Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

Ciencias Veterinarias

Seroprevalencia de agentes infecciosos que afectan el sistema reproductor de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*), en Costa Rica

Seroprevalence of infectious agents affecting the reproductive system of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Costa Rica

Seroprevalência de agentes infecciosos que afetam o sistema reprodutivo de búfalos de água (Bubalus bubalis) na Costa Rica

Josué Rivera[1], María José Zuniga[2]✉, Juan José Romero-Zuñiga[2] y Gaby Dolz[1,2]

1 Universidad Nacional, Posgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, Maestría en Enfermedades Tropicales, Heredia, Costa Rica, jrivera@utn.ac.cr https://orcid.org/0009-0007-2163-9531

2 Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Programa de Investigación en Medicina Poblacional, Heredia, Costa Rica, mj_zuniga13@hotmail.com https://orcid.org/0009-0002-6870-252X; juan.romero.zuniga@una.ac.cr https://orcid.org/0000-0002-5252-1604; gaby.dolz.wiedner@una.ac.cr https://orcid.org/0000-0002-9566-5130

Recibido: 16 de octubre 2023 **Corregido:** 5 de agosto de 2024 **Aceptado:** 2 de setiembre de 2024

Resumen

Los búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) son susceptibles a la mayoría de patógenos que afectan a los bovinos, siendo aquellos que ocasionan problemas reproductivos o baja productividad, los que más inciden en la producción pecuaria. Hasta la fecha, en Costa Rica, únicamente se ha determinado la prevalencia de brucelosis. El objetivo de este trabajo fue determinar la seroprevalencia del virus de leucosis bovina (BLV), herpes virus bovino tipo 1 (BHV-1), virus de la diarrea viral bovina (BVDV) y *Neospora caninum* en búfalos de agua de Costa Rica. Se recolectaron, durante mayo y agosto de 2020, 372 muestras de sangre de individuos mayores a 15 meses edad pertenecientes a 20 fincas de las provincias de Alajuela, Guanacaste, San José, Heredia, Limón y Puntarenas. Las muestras se analizaron mediante técnicas inmunoenzimáticas comerciales (IDVET, Montpellier, Francia). Se determinó la seroprevalencia global, así como a nivel de fincas, de cada agente. Las seroprevalencias globales estimadas para BHV-1, BVDV y *N. caninum* fueron 54,0%, 41,7%, y 64,3%, respectivamente. Hubo seropositivos a BHV-1, BVDV y *N. caninum* en todas las provincias analizadas. Las mayores seroprevalencias de BHV-1 se determinaron en Alajuela (65,3%), Heredia (52,8%) y Limón (45,4%); las de BVDV en San José (68,2%) y Alajuela (63,9%), y de *N. caninum* en San José (86,4%), Alajuela (69,4%), Guanacaste (66,6%) y Limón (61,4%). El 85,0%, 75,0% y 100% de las fincas resultaron positivas a BHV-1, BVDV y *N. caninum*, respectivamente. En ninguna finca se detectaron animales positivos a BLV. Este es el primer estudio que reporta la seroprevalencia de BHV-1, BVDV y *N. caninum* en búfalos de agua de Costa Rica. Estos agentes podrían estar ocasionando problemas reproductivos en las fincas, por lo que se recomienda investigar el efecto de estos patógenos tendientes a establecer programas de control y prevención.

Palabras clave: virus de leucosis bovina, herpes virus bovino tipo 1, diarrea viral bovina, *Neospora caninum*, seroprevalencia, reproducción.

✉ Autor para correspondencia: mj_zuniga13@hotmail.com

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

Abstract
Water buffaloes (*Bubalus bubalis*) are susceptible to most pathogens affecting cattle, leading to reproductive problems and decreased productivity, which significantly impacts livestock production. So far, the prevalence of brucellosis is the only pathogen that has been determined for this population in Costa Rica. The objective of this study was to determine the seroprevalence of bovine leukosis virus (BLV), bovine herpes virus type 1 (BHV-1), bovine viral diarrhea virus (BVDV), and *Neospora caninum* in buffaloes in Costa Rica. A total of 372 blood samples were collected from buffaloes older than 15 months across 20 farms in the provinces of Alajuela, Guanacaste, San José, Heredia, Limón, and Puntarenas between May and August 2020. The blood samples were analyzed using commercial enzyme-linked immunosorbent assays (IDvet, Montpellier, France) to determine each agent's overall and farm-level seroprevalence. The assessed seroprevalences for BHV-1, BVDV, and *N. caninum* were 54.0%, 41.7%, and 64.3%, respectively. Seropositive individuals for BHV-1, BVDV, and *N. caninum* were identified in all provinces analyzed. The highest prevalence for BHV-1 was found in Alajuela (65.3%), Heredia (52.8%), and Limón (45.4%); for BVDV in San José (68.2%) and Alajuela (63.9%); and for *N. caninum* in San José (86.4%), Alajuela (69.4%), Guanacaste (66.6%), and Limón (61.4%). Among the farms analyzed 85.0%, 75.0%, and 100% tested positive for BHV-1, BVDV, and *N. caninum*, respectively. No BLV-positive animals were detected on any farm. This is the first study to report the prevalence of BHV-1, BVDV, and *N. caninum* in buffaloes from Costa Rica. These pathogens may contribute to farm reproductive problems, highlighting the need for further investigation into their effects to establish control and prevention programs.

Keywords: bovine leukosis virus, bovine herpesvirus type 1, bovine viral diarrhea virus, *Neospora caninum*, seroprevalence, reproduction.

