



Consejo Directivo
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa

RESOLUCIÓN N° 033/2023

GENERAL PICO, 02 de Marzo de 2023.-

VISTO:

La evaluación positiva enviada por las/los integrantes del Comité Científico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, respecto del Proyecto de Investigación: *“Diversidad genética del gen BoLA-DRB3.2 en bovinos para carne de la región semiárida de La Pampa y su asociación con resistencia/ susceptibilidad a leucosis”* y,

CONSIDERANDO:

Que el Proyecto de Investigación enunciado en el visto estará bajo la dirección de la Dra. Laura BALTIAN y la co-dirección de la M.V. Delia PERATTA, participando en carácter de Investigadores/as el Ing. Pablo REMIREZ, el Dr. Enrique SCHMIDT, el Ing. Jorge PALEZZA, la Dra. Mariángeles CLAUZURE, el Lic. Víctor LEAVI DE ASIS y el Dr. Claudio TOBAL; en carácter de Asistentes de Investigación el Esp. Marcelo SIERRO y las/los estudiantes de la carrera Medicina Veterinaria Rebeca MELENDEZ, Juliana PORTADA y Mara LEMA VICENS.

Que tendrá una duración de treinta y seis (36) meses, a partir del 01 de Enero de 2023 y hasta el 31 de Diciembre de 2025.

Que de acuerdo a la presentación el citado proyecto es de Investigación Aplicada.

Que participa en su desarrollo el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que el citado proyecto ha sido presentado de acuerdo con las normas vigentes y aprobado por el Comité Científico de la Facultad.

Que el Artículo 5° Anexo I de la Resolución N° 100/99 y su modificatoria N° 88/02 del Consejo Superior, estipula que: *“Todo Programa y todo Proyecto de Investigación que obtenga dos (2) evaluaciones externas favorables será acreditado mediante resolución del Consejo Directivo de cada Facultad a la que pertenezca”*.

Que cuenta con dos (2) evaluaciones externas satisfactorias, de acuerdo con lo previsto en la Resolución N° 100/99 y N° 88/02 del Consejo Superior de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que las evaluaciones fueron realizadas por la Dra. Guillermina DOLCINI (UNICEN) y el Dr. Guillermo GIOVAMBATTISTA (UNLP).

Que en Sesión Ordinaria del Consejo Directivo del día 02 de Marzo de 2023, puesta la acreditación del Proyecto de Investigación a consideración de los/as Sres/as. Consejeros/as, se aprueba por unanimidad.



Consejo Directivo
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa

Corresponde a Resolución N° **033/2023**

//2.-

POR ELLO:

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

RESUELVE:

ARTICULO 1º: Acreditar como Proyecto de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, el proyecto denominado: “*Diversidad genética del gen BoLA-DRB3.2 en bovinos para carne de la región semiárida de La Pampa y su asociación con resistencia/ susceptibilidad a leucosis*” bajo la dirección de la Dra. Laura BALTIAN y la co-dirección de la M.V. Delia PERATTA, participando en carácter de Investigadores/as el Ing. Pablo REMIREZ, el Dr. Enrique SCHMIDT, el Ing. Jorge PALEZZA, la Dra. Mariángeles CLAUZURE, el Lic. Victor LEAVI DE ASIS y el Dr. Claudio TOBAL; en carácter de Asistentes de Investigación el Esp. Marcelo SIERRA y las/los estudiantes de la carrera Medicina Veterinaria Rebeca MELENDEZ, Juliana PORTADA y Mara LEMA VICENS, el cual tiene quince (15) folios y consta en el Anexo de la presente Resolución.

ARTICULO 2º: El proyecto tendrá una duración de treinta y seis (36) meses, a partir del 01 de Enero de 2023 y hasta el 31 de Diciembre de 2025.

ARTICULO 3º: Justificar los gastos que se produzcan de pasajes, viáticos, combustibles, aparatos, material de laboratorio, etc., del citado proyecto.

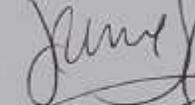
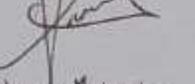
ARTÍCULO 4º: Regístrese, comuníquese. Tomen conocimiento los/as interesados/as, Secretaría de Investigación y Posgrado. Cumplido, archívese.

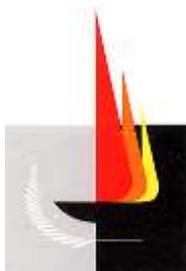
Presidente
Consejo Directivo
Facultad de Ciencias Veterinarias
UNLPam

ANEXO



TÍTULO: Diversidad genética del gen BoLA-DRB3.2 en bovinos para carne de la región semiárida de La Pampa y su asociación con resistencia/ susceptibilidad a leucosis

INTEGRANTES	FIRMA
Baltian, Laura	
Peratta Delia	
Schmidt Enrique	
Pablo R Emirez	
Palezza Jorge	
Clauzure Mariángelos	
Leavi Asis Victor	
Tobal, Claudio Fabián	
Sierro, Marcelo Rubén	
Melendez Rebeca	Rebeca Melendez
Juliana Portada	
Mara, Lema Vincens	



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA
Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO: Diversidad genética del gen BoLA-DRB3.2 en bovinos para carne de la región semiárida de La Pampa y su asociación con resistencia/ susceptibilidad a leucosis.

