pollari, F., V. Wangsuphachart, R. DiGiacomo & J. Everman. 1992. Effects of Bovine Leukemia Virus infection on production and reproduction in dairy cattle. Can. J. Vet. Res. 56:289-295.

Proleche. 2013. Precios de la leche nacionales pagados al productor. [en línea]. Cámara Nacional de Productores de Leche, Costa Rica. http://www.proleche.com/index.php (Consultada: 17 nov. 2013).

Radostits, O. 2002. Leucosis bovina enzoótica (linfosarcoma bovino). p. 1239-1254. *In* O. Radostits, C. Gay, D. Blood & K. Hinchcliff. Medicina veterinaria, tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. McGraw-Hill Interamericana, España.

Ray, D., T. Halbach & D. Armstrong. 1992. Season and lactation number effects on milk production and reproduction of dairy cattle in Arizona. J. Dairy Sci. 75:2976-2983.

Rodríguez, L., R. Esquivel & J. Alvarado. 1980. Bovine viral leukaemia in dairy herds of the central valley of Costa Rica. Cien. Vet. 2:183-194.

Rodríguez, S., A. Florins, N. Gillet, A. de Brogniez, M. Sánchez, M. Boxus, F. Boulanger, G. Gutiérrez, K. Trono, I. Alvarez, L. Vagnoni & L. Willems. 2011. Preventive and therapeutic strategies for Bovine Leukemia Virus: lessons for HTLV. Virus Res. 3:1210-1248.

Rubino, M. & K. Donham. 1984. Inactivation of Bovine Leukemia Virus-infected lymphocytes in milk. Am. J. Vet. Res. 45:1553-1556.

Ruppanner, R., D. Behymer, S. Paul, J. Miller & G. Theilen. 1983. A strategy for control of Bovine Leukemia Virus infection: test and corrective management. Can. Vet. J. 24:192-195.

Santos J., S. Juchem, R. Cerri, K. Galvao, R. Chebel, W. Thatcher, C. Dei & C. Bilby. 2004. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 87:868–881.

Sargeant, J., D. Kelton, S. Martin & E. Mann. 1997. Associations between farm management practices, productivity, and bovine leukemia virus infection in Ontario dairy herds. Prev. Vet. Med. 31:211-221.

Sharma, N. & C. Adlkha. 2009. Textbook of veterinary virology. International book distributing, India.

Silva del Rio, N., J. Colloton & P. Fricke. 2009. Factors affecting pregnancy loss for single and twin pregnancies in a high-producing dairy herd. Theriogenology. 71:1462-1471.

Svanova. 2011. Product list and information, [en línea] www.svanova.com (Consulta: 8 may. 2011).

Tiwari, A., J. VanLeeuwen, I. Dohoo, G. Keefe, J. Haddad & R. Tremblay. 2007. Production effects of pathogens causing bovine leukosis, bovine viral diarrhea, paratuberculosis, and neosporosis. J. Dairy Sci. 90:659-669.

Toma, B., M. Eliot & M. Savey. 1990. Animal diseases caused by retroviruses: enzootic bovine leukosis, equine infectious anemia and caprine arthritis-encephalitis. Rev. Sci. Tech. 4:1039-1076.

Trainin, Z., J. Brenner, R. Meirom & H. Ungar-waron. 1996. Detrimental effect of bovine leukemia virus (BLV) on the inmunological state of cattle. Vet. Immunol. Immunopathol. 54:293-302

VanLeeuwen, J., G. Keefe, R. Tremblay, C. Power, J. Witchel. 2000. Seropervalence, spatial distribution and productivity effects of infection with Johne's disease and bovine leukosis in maritime Canadian dairy cattle. p. 547. *In:* Proceedings of the International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Breckenridge, CO, USA.

VanLeeuwen, J., G. Keefe, R. Tremblay, C. Power & J. Witchel. 2001. Seropervalence and infection with *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, Bovine Leukemia and Bovine Viral Diarrhoea Virus in maritime canadian dairy cattle. Can. Vet. J. 42:193-198.

Vargas, B. & G. Gamboa. 2008. Estimación de tendencias genéticas e interacción genotipo x ambiente en ganado lechero de Costa Rica. Téc. Pecu. Méx. 46:371-386.

Vargas, B. & C. Solano. 1995. Tendencias genéticas y ambientales en producción de leche en vacas lecheras de Costa Rica. Arch. Lat. Prod. Anim. 3:165-176.

Vargas, B., Y. Marín & J. Romero. 2012. Comparación bioeconómica de grupos raciales Holstein, Jersey y Holstein x Jersey en Costa Rica. Agron. Mesoam. 23:329-342.

Vargas, B. & J. Ulloa. 2008. Relación entre curvas de crecimiento y parámetros reproductivos en grupos raciales lecheros de distintas zonas agroecológicas de Costa Rica. Livest. Res. Rur. Dev. 20:27.

Villavicencio, A. 2014. Información sobre presupuesto de pajillas de semen. [en línea]. Impulso Pecuario S.A. contacto@impulsopecuario.com (Consulta: 19 feb. 2014).

Wu, M., R. Shanks & H. Lewin. 1989. Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. Proc. Natl. Acad. Sci. 86:993-996.

Zúñiga, R., L. Figueroa, L. Ruiz, J. Murillo, L. Obando, A. del Pino, F. Murillo, L. Morales & D. Alvarado. 2005. Guía estratégica de acción para la Cámara Nacional de Productores de Leche de Costa Rica, INCAE, Costa Rica.