Resumo
Os búfalos de água (Bubalus bubalis) são suscetíveis à maioria dos patógenos que afetam os bovinos, sendo aqueles que causam problemas reprodutivos ou baixa produtividade os que mais impactam a produção pecuária. Até a presente data, na Costa Rica, apenas a prevalência de brucelose tem sido determinada. O objetivo deste trabalho foi determinar a seroprevalência do vírus da leucose bovina (BLV), herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1), vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e Neospora caninum em búfalos de água da Costa Rica. Foram coletadas, entre maio e agosto de 2020, 372 amostras de sangue de indivíduos com mais de 15 meses de idade pertencentes a 20 fazendas das províncias de Alajuela, Guanacaste, San José, Heredia, Limón e Puntarenas. As amostras foram analisadas por meio de técnicas imunoezimáticas comerciais (IDVET, Montpellier, França). Foi determinada a seroprevalência global, bem como a nível de propriedades, de cada agente. As seroprevalências globais estimadas para BHV-1, BVDV e N. caninum foram 54,0%, 41,7% e 64,3%, respectivamente. Houve soropositivos a BHV-1, BVDV e N. caninum em todas as províncias analisadas. As maiores seroprevalências de BHV-1 foram determinadas em Alajuela (65,3%), Heredia (52,8%) e Limón (45,4%); as de BVDV em San José (68,2%) e Alajuela (63,9%), e de N. caninum em San José (86,4%), Alajuela (69,4%), Guanacaste (66,6%) e Limón (61,4%). O 85,0%, 75,0% e 100% das propriedades resultaram estar positivas para BHV-1, BVDV e N. caninum, respectivamente. Em nenhuma propriedade foram detectados animais positivos para BLV. Este é o primeiro estudo que reporta a seroprevalência de BHV-1, BVDV e N. caninum em búfalos de água da Costa Rica. Esses agentes podem estar causando problemas reprodutivos nas propriedades, portanto, recomenda-se investigar o efeito desses patógenos visando estabelecer programas de controle e prevenção.

Palavras-chave: vírus da leucose bovina, herpesvírus bovino tipo 1, diarréia viral bovina, Neospora caninum, seroprevalência, reprodução.

Introducción

El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) fue introducido en Costa Rica en 1974, y en el 2014 se reportó una población de 4380 animales, distribuidos en todo el país (INEC, 2015). Esta especie es susceptible

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

a la mayoría de los agentes infecciosos que afectan el ganado bovino; sin embargo, se desconoce si estos ocasionan enfermedades, problemas reproductivos y, en consecuencia, baja productividad. Dentro de los agentes infecciosos que ocasionan enfermedades reproductivas y que podrían afectar a los búfalos están la neosporosis, la rinotraqueitis infecciosa bovina (Dhaliwal, 2016), la diarrea viral bovina (Fagiolo et al., 2004), y la leucosis viral bovina (Flórez et al., 2021).

El herpes virus bovino tipo 1 (BHV-1) ocasiona la rinotraqueitis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustular, una infección persistente. Los animales se infectan mediante contacto directo con fluidos del tracto respiratorio (excreciones nasales y aerosoles) y del sistema reproductivo (fluidos genitales, fetales o semen) contaminados con el agente, el cual es excretado de forma intermitente, y de por vida, por animales infectados. Como factores de riesgo relacionados con la infección con el BHV-1 se mencionan, el introducir animales infectados en el rebaño, el uso de machos reproductores infectados, fincas vecinas con animales positivos y prácticas obstétricas incorrectas (Waldeck et al., 2021). Recientemente se reportó el aislamiento de herpesvirus bubalino 1 (BuHV1) en Argentina (Maidana et al., 2014).

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) ocasiona una enfermedad aguda que cursa de forma subclínica en el 90% de los casos, pero puede también producir problemas respiratorios, digestivos, o reproductivos como muerte embrionaria, abortos, malformaciones, natimuertos o nacimiento de terneros débiles o persistentemente infectados (Baker, 1995; Brock, 2004; Kahrs, 1968). La principal fuente de infección son animales persistentemente infectados (McClurkin et al., 1984), el virus también puede ser trasmitido por contacto directo con secreciones y excreciones respiratorias, digestivas, reproductivas de animales que sufren la enfermedad aguda y por contacto sexual del macho, lo que hace difícil el control de la enfermedad (Asadpour & Jafari, 2010; Yuan et al., 2015). El virus presenta variabilidad genética, los diferentes genotipos no presentan inmunidad cruzada (Gómez, 2015). En Costa Rica se detectó la presencia de BVDV genotipo 1b en hatos lecheros especializados del país, que estaban realizando la vacunación con VDVB 1a/2a (Chaves et al., 2008).

Neospora caninum es un protozoario cuyos hospederos definitivos son los perros y los coyotes, aunque pueden ser también hospederos intermediarios junto con una amplia lista de mamíferos domésticos y silvestres. Los rumiantes son hospederos intermediarios que se pueden infectar de forma horizontal o vertical. La primera vía ocurre al ingerir los ooquistes esporulados contaminando pastos o forrajes de potreros en los que defecaron perros o coyotes infectados (Gondim et al., 2002; Gondim et al., 2004; Lindsay et al., 1999; McAllister et al., 1998) o donde abortaron vacas por esta causa (Dijkstra et al., 2001). Sin embargo, la forma de infección más frecuente de los rumiantes es la vía vertical, por el paso de los taquizoitos a través de la placenta hacia el feto (Bartels et al., 2007; Hall et al., 2005; Romero & Frankena, 2003). Hembras nacidas vivas de madres infectadas, son positivas a lo largo de toda su vida, y, en más del 90% de las gestaciones, van a transmitir el parásito a sus crías durante la preñez (infección congénita), si no ocurre muerte fetal, momificación, aborto o muerte neonatal (Dubey & Schares, 2011).