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Aplicada

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL: -

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES: -

1.5. ÁREA DE CONOCIMIENTO: Salud

1.6. SUB ÁREA DE CONOCIMIENTO: Ciencias Agrícolas y Veterinarias

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO

2.1. ÁREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS: Departamento de Producción Animal FCV, UNLPam

2.2. OTRAS INSTITUCIONES: -

2.3. EQUIPO DE TRABAJO:

2.3.1. INTEGRANTES

Apellido y Nombre	CUIL	Título Académico	Categ. Invest.	Responsabilidad (1)	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo Dedicac. Hs./Sem
Baltian, Laura	27-16438866/8	Dra.	III	D	Genética y Mejoramiento Animal	Prof ADJ E	20
Peratta, Delia	27-16460330/5	M.V.	III	CD	Genética y Mejoramiento Animal	JTP SE	10
Remirez, Pablo	23-29361341/9	Ing.	V	I	Genética y Mejoramiento Animal	Adscripto	4

Schmidt, Enrique	20-18348760/5	PhD.	IV	I	Genética y Mejoramiento Animal	Prof TIT. S	2
Palezza, Jorge	20-13737741/2	Ing.	V	I	Bioestadística	Prof ADJ SE	2
Clazure, Mariángeles	27-30782086/8	Dra.	-	I	Genética y Mejoramiento Animal	Adscripta	4
Leavi De Asis, Victor	20-37055646/7	Lic.	-	I	Genética y Mejoramiento Animal	Adscripto	2
Tobal, Claudio	20-21704464/3	Dr.	IV	I	Producción de Bovinos para Carne	Prof ADJ E	2
Sierro, Marcelo	20-20589115/4	M.V.	V	AI	Producción de Bovinos para Carne	Ay 1° SE	2
Melendez, Rebeca	27-39967211/8	Estudiante	-	AI	FCV UNLPam	Estudiante	2
Portada, Juliana	27-35240282/1	Estudiante	-	AI	Genética y Mejoramiento Animal	Adscripta	12
Lema Vicens, Mara	27-37826562/8	Estudiante	-	AI	FCV UNLPam	Estudiante	2

(1) D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

2.3.1. BECARIOS:

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.2. TESISAS:

Apellido y Nombre	Título Académico al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.3. PERSONAL de APOYO:

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
	Director Co-Director Tesis		

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO:

3.1. FECHA de INICIO: 01 / 01 / 2023 FINALIZACIÓN: 31 / 12/2025

4. RESUMEN del PROYECTO:

La leucosis bovina enzoótica (LBE) es una enfermedad infecciosa que trae aparejados daños en la sanidad animal y económicos asociados con la infección incluyendo una baja producción de carne y leche, además de una vida productiva corta por la infección y el descarte de ganado con linfoma. El complejo mayor de histocompatibilidad bovina (BoLA) es usado como marcador de enfermedades y rasgos inmunológicos en el ganado. El objetivo general será determinar la diversidad genética del gen BoLA-DRB3.2 en bovinos para carne y su asociación con resistencia/ susceptibilidad a leucosis. La asociación entre alelos del BoLA-DRB3.2 y leucosis se basará en un estudio caso/control. La población de bovinos (N=100) será dividida en dos grupos: grupo caso: >10.000 linfocitos/ μ l en sangre y que sean positivos para el análisis serológico con la prueba de Doble Inmunodifusión en Agar (DIDA). El grupo control: < a 10.000 linf/ μ l y negativos para DIDA. Los marcadores BoLA-DRB3 se tipificarán por PCR-RFLP y PCR-SBT. El test exacto de Fisher y Odds Ratio (OR) de Woolf-Haldane se utilizarán para estudiar la asociación entre leucosis y las variantes alélicas. La detección y el diagnóstico precoz de la enfermedad son fundamentales para disminuir su propagación y las pérdidas económicas que provoca.

4.1 Palabras claves:

Leucosis/ linfocitos/resistencia / susceptibilidad/Gen DRB3

4.2 Abstract en Inglés:

Enzootic bovine leukosis (EBL) is an infectious disease that brings with it economic damages associated with infection includes low meat and milk production, shortened productive life due to infection, and culling of cattle with lymphoma. The bovine leukocyte antigen (BoLA) is used as a marker of diseases and immunological traits in cattle. The general objective will be to determine the genetic diversity of the BoLA-DRB3.2 gene in beef cattle and its association with leucosis resistance/susceptibility to leukosis. The association between BoLA-DRB3.2 alleles and leucosis will be based on a case/control study. The bovine population (N=100) will be divided into two groups: case group: >10,000 lymphocytes/ μ l in blood, and positive for serological analysis with the Double Immunodiffusion Agar (DIDA) test. The control group: <10,000 lymph/ μ l and negative for DIDA. BoLA-DRB3.2 markers will be typed by PCR-RFLP and PCR-SBT. Fisher's exact test and Woolf-Haldane Odds Ratio (OR) will be used to study the association between leukosis and allelic variants. Early detection and diagnosis of the disease are essential to reduce its spread and the economic losses it causes.

4.3. Key words:

Leukosis/lymphocytes/Resistance/Susceptibility /Gene DRB3.2

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA.

La leucosis bovina enzoótica (LBE) es una enfermedad infecciosa causada por el retrovirus de la leucemia bovina (VLB). Las infecciones por el VLB se han extendido por todo el mundo y es la enfermedad neoplásica más común que afecta al ganado. Este virus se integra como un provirus en el ADN de los linfocitos B y una amplia gama de tipos de células. La infección dura toda la vida (Aida et al. 2013).