La infección con el virus de la leucosis viral bovina (BLV) puede provocar tres estados clínicos distintos. Aunque todos los animales desarrollarán anticuerpos contra el virus, la mayoría permanecerá asintomático durante la mayor parte de su vida. Estos animales actúan como portadores y fuentes de infección para otros. Aproximadamente, entre 20% y 30% de los animales desarrollarán una linfocitosis persistente asintomática, que se caracteriza por una expansión de los linfocitos B. Por otro lado, entre 5% y 10% podría sufrir la forma más grave: el linfoma maligno, que es la forma clínica fatal de la enfermedad (Schwartz & Levy, 1994). Los

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

signos clínicos dependerán del sitio de los tumores (Burny et al., 1985; Johnson & Kaneene, 1991). El virus se transmite por linfocitos infectados presentes en secreciones y excreciones (transmisión horizontal), de manera transplacentaria (10%), pero sobre todo en forma iatrogénica (Monti et al., 2007; Wrathall et al., 2006).

Pocos estudios han determinado la presencia de anticuerpos contra estos agentes en rebaños de búfalos del continente americano. En el caso de BHV-1, BLV y *N. caninum*, que ocasionan infecciones persistentes, la detección de anticuerpos indicará, en forma indirecta, la infección en el animal, así como su rol como fuente de infección para otros animales (BHV-1 y BLV), o sus crías (*N. caninum* y BLV). La presencia de anticuerpos para BLV en búfalos en Colombia fue de 33.6% (Flórez et al., 2021), sin embargo; en Brasil no se encontró presencia del virus en búfalos (De Oliveira et al., 2016). En contraste, la presencia de anticuerpos contra el BVDV indicará que son animales que han superado la infección aguda y no representan una fuente de infección para otros animales (Martínez-Burnes et al., 2024). Un estudio realizado en Brasil (n=500) determinó una seroprevalencia de 44% (Da Silva et al., 2017), mientras que, en Venezuela, Valbuena-Carson et al. (2013) detectaron en 171 individuos un 30,4% de seropositivos.

Por otro lado, en Perú no se logró detectar anticuerpos contra *N. caninum* en 82 búfalos de agua evaluados mediante inmunoensayo enzimático e inmunofluorescencia indirectos e inmunofluorescencia indirectos (Jara, 2011), mientras que, en Argentina, se reportó una seroprevalencia de 64% en 449 búfalos para *N. caninum* (Campero et al., 2007). En Colombia se reportó una prevalencia del 45,4% (Motta et al., 2014).

En Costa Rica no existen estudios que hayan reportado la seroprevalencia de agentes infecciosos del sistema reproductivo en fincas de búfalos, excepto brucelosis. El presente estudio estima la seroprevalencia de BHV-1, BVDV, *N. caninum* y BLV en rebaños de búfalos del país.

Materiales y métodos

Tipo de estudio y población a estudiar

Se realizó un estudio observacional transversal. Durante su ejecución se dio una manipulación mínima de los animales, aprovechando la ejecución de otras prácticas como pesaje, vacunación o desparasitación.

Se estudió 372 búfalos de agua, de ambos sexos, mayores de 15 meses de edad, que provenían de fincas extensivas o semiextensivas, que se dedicaban únicamente a la cría de búfalos.

Para calcular el tamaño de la muestra se utilizó la fórmula de estimación de una proporción, empleando el software epidemiológico WinEpiscope 2,0 (Thrusfield et al., 2001), con una población estimada de 11,037 individuos (Barrantes-Guevara, 2019), un nivel de confianza del 95%, un error aceptado del 5% y una prevalencia esperada de 50%. Dado el nivel de la prevalencia, se utilizó el tamaño de muestra ajustado, siendo 372 los individuos a estudiar. Se asumió idéntica probabilidad de seropositividad a nivel de finca, y de animal.

Las muestras fueron recolectadas, durante mayo y agosto de 2020, en 20 de un total de 143 fincas distribuidas en Guanacaste (5/20), Alajuela (5/33), Limón (5/59), Heredia (2/10) y Puntarenas (1/20). En San José, a pesar de que solo una finca fue reportada en el censo 2019, al momento de realizar el estudio se registraron dos, las cuales fueron muestreadas (Barrantes-Guevara, 2019). En la provincia de Cartago no se encontraron fincas bubalinas (Alvarado, 2019).

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Toma de muestras

La sangre fue extraída de la vena coccígea, mediante el sistema Vacutainer, con aguja de 21G x 1 1/2", y depositada en un tubo sin anticoagulante de 4ml. Las muestras fueron almacenadas a 4°C para ser transportadas al laboratorio, donde se realizó la separación del suero sanguíneo mediante centrifugación a 5000g x 5 minutos.

Análisis serológico

El análisis serológico se realizó con los ensayos comerciales de la compañía IDVET, Montpellier, Francia, siguiendo las instrucciones del fabricante. Los detalles y la sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) de cada ensayo son respectivamente, ID Screen® IBR Indirect, para diagnóstico en bovinos y bubalinos (Se 100% y Sp 100%), ID Screen® BVD p80 Antibody Competition, para diagnóstico en rumiantes (Se 100% y Sp 100%), ID Screen® *Neospora caninum* Competition, para diagnóstico en bovinos, caninos y especies susceptibles al patógeno (Se 100% y Sp 100%), e ID Screen® BLV Competition para diagnóstico en bovinos y bubalinos (Se 100% y Sp 95%) (Sarangi et al., 2021; Valas et al., 2019).

Análisis estadístico

Se calculó la seroprevalencia para cada agente, tanto en forma global como por provincia. Además, se calculó la frecuencia general de coinfecciones, así como a nivel de finca.

Resultados

Las seroprevalencias globales para BHV-1, BVDV y *N. caninum* fueron 54,0%, 41,7%, y 64,3%, respectivamente. Animales seropositivos a BHV-1, BVDV y *N. caninum* se encontraron en todas las provincias analizadas. Las mayores seroprevalencias de BHV-1 se establecieron en Alajuela (65,3%), Heredia (52,8%) y Limón (45,4%); las de BVDV especialmente en San José (68,2%) y Alajuela (63,9%), y las de *N. caninum* en las cuatro provincias analizadas: San José (86,4%), Alajuela (69,4%), Guanacaste (66,6%) y Limón (61,4%) (Cuadro 1). No se detectaron animales seropositivos a BLV.

Cuadro 1. Seroprevalencia global, a nivel de animal, de BHV-1, BVDV y *N. caninum* en 20 hatos bufalinos de diferentes provincias de Costa Rica, 2020.

PROVINCIA	BHV-1 % (+/total)	BVDV % (+/total)	*N. caninum* % (+/total)
Alajuela	65,3 (96/147)	63,9 (94/147)	69,4 (102/147)
Guanacaste	22,2 (18/81)	25,9 (21/81)	66,6 (54/81)
San José	27,3 (6/22)	68,2 (15/22)	86,4 (19/22)
Heredia	52,8 (19/36)	36,1 (13/36)	47,2 (17/36)
Limón	45,4 (20/44)	9,1 (4/44)	61,4 (27/44)
Puntarenas	100 (42/42)	19,1 (8/42)	47,6 (20/42)
Total	54,0 (201/372)	41,7 (155/372)	64,3 (239/372)

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

Se determinó una amplia distribución de *N. caninum*, BHV-1 y BVDV a nivel de hatos bubalinos; así, se determinó que 100,0%, 85,0% y 75,0% de fincas fueron seropositivas para *N. caninum,* BHV-1 y BVDV, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Seroprevalencia de BHV-1, BVDV y *N. caninum* a nivel de hato, en 20 sistemas de producción bufalinos en diferentes provincias de Costa Rica, 2020.

PROVINCIA	BHV-1 % (+/total)	BVDV % (+/total)	N. caninum % (+/total)
Alajuela	80 (4/5)	100 (5/5)	100 (5/5)
Guanacaste	60 (3/5)	60 (3/5)	100 (5/5)
San José	100 (2/2)	100 (2/2)	100 (2/2)
Heredia	100 (2/2)	100 (2/2)	100 (2/2)
Limón	100 (5/5)	60 (2/5)	100 (5/5)
Puntarenas	100 (1/1)	100 (1/1)	100 (1/1)
Total	85 (17/20)	75 (15/20)	100 (20/20)

Al menos 115 (30,9%) de los animales presentaron coinfecciones. En trece fincas (65%) se encontró 88 (23,7%) animales con coinfecciones de BHV-1, BVDV y *N. caninum*. Estas fincas estaban ubicadas en todas las provincias muestreadas: Alajuela (4), Guanacaste (2), Limón (2), San José (2), Heredia (2) y Puntarenas (1). En cuatro fincas (20%), tres de Limón y una de Guanacaste, se encontró coinfecciones en nueve animales (2,4%) de BHV-1 y *N.* caninum. En tres fincas (15%), dos de Guanacaste y una de Alajuela se encontró 18 animales (4,8%) con coinfecciones de BVDV y *N. caninum.*

Discusión

La evidencia serológica y el nivel de seroprevalencias estimadas en la presente investigación muestran la importancia de incluir a los búfalos de agua en el manejo preventivo de agentes infecciosos como BHV-1, BVDV y *N. caninum*, a pesar del concepto generalizado de los productores sobre la resistencia y rusticidad de sus animales, que los induce generalmente a prescindir de un manejo sanitario (Grazziotto et al., 2020; Rosales, 2011).

Es importante señalar que en este estudio no se observaron signos clínicos asociados con la circulación de los virus en los animales, porque los propietarios generalmente no llevan registros en esas fincas, ni cuentan con un control veterinario adecuado. Sin embargo, los hallazgos serológicos enfatizan la necesidad de una vigilancia continua y una implementación más rigurosa de estrategias de manejo sanitario. Hasta la fecha, solo se había tenido conocimiento sobre la presencia de brucelosis en estos animales (Hernández-Mora et al., 2017).

Las seroprevalencias detectadas para BHV-1 fueron similares a las encontradas en Ecuador y México; 58,5% (n=183) y 57,6% (n=144), respectivamente (Cedeño-Sánchez et al., 2022; Romero-Salas et al., 2017). Aunque este agente parece estar ampliamente distribuido en los hatos bubalinos de Costa Rica, es importante

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

confirmar en estudios futuros, si este agente (BHV1) o un virus aislado recientemente en Argentina, el herpes virus bubalino 1 (BuHV1), o ambos virus, están circulando en hatos bubalinos (Maidana et al., 2014). Sin embargo, los dos agentes ocasionan infecciones persistentes, así, animales seropositivos pueden actuar como huéspedes intermediarios o incluso como reservorios de estos virus, representando una fuente de infección para otros animales (Martínez-Burnes et al., 2024). Aunque los búfalos parecen presentar menores incidentes y trastornos reproductivos comparados con bovinos, por su capacidad de resistencia ante ciertas enfermedades y patologías reproductivas, se recomienda realizar estudios sobre el impacto de este agente en los búfalos de agua (Motta et al., 2014).