La mayoría de los bovinos infectados con VLB son asintomáticos, pero aproximadamente un tercio de ellos padecen linfocitosis persistente (LP) caracterizada por una expansión de células B policlonales no malignas y entre el 1% y el 5% desarrollan leucemia/linfoma de células B después de una latencia prolongada (Gillet et al. 2007).

El sistema inmunitario del ganado infectado se deteriora, incluso durante las etapas latentes de la leucemia, y esto conduce a la incapacidad de los animales para mantener un rendimiento normal (Frie y Coussens 2015).

El daño económico asociado con la infección incluye una baja producción de carne y leche, una vida productiva más corta debido a la infección y daños asociados con el descarte de ganado debido al linfoma (Nakada et al. 2022; Benítez et al. 2020; Nekouei et al. 2016). Además, el ganado posee una mayor susceptibilidad a otras enfermedades de etiología infecciosa, del tipo de la mastitis, diarrea, neumonía, pero el efecto sobre la fertilidad fue escaso (Emanuelsson et al. 1992). Si bien existen evidencias que las vacas infectadas pueden tener una menor producción de leche y una disminución de la respuesta inmunológica a otras enfermedades, (Baltian et al. 2014, 2016) el foco de impacto es la limitación que genera la infección para la exportación de vacunos y la comercialización de semen y embriones.

De esto surge que los costos directos se deben a una disminución en la productividad animal y en la longevidad de las vacas; los indirectos son causados por las restricciones que se imponen a la importación de animales y sus productos de las áreas infectadas.

La mayoría de las regiones europeas han implementado un programa de erradicación eficiente, pero la prevalencia de VLB sigue siendo alta en todo el mundo. Poco se ha estudiado en cuanto a rebaños de carne, tanto en Argentina como en el resto del mundo.

En Argentina durante el periodo 1989-1993 se evaluaron 9.114 bovinos lecheros de la raza Holando Argentino y 5.519 bovinos de razas productoras de carne, usando la técnica de inmunodifusión en gel de agar (IDGA), obteniéndose un 9,3% y 1,8% respectivamente de animales positivos a VLB (Alvarez Rubianes, 2017).

El control de la enfermedad no es factible aún porque todavía no existe una vacuna eficaz contra ella, aunque se están desarrollando. En Argentina un grupo de INTA Castelar investiga sobre una vacuna que consiste en una cepa atenuada de virus/provirus que impide la infección con la cepa salvaje y en consecuencia impide el desarrollo de la enfermedad, pero aún faltan pruebas para el desarrollo del producto final (Trono et al. 2022).

Por tanto, la detección y el diagnóstico precoz de la enfermedad son fundamentales para disminuir la diseminación y las pérdidas económicas que provoca (Marawan et al. 2021). Por estas razones Trono (2022), Porrás et al. (2022) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), han catalogado a la LBE como una enfermedad que puede causar impactos drásticos, incluso en el comercio internacional. El VLB se transmite principalmente a través de la transferencia de linfocitos infectados a través de rutas horizontales y verticales (Nakatsuchi et al. 2022).

La transmisión horizontal, se refiere a la propagación a través de la sangre que contiene células infectadas y puede ocurrir mediante el uso repetido de jeringas y guantes para exámenes rectales, descorne y castración, así como a través de insectos chupadores de sangre (Bartlett et al., 2014; Kohara et al., 2018, Panei et al. 2019). Los animales portadores no tienen síntomas y por lo tanto constituyen la gran fuente de contagio en los rodeos. En las secreciones como la leche, sangre, calostro, secreción nasal, saliva, semen y orina se pueden llegar a encontrar linfocitos infectados, transformando a estos fluidos en una fuente de contagio. No obstante, la mayor proporción de linfocitos infectados se encuentran obviamente en la sangre, por lo tanto, cualquier medida de manejo o práctica veterinaria como extracción de sangre, vacunación, castración, descorne, aplicación de inyectables,

cirugías, palpación rectal, tacto, tatuaje, etc. que se practican sin tomar las medidas higiénico-sanitarias correspondientes, son una importante forma de diseminación iatrogénica de la enfermedad.

La información sobre la carga proviral podría tenerse en cuenta al controlar el VLB en rodeos de alta prevalencia. El ganado puede infectarse a cualquier edad, incluida la fase embrionaria. La mayoría de las infecciones son subclínicas, pero un porcentaje del ganado mayor de 3 años ($\approx 30\%$) desarrolla linfocitosis persistente.

Sin embargo, menos del 5% del ganado infectado con VLB desarrollará linfoma, lo que sugiere que, además de la infección viral, los polimorfismos genéticos del huésped pueden desempeñar un papel en la susceptibilidad a la enfermedad (Baltian et al. 2014, Baltian et al. 2016; Lo et al. 2020). También se ha registrado infección natural en búfalos (Meas et al., 2000) y en ovejas Djilali et al. 1987.

Los síntomas clínicos, cuando se presentan, dependen de los órganos afectados. El ganado con linfosarcomas casi siempre muere súbitamente, en semanas o en meses después de la aparición de los síntomas clínicos.

Los genes del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) son de importancia para los criadores de animales y genetistas porque juegan un rol central en la respuesta inmune y han sido asociados con resistencia/susceptibilidad a una amplia cantidad de enfermedades. En bovinos, el MHC se denomina Antígeno Leucocítico Bovino (BoLA) y se encuentra localizado en el cromosoma 23 (Amorena y Stone, 1978; Spooone et al. 1978). El ganado bovino que porta el alelo del antígeno leucocitario bovino (BoLA)-DRB3*009:02 mantienen cargas provirales de BLV indetectables y no eliminan el virus incluso cuando están infectados (Notsu et al. 2021).

Diferentes autores han asociado los polimorfismos presentes en los genes del BoLA con enfermedades infecciosas como mastitis, leucosis, dermatofitosis y ectoparásitos (Xu et al. 1993; Burbano et al. 2005; Martínez et al. 2006; Juliarena et al. 2008; Panei et al. 2019). Estas enfermedades han sido asociadas principalmente a los polimorfismos presentes en el segundo exón del gen de clase II BoLA-DRB3 (Takeshima y Aida, 2006; Díaz et al. 2010, Baltian et al. 2014, Baltian et al. 2016).

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el (los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO:

Desde hace 15 años, en la cátedra de Genética y Mejoramiento se viene estudiando la estructura y variabilidad genética del Complejo Principal de Histocompatibilidad en bovinos. Durante este período se viene describiendo la variabilidad genética de genes de clase II, tales como, la región promotora proximal (URR) del gen DRB3, el exón 2 del gen DRB3 y el gen DQA1. Se describieron las regiones polimórficas y se llevaron a cabo estudios de asociación con enfermedades infecciosas, tales como mastitis y leucosis en ganado lechero. Estos estudios resultaron en la publicación de artículos científicos en revistas nacionales e internacionales, presentaciones en reuniones científicas, becarios de grado y una Tesis Doctoral. Los trabajos se realizaron en colaboración del laboratorio de animales domésticos IGEVET-CONICET, UNLP.

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

Proyectos

-Asociación Genética entre Loci de Histocompatibilidad de Clase II y Número de Células Somáticas en Leche de Ganado Holstein de la provincia de La Pampa". 2006-2010.

-Tesis de Doctorado en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP: Dra. Laura R. Baltian.

-Polimorfismos de la Región Promotora Proximal del Gen BoLA-DRB3 y su Asociación con la Resistencia/Susceptibilidad a Leucosis y Mastitis en Ganado Holstein de la Provincia de La Pampa. 2011-2014.

-Estudio de asociación entre alelos del gen BoLA-DRB3.2 con rasgos de producción lechera y mastitis evaluada por CCS en ganado Holstein de la región Pampeana. 2017-2022.

Publicaciones

-Baltian LR, Ripoli MV, Giovambattista G. Estudio del polimorfismo del gen de clase II BoLA-DQA1 y su asociación con resistencia/susceptibilidad a mastitis en ganado Holstein de la provincia de La Pampa. Revista Ciencia Veterinaria. Vol 24 (1).2022

<https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/6564>

-Baltian LR, Follmer AV, Peratta DL, Schmidt, EE, Severini RA, Delbonis S, Borrego C, Alvarez Rubianez N, Ripoli MV, Giovambattista G. 2016. Polimorfismos del exón 2 del gen BoLA-DRB3 asociados con resistencia / susceptibilidad a leucosis en ganado Holstein de La Pampa. Revista Ciencia Veterinaria. 18:9-28.

-Baltian LR, Ripoli MV, Giovambattista G. 2014. Determinación de los motivos aminoacídicos presentes en los sitios de unión a los antígenos de los alelos del gen BoLA-DRB3 en una población Holstein de La Pampa y su asociación con mastitis. Ciencia Veterinaria. 16: 9- 23.

-Goszczyński D, Ripoli MV, Takeshima S, Baltian L, Aida Y, Giovambattista G. 2014. Haplotype determination of the upstream regulatory region and the second exon of the BoLA-DRB3 gene in Holstein cattle. Tissue Antigens. 83(3):180-183. DOI: 10.1111/tan.12293.

Ripoli MV, Takeshima SN, Baltian L, Aida Y, Giovambattista, G. (2012). Haplotype determination of upstream regulatory region and the second exon of bovine DRB3 gene. Major Histocompatibility Complex. Official journal of the Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics. ISSN 21869995. Vol. 19 N° 2. Tokio, Japón.

-Baltian LR, Ripoli, MV, Sanfilippo S, Takeshima, SN, Aida Y, Giovambattista G. (2012). Association between BoLA-DRB3 and somatic cell count in Holstein cattle from Argentina. Mol Biol Rep.39:7215-7220. DOI: 10.1007/s11033-012-1526-y. Springer ISSN 0301-4851.

-Baltian LR, Ripoli MV, Takeshima SN, Aida Y, Giovambattista G. (2011). Estimación de las frecuencias alélicas del gen BoLA-DRB3 en una población de ganado Holstein de La Pampa mediante Secuenciación Directa. Ciencia Veterinaria. 13: ISSN: 1515-1883.

Congresos y Jornadas

-Baltian LR, Ramirez P, Lema Vicens M. Polimorfismo del Gen BoLA-DRB3.2 asociados a la producción de leche y conteo de células somáticas en ganado Holstein. En Vol XXXII Suppl. (1): 8-14; Octubre de 2021 Journal of the Argentine Society of Genetics, Argentina: Sociedad Argentina de Genética. 2021. 1852-6322.

-Baltian LR, Ramirez Pablo, Patrilla Juliana, Schmidt EE. Análisis de alelos del gen BoLA-DRB3.2 y su vinculación con rasgos de producción lechera y conteo de células somáticas. En Journal of Basic & Applied Genetics, Argentina: Sociedad Argentina de Genética. 2019. 1852-6322.