La seroprevalencia de BVDV fue similar a la reportada en Brasil, que encontraron seropositividades entre 8,1% y 51,3% en cuatro hatos bubalinos (Paixão et al., 2017). Sin embargo, en otra región de Brasil se reportó una seroprevalencia del 97,9% de BVDV (Soares et al., 2017). En el presente trabajo sorprende la alta seroprevalencia de BVDV en búfalos de agua (47,1%), los cuales sufrieron probablemente una infección sin haber sido percibido por el productor, como la amplia distribución del agente en los hatos (75%).

Se recomienda investigar a futuro, la presencia de búfalos de agua persistentemente infectados con BVDV en los hatos, ya que se ha determinado la presencia del virus en tejidos fetales y sangre de las madres, lo cual sugiere una transmisión vertical en estos animales (Martuccielo et al., 2009). Además, se recomienda detectar los genotipos de BVDV presentes en búfalos de agua de Costa Rica.

La prevalencia determinada para *N. caninum* fue mayor a la reportada para búfalos de agua a nivel mundial (48%) (Reichel et al., 2015), sin embargo, suele variar entre países (44,8 – 88,3%) (Campero et al., 2007; Gennari et al., 2005; Neverauskas et al., 2015; Salguero-Romero et al., 2021). Todos los hatos presentaron animales seropositivos, por lo que se torna importante, investigar en un futuro, si este agente está ocasionando abortos o momificaciones en las fincas, ya que esto se asocia significativamente a animales seropositivos a *N. caninum* (Ciuca et al., 2020). Además, si en estos animales las infecciones ocurren en forma transplacentaria o por contaminación de las praderas (Romero & Frankena, 2003).

Con respecto a BLV, no se encontraron animales seropositivos, lo que concuerda con dos reportes de la ausencia de este agente en búfalos de agua en Brasil y Pakistán (De Oliveira et al., 2016; Ali et al., 2021), pero no con otros de Colombia y Egipto (Flórez et al., 2021; Selim et al., 2019).

Las coinfecciones de *N. caninum* con BHV-1 (2,4%) y de *N. caninum* con BVDV (4,8%) fueron menores a lo reportado en Brasil, donde se encontró coinfecciones de BVDV con *N. caninum* en el 23,2% de los casos (84 bovinos) (Alves et al., 2020). La presencia de los tres agentes fue del 23,7% lo cual se asemeja al 29,4% encontrado en un estudio en realizado en búfalos de agua en Colombia (Pastrana et al., 2022). Otros estudios reportan un 55% de coinfecciones con BVDV y BHV-1 (Soares et al., 2017).

Aunque este estudio solamente determinó la seroprevalencia de agentes infecciosos en búfalos de agua de Costa Rica, los datos obtenidos son importantes, porque demuestran la amplia distribución de los agentes en los hatos bufalinos en el país, y al ser agentes que ocasionan infecciones persistentes, representan fuentes de infección para otros animales, además de que ocasionan reabsorciones, abortos, malformaciones, momificaciones, natimuertos, entre otros (Bartels et al., 2007; Dhaliwal et al., 2016).

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

Conclusiones

Se reporta por primera vez la seroprevalencia de BHV-1, BVDV, BLV y *N. caninum* en búfalos de agua de Costa Rica. La presencia de estos agentes patógenos en las fincas podría estar ocasionando un impacto negativo en la eficiencia reproductiva de los sistemas de producción y, consecuentemente, pérdidas económicas. Se recomienda realizar investigaciones que permitan identificar, mediante técnicas moleculares, las especies de herpes virus y los genotipos de BVDV presentes en los búfalos de agua de Costa Rica, cuantificar el efecto de estos patógenos sobre indicadores productivos, y establecer estrategias para la implementación de programas de control y prevención de estos agentes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés en la realización del estudio y en la publicación de los resultados.

Agradecimientos

A los propietarios de los hatos, por participar en esta investigación. Esta investigación fue financiada con fondos del proyecto "Diagnóstico e Investigación en Medicina Poblacional y Ecosistémica" de FUNDAUNA.

Referencias

Ali, S., Rola-Łuszczak, M., Osiński, Z., Bibi, N., & Kuźmak, J. (2021). Bayesian estimation of the true seroprevalence and risk factor analysis of bovine leukemia virus infection in Pakistan. *Animals*, *11*(5), 1404. https://doi.org/10.3390/ani11051404

Alves, M., Fernandes, F. D., Monteiro, F. L., Bräunig, P., Cargnelutti, J. F., Flores, E. F., Weiblen, R., & Vogel, F. S. F. (2020). Co-infection by *Neopora caninum* and bovine viral diarrhea virus in cattle from Rio Grande do Sul, Brazil, destined to exportation. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, *40*(8), 593–597. https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6468

Asadpour, R., & Jafari, R. (2010). Detection of bovine leukosis provirus in blood and semen samples of bulls. *Comparative Clinical Pathology*, *21*(2), 187–191. https://doi.org/10.1007/s00580-010-1083-5

Baker, J. C. (1995). The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America-food Animal Practice*, *11*(3), 425–445. https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30460-6

Barrantes-Guevara, E. (2019) Caracterización de los sistemas de producción bubalina en las zonas agroclimáticas y provincias de Costa Rica. Documento de avance, comunicación personal del autor, Vicerrectoría Investigación, Dirección de Investigación y Transferencia, Sede Atenas, Universidad Técnica Nacional

Bartels, C., Huinink, I., Beiboer, M., Van Schaik, G., Wouda, W., Dijkstra, T., & Stegeman, A. (2007). Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. *Veterinary Parasitology*, *148*(2), 83–92. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007,06,004

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Brock, K. V. (2004). The many faces of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *20*(1), 1-3. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2003.12,002

Burny, A., Bruck, C., Cleuter, Y., Couez, D., Deschamps, J., Gregoire, D., Ghysdael, J., Kettmann, R., Mammerickx, M., & Marbaix, G. (1985). Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. The Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 52(3), 133–144.