-Baltian LR, Ripoli MV, Giovambattista G. 2014. Tema: "Asociación de cambios aminoacídicos del gen DRB3 y mastitis mediante conteo de células somáticas". XLIII Congreso Argentino de Genética. En carácter de asistente y expositor: modalidad poster . 19 al 21 de octubre de 2014. San Carlos de Bariloche. Argentina.

- Baltian LR, Follmer AV, Delbonis S, Borrego C, Ripoli MV, Schmidt E, Peratta DL, Alvarez Rubianez N, Giovambattista G. Asociación de polimorfismos del exón 2 del gen DRB3 del MHC bovino con

resistencia susceptibilidad a Leucosis en una población Holstein de La Pampa. ISBN 978-950-863-207-4.

-Baltian LR, Ripoli M, Schmidt EE, Peratta D, Sanfilippo S, Alvarez Rubianes N, Follmer A, Giovambattista G. (2012). Polimorfismos de la Región Promotora Proximal del Gen BoLA-DRB3 y su Asociación con la Resistencia/Susceptibilidad a Leucosis y Mastitis en Ganado Holstein de la Provincia de La Pampa. Jornada de Ciencia y Técnica 2012. "Proyectar y comunicar. Estrategias para la investigación en la UNLPam". ISBN 978-950-863-139-8. 18 de octubre. General Pico, UNLPam.

-Baltian LR, Ripoli MV, Schmidt EE, Peratta DL, Sanfilippo SB, Alvarez Rubianes N.; Giovambattista, G. (2011). Polimorfismos de la región promotora proximal del Gen BoLA DRB3 y su asociación con la resistencia/ susceptibilidad a leucosis y mastitis en ganado Holstein de la Provincia de La Pampa. ISSN 1853-9750. VII jornada de Ciencia y Técnica. General Pico.

-Baltian LR, et al. (2010). Asociación Genética entre Loci de Histocompatibilidad de Clase II y Número de Células Somáticas en Leche de Ganado Holstein de La provincia de La Pampa. Jornada de Ciencia y Técnica. Santa Rosa. ISBN 978-950-863-139-8.

- Baltian L. et al. (2010). "Polimorfismo del Gen BoLA- DRB3 en Ganado Holstein de La Pampa y su relación con Mastitis y recuento de Células Somáticas en Leche". XIV Congreso Latinoamericano de Genética ALAG 2010. En carácter de asistente y expositor, modalidad póster. Viña del Mar, Chile, 1-5 de octubre de 2010.

-Baltian LR, Catanesi CI, Ripoli MV, Schmidt E, Peratta D, Sanfilippo S, Fuentes MB, Giovambattista, G. (2009). Asociación Genética entre Loci de Histocompatibilidad de Clase II y Número de Células Somáticas en Leche de Ganado Holstein de La provincia de La Pampa. Memorias de la 6ta Jornada de Ciencia y Técnica. FCV, UNLPam. ISSN: 1852-5725.

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

La leucosis es una de esas enfermedades de los bovinos que conduce a pérdidas económicas por gastos en servicios veterinarios, mayor trabajo y eliminación de vacas infectadas. Es una enfermedad linfoproliferativa contagiosa del ganado caracterizada por linfosarcoma de células B, que se presenta en todo el mundo (Aida et al. 2013).

El daño económico asociado con la infección incluye una baja producción de carne y leche, una vida productiva reducida a causa de la infección y daños asociados con el descarte de ganado debido al linfoma (Nakada et al. 2022; Benítez et al. 2020; Nekouei et al. 2016). Además, el ganado posee una mayor susceptibilidad a otras enfermedades de etiología infecciosa, del tipo de la mastitis, diarrea, neumonía, pero el efecto sobre la fertilidad fue escaso (Emanuelsson, 1992). Si bien existen evidencias que las vacas infectadas pueden tener una menor producción de leche y una disminución de la respuesta inmunológica a otras enfermedades (Baltian et al. 2014; Baltian et al. 2016), el foco de impacto es la limitación que genera la infección para la exportación de vacunos y la comercialización de semen y embriones.

Varios estudios demuestran que la resistencia a enfermedades infecciosas está genéticamente determinada por lo tanto en estos últimos años es de interés para los criadores tanto de ganado de carne como ganado lechero seleccionar para la resistencia a las enfermedades infecciosas.

Los genes del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) son de importancia para los criadores de animales y genetistas porque juegan un rol central en la respuesta inmune y han sido asociados con resistencia/susceptibilidad a una amplia cantidad de enfermedades. En bovinos, el MHC se denomina

Antígeno Leucocítico Bovino (BoLA) y se encuentra localizado en el cromosoma 23 (Amorena y Stone, 1978; Spooner et al. 1978).

El MHC desempeña un rol central en el control de la respuesta inmune y la susceptibilidad a una gran variedad de enfermedades, principalmente autoinmunes e infecciosas. Es poligénico y cada uno de los genes a su vez tiene muchos alelos por lo que es también polimórfico. Este polimorfismo tiene un profundo efecto en el reconocimiento de los antígenos por las células T. La combinación de poligenia y polimorfismo extiende ampliamente el rango de péptidos que pueden ser presentados a dichas células T por un individuo (Brown et al. 1993). El polimorfismo de estos genes determina la diversidad de las proteínas codificadas de la respuesta inmune, y tendría como consecuencia la variación genotípica en la resistencia/susceptibilidad.

Por estos motivos, los loci del MHC constituyen los principales genes candidatos para el estudio de asociación entre marcadores genéticos y resistencia/susceptibilidad a enfermedades infecciosas, entre ellas la leucosis. Dentro del BoLA, el exón 2 del gen BoLA-DRB3 es reconocido por su rol funcional predominante en la resistencia/susceptibilidad a enfermedades (Yoshida et al. 2009). Este gen es altamente polimórfico, ya que se han reportado hasta el momento 165 alelos en la base de datos Inmuno Polymorphism Database (IPD)-MHC (2022).

Diferentes autores han estudiado la variabilidad genética del exón 2 del gen DRB3 en distintas razas bovinas, tanto criollas como comerciales. Gillespie et al. (1999) identificaron en bovinos de la raza Jersey 24 alelos. Miretti et al. (2001) identificaron 24 alelos en bovinos de Sudamérica (Criollo Argentino, Caracu, Pantaneiro).

Hipótesis

Existen suficientes evidencias que sostienen que las variaciones individuales en la respuesta inmune ante la exposición a un agente patógeno son consecuencia de factores genéticos y ambientales.

Objetivo

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio será detectar asociaciones de los alelos del exón 2 del gen DRB3 del Complejo Principal de Histocompatibilidad Bovino (BoLA) y la resistencia/susceptibilidad a leucosis en ganado para carne de la región semiárida de la provincia de La Pampa.

Objetivos específicos:

- Determinar las frecuencias alélicas del gen BoLA DRB3.2 en la población estudiada.
- Identificar los animales susceptibles genéticamente a padecer la enfermedad.
- Asociar los alelos del gen BoLA DRB3.2 con resistencia a la LBE.

Resultados esperados

En los últimos años ha aumentado el interés por definir marcadores genéticos e inmunológicos que podrían ser usados para seleccionar y así mejorar la resistencia a enfermedades. Por lo tanto, los resultados de este proyecto permitirán tener una herramienta más para la detección y el diagnóstico precoz de la enfermedad. Esto es fundamental para disminuir su propagación y las pérdidas económicas que provoca. Así se podrán seleccionar genéticamente animales resistentes a leucosis lo cual permitirá mejorar el estado de salud de los animales, aumentando la productividad y reduciendo la necesidad de intervención farmacéutica y los costos económicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

I-Población en estudio y diseño experimental.

Para este trabajo se utilizará un rodeo de 50 vacas de raza británicas del establecimiento "Bajo Verde" perteneciente a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, ubicado al oeste de la Ruta Nacional N° 35, en la región del Caldenal Pampeano.

Diseño experimental

El presente estudio se basará en un estudio caso/control en los que se identificarán alelos de susceptibilidad/resistencia a Leucosis correspondientes al exón 2 del gen BoLA-DRB3. La identificación se realizará a través de la búsqueda de cambios en el ADN tanto en el grupo caso como en el control. Se muestrearán 50 bovinos de la región semiárida de la provincia de La Pampa.

A) Para el análisis de Leucosis se analizarán animales:

- Positivos y negativos al análisis serológico con la prueba de doble inmunodifusión en agar: DIDA (según las indicaciones del proveedor del kit de determinación).
- Luego se analizarán los animales positivos de acuerdo al número de células linfocíticas: Se tomarán como referencia el número de linfocitos: > de 10.000 linfocitos y < de 10000.
 - Grupo caso: >10000 linf/μl leucosis persistente (LP) y positivos para DIDA.
 - Grupo control: < a 100000 linf/μl aleucosis (AL) y negativos para DIDA.

B) Estudios hematológicos

Se tomarán muestras de sangre a 50 animales para realizar la extracción de ADN, el recuento linfocitario y la prueba DIDA de inmunodiagnóstico.

Toma de muestras en los 50 animales se les realizará lo siguiente:

- 1- Se extraerán 8 ml de sangre a cada animal y se colocará en tubos identificados por números correspondientes a cada animal con anticoagulante (EDTA) para realizar, por única vez, la extracción de ADN. Se conservarán a -20° C hasta su utilización.
- 2- Se colocarán en tubos identificados por números correspondientes a cada animal, con EDTA, 3 (tres) ml de sangre para enviar al laboratorio de hematología para recuento de linfocitos que se repetirá a los 3 y a los 6 meses de la primera extracción.
- 3-En otros tubos sin anticoagulante, identificados por números correspondientes a cada animal, se colocarán 4 ml de sangre para obtener tras centrifugación 2 ml de suero aproximadamente, para ser utilizados en inmunodiagnóstico. Igualmente se repetirá a los 3 meses a los 6 meses de la primera extracción.

C) Análisis serológicos

Inmunodifusión en gel de agar: (DIDA)

Se realizará el análisis serológico de todas las muestras por la prueba de doble inmunodifusión en agar (DIDA) dado que esta prueba tiene alta especificidad, por lo tanto, los animales positivos son considerados portadores de VLB.

El test de DIDA, es un kit comercial producido en el laboratorio de Virología FCV-UNLP (aprobado por SENASA). Se realizará la siembra en geles de agar con 6 pocillos externos y uno central donde se colocarán los sueros controles, antígeno y sueros problemas

D) Extracción del ADN

El ADN genómico se extraerá a partir de las muestras de sangre entera mediante un kit comercial, según las indicaciones del proveedor. El ADN genómico extraído se analizará en geles de agarosa.

II-Análisis de los polimorfismos del exón 2 del gen BoLA-DRB3

El presente estudio se basará en la identificación de alelos de susceptibilidad/resistencia correspondientes al exón 2 del gen BoLA-DRB3. El estudio de dichos polimorfismos se realizará mediante dos técnicas: Reacción en cadena de la polimerasa con análisis de los polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP) y secuenciación directa (PCR-SBT). La caracterización de los alelos del locus BoLA-DRB3 se llevará a cabo por el método de PCR anidado-RFLP descrito por Van Eijk et al. (1992).