Campero, C. M., Pérez, A., Moore, D., Crudeli, G., Benitez, D., Draghi, M. G., Cano, D., Konrad, J. L., & Odeón, A. C. (2007). Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in water buffaloes (Bubalus bubalis) on four ranches in Corrientes province, Argentina. *Veterinary Parasitology*, *150*(1–2), 155–158. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007,09,002

Cedeño-Sánchez, H., Burgos-García, B., Zambrano-Aveiga, J., Jurado-Hidalgo, M. E., Zambrano-Moreira, P., Lugo-Almarza, M., Farias, M. E., & Angulo-Cubillán, F. (2022). Bovine Herpesvirus-1 antibodies levels and associated Risk Factors in unvaccinated Dairy Herds from tropical wet weather, Ecuador. Revista Científica, XXXII (single), 1–5. https://doi.org/10.52973/rcfcv-e32088

Chaves, A., Romero, J.J., Romero, L., Pereira, R., Jiménez, C., Haas, L., Greiser-Wilke, I. & Dolz, G. (2008). Genetic typing of bovine viral diarrhea virus isolates from Costa Rica. *Cienc. Vet*. 26(1), 37-46. https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/article/view/4693

Ciuca, L., Borriello, G., Bosco, A., D'Andrea, L. D., Cringoli, G., Ciaramella, P., Maurelli, M. P., Di Loria, A., Rinaldi, L., & Guccione, J. (2020). Seroprevalence and Clinical Outcomes of *Neospora caninum, Toxoplasma gondii and Besnoitia besnoiti* Infections in Water Buffaloes (Bubalus bubalis). Animals, 10(3), 532. https://doi.org/10.3390/ani10030532

Da Silva, J. B., Nicolino, R. R., Fagundes, G. M., Barbosa, J. D., Reis, A. D. S. B., Da Silva Lima, D. H., De Oliveira, C. a. F., & Da Fonseca, A. H. (2017). Serological survey of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle (*Bos indicus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in ten provinces of Brazil. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 52, 30–35. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017,05,005

De Oliveira, C. H., Resende, C. F., De Oliveira, C. a. F., Barbosa, J. C., Fonseca, A. A., Leite, R. C., & Reis, J. K. P. D. (2016). Absence of Bovine leukemia virus (BLV) infection in buffaloes from Amazon and southeast region in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016,05,002

Dhaliwal, G. (2016). Chapter 16: Infectious diseases affecting buffalo reproduction: Causes, diagnosis and control. Herd Health Management of Dairy Buffalo. *Central Institute for Research on Buffaloes*. Guru Angad Dev Veterinary and Animal Sciences University, India.

Dijkstra, T., Eysker, M., Schares, G., Conraths, F. J., Wouda, W., & Barkema, H. W. (2001). Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *International Journal for Parasitology*, *31*(8), 747–752. https://doi.org/10.1016/s0020-7519(01)00230-2

Dubey, J. P., & Schares, G. (2011). Neosporosis in animals—The last five years. *Veterinary Parasitology*, *180*(1–2), 90–108. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011,05,031

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

Fagiolo, A., Roncoroni, C., Lai, O., & Borghese, A. (2004). Buffalo pathologies. In A. Borghese (Ed.), Buffalo production and research (pp. 249-296). Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.researchgate.net/publication/286302484_Buffalo_pathologies

Flórez, J. C. R., Peláez, E. a. P., Marín, N. T., López, J. C. E., & Corrales, J. (2021). Prevalencia del virus de la leucosis bovina en búfalos de agua en la región centro occidental de Colombia. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, *12*(2), 419–436. https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i2.5459

Gennari, S. M., Rodrigues, A., Viana, R. B., & Da Cruz Cardoso, E. (2005). Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Northern region of Brazil. *Veterinary Parasitology*, *134*(1–2), 169–171. https://doi.org/10.1016/j.vetpar2005,05,064

Gómez, A. (2015). Determinación de la prevalencia de Diarrea Viral Bovina (DVB) y Vulvovaginitis Infecciosa Bovina (VIB) en explotaciones de búfalos (*Bubalus bubalis*) en la región de Flores, Costa Cuca, Quetzaltenango. (Tesis de grado de licenciatura) Universidad San Carlos de Guatemala.

Gondim, L. F. P., Gao, L., & McAllister, M. M. (2002). Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *Journal of Parasitology*, *88*(6), 1159–1163. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088

Gondim, L. F. P., McAllister, M. M., Pitt, W. C., & Zemlicka, D. E. (2004). Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, *34*(2), 159–161. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004,01,001

Grazziotto, N. M., Maidana, S. S., & Romera, S. A. (2020). Susceptibilidad de los búfalos de agua frente a diferentes enfermedades infecciosas. *Revista Veterinaria*, *31*(2), 215. https://doi.org/10.30972/vet.3124750

Hall, C. A., Reichel, M. P., & Ellis, J. (2005). *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary Parasitology*, *128*(3–4), 231–241. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.12,012

Hernández-Mora, G., Bonilla-Montoya, R., Barrantes-Granados, O., Esquivel-Suárez, A., Montero-Caballero, D., González-Barrientos, R., Fallas-Monge, Z., Palacios-Alfaro, J. D., Baldi, M., Campos, E., Chanto, G., Barquero-Calvo, E., Chacón-Díaz, C., Chaves-Olarte, E., Verri, C. G., Romero-Zúñiga, J., & Moreno, E. (2017). Brucellosis in mammals of Costa Rica: An epidemiological survey. *PLOS ONE*, *12*(8), e0182644. https://doi.org/10.1371/journal.pone,0182644

Instituto Nacional de Estadistica y Censos (INEC). (2015). VI Censo Nacional Agropecuario 2014. Licencia Renum 2014. https://sistemas.inec.cr/pad5/index.php/catalog/154/data-dictionary/F1?file_name=CRI_CENAGRO_LICENCIA_RENUM_2014_021115

Jara, V. J., Chávez, V. A., Casas, A. E., Sánchez, P. N., Moreno-López, J., & Mérza, M. (2011). Determinación de anticuerpos contra Neospora caninum en búfalos de agua (Bubalus bubalis) en la Amazonía peruana. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *22*(1). https://doi.org/10.15381/rivep.v22i1.123

Johnson, R., & Kaneene, J. B. (1991). Bovine leukemia virus. Part IV. Economic impact and control measures. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, *13*(11), 1727-173417361737.

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Kahrs R. (1968). The relationship of bovine viral diarrhea-mucosal disease to abortion in cattle. J Am Vet Med Assoc 1968;153:1652–5.

Lindsay, D. S., Dubey, J. P., & Duncan, R. B. (1999). Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, *82*(4), 327–333. https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00054-0

Martínez-Burnes, J., Barrios-García, H., La Fuente, V. C., Corona-González, B., Alvarez, D. O., & Romero-Salas, D. (2024). Viral Diseases in Water Buffalo (Bubalus bubalis): New Insights and Perspectives. *Animals*, *14*(6), 845. https://doi.org/10.3390/ani14060845

Martucciello, A., De Mia, G. M., Giammarioli, M., De Donato, I., Iovane, G., & Galiero, G. (2009). Detection of Bovine Viral Diarrhea Virus from Three Water Buffalo Fetuses (*Bubalus Bubalis*) in Southern Italy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *21*(1), 137–140. https://doi.org/10.1177/104063870902100123

McAllister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills, R. A., & McGuire, A. (1998). Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *PubMed*, *28*(9), 1473–1478. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9770635

McClurkin, A. W., Littledike, E., Cutlip, R. C., Frank, G. H., Coria, M. F., & Bolin, S. R. (1984). Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. *PubMed*, *48*(2), 156–161. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6326980

Monti, G. E., Frankena, K., & De Jong, M. C. M. (2007). Transmission of bovine leukaemia virus within dairy herds by simulation modelling. *Epidemiology And Infection*, *135*(5), 722-732. https://doi.org/10.1017/s0950268806007357

Motta Giraldo, Javier Leonardo, Waltero García, Indira, & Abeledo, María Antonia. (2013). Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina, Herpesvirus bovino 1 y Herpesvirus bovino 4 en bovinos y búfalos en el Departamento de Caquetá, Colombia. *Revista de Salud Animal*, *35*(3), 174-181. Recuperado en 05 de agosto de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2013000300005&lng=es&tlng=es.

Motta Giraldo, J. L. M., Hoyos, J. A. C., García, I. W., & Abeledo, M. A. (2014). Prevalencia de anticuerpos a *Brucella abortus, Leptospira* sp. y *Neospora caninum* en hatos bovinos y bubalinos en el Departamento de Caquetá, Colombia. *Revista de Salud Animal*, *36*(2), 80-89. http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v36n2/rsa02214.pdf

Neverauskas, C. E., Nasir, A., & Reichel, M. P. (2015). Prevalence and distribution of *Neospora caninum* in water buffalo (*Bubalus bubalis*) and cattle in the Northern Territory of Australia. *Parasitology International*, *64*(5), 392–396. https://doi.org/10.1016/j.parint.2015,05,009

Maidana, S. S., Konrad, J. L., Craig, M. I., Zabal, O., Mauroy, A., Thiry, E., Crudeli, G., & Romera, S. A. (2014). First report of isolation and molecular characterization of bubaline herpesvirus 1 (BuHV1) from Argentinean water buffaloes. *Archives of Virology*, *159*(11), 2917–2923. https://doi.org/10.1007/s00705-014-2146-8

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 43, N° 1, [1-13], E-ISSN: 2215-4507, enero-junio, 2025
DOI: https://doi.org/10.15359/rcv.43-1.1
URL: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index

Paixão, S. F., Fritzen, J. T. T., & Alfieri, A. (2017). Virus neutralization technique as a tool to evaluate the virological profile for bovine viral diarrhea virus infection in dairy water buffalo (Bubalus bubalis) herds. *Tropical Animal Health and Production*, *50*(4), 911–914. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1503-5

Pastrana, M. E. O., Carrascal-Triana, E. L., Ramos, M. D., & Ortega, D. O. (2022). Seroprevalence and associated factors of viral agents of the bovine respiratory disease complex in buffaloes of Colombia. *Ciencia Rural*, *52*(8). https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210215

Reichel, M. P., McAllister, M. M., Nasir, A., & Moore, D. (2015). A review of Neospora caninum in water buffalo (Bubalus bubalis). *Veterinary Parasitology*, *212*(3–4), 75–79. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015,08,008