Dicha técnica consiste en la amplificación de una secuencia de ADN de 284 pb que codifica para la región de reconocimiento del antígeno o ARS (exón 2 del gen BoLA-DRB3) y la posterior digestión de los productos de PCR con las enzimas de restricción Rsa I, BstI y Hae III. La clasificación de los alelos se realizará teniendo en cuenta las combinaciones de los patrones de restricción obtenidos en forma independiente para las enzimas antes mencionadas.

La técnica de Secuenciación Directa (PCR-SBT) será la descrita por Takeshima et al. (2009).

Método estadístico

Para estudiar la asociación entre leucosis y las variantes alélicas se utilizará el test exacto de Fisher y Odds Ratio (OR) de Woolf-Haldane. El Odds Ratio es una medida que indicará la frecuencia relativa de los casos/controles con las diferentes variantes alélicas. Como casos particulares tenemos que, si $OR = 1$, el animal (Alelo) no se asocia con la Leucosis, si $OR < 1$ ese determinado alelo disminuye la probabilidad de desarrollar Leucosis y si $OR > 1$ ese determinado alelo aumenta la probabilidad de desarrollar Leucosis. Para los cálculos y análisis de los Odds Ratio se utilizará tanto el test exacto de Fisher como el método de Woolf-Haldane.

6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS.

Los resultados obtenidos en este proyecto permitirán conocer la variabilidad genética presente en el gen DRB3.2 en la población de bovinos para carne de la región semiárida de La Pampa. También contribuirá a aumentar nuestros conocimientos acerca de los factores genéticos involucrados en la resistencia/susceptibilidad a leucosis. Por otra parte, el estudio redundará en el desarrollo y puesta a punto de metodologías de tipificación a nivel molecular que podrán ser usados a corto plazo en programas de selección. Las mejoras en la salud del ganado han sido reivindicadas internacionalmente y han aumentado los requisitos de los consumidores y de los productores ganaderos. El control de la enfermedad no es factible porque aún se está probando la eficacia de una vacuna contra la enfermedad. Por tanto, la detección y el diagnóstico precoz de la leucosis son fundamentales para disminuir su propagación y las pérdidas económicas que provoca.

6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	MESES												
	AÑO 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Toma de muestra de sangre a 50 animales		X				X					X		
Extracción de ADN a 25 muestras				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Recuento linfocitario cada 3 meses		X				X					X		
Prueba serológica cada 3 meses		X				X					X		

Análisis de resultados de extracción de ADN								X	X	X	X	X
Revisión bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Realización de PCR a 25 muestras									X	X	X	X
AÑO 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Continuación con extracción de ADN (25 muestras)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análisis de resultados de extracción de ADN	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Realización de PCR a 25 muestras	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Genotipificación (RFLP)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Convalidación de los resultados preliminares				X	X	X	X	X	X			
Comunicación parcial de los resultados										X		
AÑO 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Continuación con convalidación de los resultados preliminares		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Análisis de resultados de extracción de ADN		X	X	X	X							
Genotipificación por SBT		X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Análisis de resultados									X	X	X	X
Comunicación final de los resultados												X

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

La facultad de Ciencias Veterinarias cuenta con un laboratorio de Genética Molecular. El mismo dispone de un Termociclador para amplificación de ADN, equipamiento para realizar electroforesis y análisis de los geles.

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

La secuenciación Directa (SBT) se tercerizará. Podrá ser en el Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET- CONICET) de la FCV-UNLP, o en el servicio que presta la Rural Argentina, sede BS AS, de acuerdo a conveniencia.

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRÉSTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

El uso de bienes inexistentes en la Facultad de Ciencias Veterinarias de UNLPam, se tercerizarán; lo cual está justificado debido a que se trata de un equipamiento de alta complejidad y alto costo, cuya adquisición excede los límites de este proyecto. Es habitual que estos equipamientos mayores sean compartidos por varias instituciones a modo de *facility*.

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN:

Por el momento no hay otras fuentes de financiación.

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual) *

Equipamiento e infraestructura	0,00
Bienes de insumo	170000
Viajes	18000
Otros (asistencia a congresos)	30000
TOTAL	228000 \$

Gastos por año: Cotización del día 30/11/2022

Año 1: 80.000 \$ (Kit de extracción ADN (50 muestras) \$30.600; Enzima Taq Polimerasa: 25.000\$; microtubo de PCR 0,2 ul, 10 963\$, dNTPs 4x25 unidades 12.650\$.

Año2: 110.000 \$ (Enzimas de restricción:Hae III 25000\$, RsaI 20300\$; BstYI 27000\$). ;microtubo 2ml 5020 \$; Acrilamida x500g \$ 60380.

Año3: 38.000 \$ Secuenciación de 20 muestras, gastos de envío.

* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.