Rosales-Rodríguez, R. (2011). Situación del búfalo de agua en Costa Rica. *Revista Tecnología En Marcha*, *24*(5), pág. 19. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/162

Romero, J., & Frankena, K. (2003). The effect of the dam–calf relationship on serostatus to Neospora caninum on 20 Costa Rican dairy farms. *Veterinary Parasitology*, *114*(3), 159–171. https://doi.org/10.1016/s0304-4017(03)00135-3

Romero, J. (2006). Neosporosis Bovina (*Neospora Caninum*) Descripción Impacto Económico y Estrategias para su Control. *Ciencias Veterinarias*, *24*(1), 33-48. https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/article/view/4756

Romero-Salas, D., Alvarado-Esquivel, C., Domínguez-Aguilar, G., Cruz-Romero, A., Ibarra-Priego, N., Barrientos-Salcedo, C., Aguilar-Domínguez, M., Canseco-Sedano, R., Espín-Iturbe, L. T., Sánchez-Anguiano, L. F., Hernández-Tinoco, J., & De León, A. A. P. (2017). Seroepidemiology of infection with Neospora caninum, Leptospira, and bovine herpesvirus type 1 in water buffaloes (Bubalus bubalis) in Veracruz, Mexico. *European Journal Of Microbiology & Immunology*, *7*(4), 278-283. https://doi.org/10.1556/1886.2017,00029

Sarangi, L. N., Reddy, R. V. C., Rana, S. K., Naveena, T., Ponnanna, N. M., & Sharma, G. K. (2021). Sero-diagnostic efficacy of various ELISA kits for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) in cattle and buffaloes in India. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *241*, 110324. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2021.110324

Salguero-Romero, J. L., Romero-Salas, D., Cruz-Romero, A., Alonso-Díaz, M. A., Aguilar-Domínguez, M., Sánchez-Montes, S., Lammoglia-Villagómez, M. A., Chaparro-Gutiérrez, J. J., Nogueira-Domingues, L., León, A. A. P., & Dubey, J. (2021). Serosurveillance and risk factors for Neospora caninum infection in water buffaloes (B. bubalis) from central and southern Mexico. *Veterinary Parasitology Regional Studies And Reports*, *26*, 100631. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100631

Schwartz, I. K., & Lévy, D. (1994). Pathobiology of bovine leukemia virus. *HAL (Le Centre Pour La Communication Scientifique Directe)*, *25*(6), 521–536. https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00902257

Selim, A., Elhaig, M. M., Moawed, S. A., & El-Nahas, E. M. (2018). Modeling the potential risk factors of bovine viral diarrhea prevalence in Egypt using univariable and multivariable logistic regression analyses. *Veterinary World*, *11*(3), 259–267. https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.259-267

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica

Soares, L. B. F., Silva, B. P. E., De Melo Borges, J., De Oliveira, J. M. B., De Macêdo, A. A., Aragão, B. B., Nascimento, S. a. D., & Pinheiro, J. B. (2017). Occurrence of Bovine Viral Diarrhea (BVDV) and Bovine Infectious Rhinotracheitis (IBR) Virus Infections in Buffaloes in Pernambuco state - Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, *45*(1), 8. https://doi.org/10.22456/1679-9216.80181

Thrusfield, M., Ortega, C., De Blas, I., Noordhuizen, J., & Frankena, K. (2001). WIN EPISCOPE 2,0: improved epidemiological software for veterinary medicine. *Veterinary Record*, *148*(18), 567–572. https://doi.org/10.1136/vr.148.18.567

Valas, S., Brémaud, I., Stourm, S., Croisé, B., Mémeteau, S., Ngwa-Mbot, D., Tabouret, M. (2019). Improvement of eradication program for infectious bovine rhinotracheitis in France inferred by serological monitoring of singleton reactors in certified BoHV1-free herds. Preventive veterinary medicine, 171, 104743. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104743

Valbuena-Carson, R., Valeris, R., Sánchez, E., Ramírez, A., Ochoa, K., Uzcátegui, D., Chacín, E., Simoes, D., Ramirez, R. & Angulo-Cubillán, F. (2013). Detección serológica de *Neospora caninum* (*Aplocomplexa, Sarcocistidae*) en Búfalas (*Bubalus bubalis*) del municipio de Colón, Estado de Zulia, Venezuela. *Revista Científica de Facultad de Ciencias Veterinarias*, Universidad de Zulia. 23(5), 396-402. https://www.redalyc.org/pdf/959/95928428005.pdf

Waldeck, H. F., Van Duijn, L., Van Den Heuvel-Van Den Broek, K., Mars, M., Santman-Berends, I., Biesheuvel, M. M., & Van Schaik, G. (2021). Risk factors for introduction of bovine herpesvirus 1 (BOHV-1) into cattle herds: a Systematic European Literature review. *Frontiers in Veterinary Science*, *8*. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.688935

Wrathall, A. E., Simmons, H. A., & Van Soom, A. (2006). Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus-infected semen. *Theriogenology*, *65*(2), 247–274. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.043

Yuan, Y., Kitamura-Muramatsu, Y., Saito, S., Ishizaki, H., Nakano, M., Haga, S., Matoba, K., Ohno, A., Murakami, H., Takeshima, S., & Aida, Y. (2015). Detection of the BLV provirus from nasal secretion and saliva samples using BLV-CoCoMo-qPCR-2: Comparison with blood samples from the same cattle. *Virus Research*, *210*, 248–254. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015,08,013

Licencia Creative Commons Atribución-No-Comercial SinDerivadas 3.0 Costa Rica