8.1. BIBLIOGRAFÍA

- Aida Y, Murakami H, Takahashi M, Takeshima S. (2013). Mecanismos de patogenia inducidos por el virus de la leucemia bovina como modelo para el virus de la leucemia de células T humanas. *Front. Microbiol.* 4:328. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00328> Amorena B, Stone W. (1978). Serologically defined (SD) locus in cattle. *Science* 201: 159–160. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.663645>
- Alvarez Rubianes N. (2004). Leucosis Enzoótica Bovina: estudio seroepidemiológico en rebaños de cría de la provincia de La Pampa. *Ciencia Veterinaria.* 6:22-33. <https://ojs24.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1939>
- Baltian LR, Ripoli MV, Giovambattista, G. (2014). Determinación de los motivos aminoacídicos presentes en los sitios de unión a los antígenos de los alelos del gen BoLA-DRB3 en una población Holstein de La Pampa y su asociación con mastitis. *Ciencia Veterinaria.* 16: 9-23. <https://repo.unlpam.edu.ar/handle/unlpam/4397>
- Baltian LR, Follmer AV, Peratta DL, Schmidt EE, Severini RA, Delbonis S, Borrego C, Alvarez Rubianez N, Ripoli MV, Giovambattista G. (2016). Polimorfismos del exón 2 del gen BoLA- DRB3 asociados con resistencia/ susceptibilidad a leucosis en ganado Holstein de La Pampa. *Ciencia Veterinaria.* 18: 9-28. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/105572>
- Bartlett PC, Sordillo LM, Byram TM, Norby B., Grooms DL, Swenson CL, Zalucha J, Erskine RJ. (2014). Opciones para el control del virus de la leucemia bovina en ganado lechero. *J Am Vet Med Assoc.* 244:914-922. <https://doi.org/10.2460/javma.244.8.914>
- Benítez OJ, Norby B., Bartlett PC, Maeroff JE, Grooms, DL. (2020). Impacto de la infección por el virus de la leucemia bovina en la longevidad de las vacas de carne. *Medicina veterinaria preventiva,* 181 , 105055. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105055>
- Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC, Stern LJ, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC. (1993). Estructura tridimensional del antígeno de histocompatibilidad clase II humano HLA-DR1. *Nature,* 364 (6432), 33-39. <https://www.nature.com/articles/364033a0>
- Díaz S, Ripoli MV, Peral García P, Giovambattista G. Marcadores genéticos para resistencia y susceptibilidad a enfermedades infecciosas en animales domésticos. En Giovambattista G, Peral Garcia P. *Genética de Animales Domésticos.* 1° Edición. Buenos Aires, Argentina. Ed. InterMédica, 2010; p157-178.

- Djilali, S., Parodi, A. L., Levy, D. & Cockerell, G. L. (1987). Development of Leukemia and Lymphosarcoma Induced by Bovine Leukemia Virus in Sheep: A Hematopathological Study. *Leukemia*, 1(11), 777-781.
- Emanuelsson U, Scherling K, Pettersson H. (1992). Relationships between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in Swedish dairy herds. *Prev Vet Med*. 12 (1-2), 121-131. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(92\)90075-Q](https://doi.org/10.1016/0167-5877(92)90075-Q)
- Frie MC y Coussens, PM. (2015). Virus de la leucemia bovina: una gran amenaza silenciosa para las respuestas inmunitarias adecuadas en el ganado. *Inmunología veterinaria e inmunopatología*, 163 (3-4), 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.11.014>
- Gillet N, Florins A, Boxus M, Burteau C, Nigro A, Vandermeers, F, y Willems, L. (2007). Mecanismos de leucemogénesis inducida por el virus de la leucemia bovina: perspectivas de nuevas terapias antirretrovirales en humanos. *Retrovirología*, 4 (1), 1-32. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-18>
- Gillespie BE, Jayarao BM, Dowlen HH y Oliver SP. (1999). Analysis and frequency of Bovine Lymphocyte Antigen DRB3.2 alleles in Jersey cows. *J Dairy Sci*. 1999; 82: 9,2049–2053. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75443-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75443-3)
- Immuno Polymorphism Database (IPD)-MHC.(2022). Base de datos. Versión 3.9.0.1 (2022-07) compilación 209. <https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/group/BoLA/> en <https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/>.
- Juliarena MA, Poli M, Sala L, Ceriani C, Gutierrez S, Dolcini G, Rodriguez EM, Mariño B, Rodriguez-Dubra C, Esteban EN. (2008). Association of BLV infection profiles with alleles of the BoLA-DRB3.2 gene. *Anim Genet*. 39:432-438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01750.x>
- Kohara J, Takeuchi M, Hirano Y, Sakurai Y, Takahashi T. (2018). Vector control efficacy of fly nets on preventing bovine leukemia virus transmission. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 80 (10), 1524–1527. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0199>
- Lo CW, Borjigin L, Saito S, Fukunaga K, Saitou E, Okazaki K, Mizutani T, Wada S, Takeshima Sn, Aida Y. (2020). El polimorfismo BoLA-DRB3 está asociado con la susceptibilidad diferencial al linfoma inducido por el virus de la leucemia bovina y la carga proviral. *Viruses*. 12 (3): 352. <https://doi.org/10.3390/v12030352>
- Burbano M, Toro R, Montoya F, Ariza F, Tobón JI, Gallego J, Martínez R. (2005). Caracterización del locus BoLA-DRB3 en ganado criollo colombiano y asociación con resistencia a enfermedades. *Archivos de zootecnia*, 54(206), 349-356. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1429338>
- Martínez ML, Machado MA, Nascimento CS, Silva MVGB, Teodoro RL, Furlong J, Prata MCA, Campos AL, Guimarães MFM, Azevedo ALS, Pires MFA, Verneque RS. (2006). Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. *Genet Mol Res*. 5 (3): 513-524. <http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2006/vol3-5/pdf/gmr0211.pdf>
- Marawan MA, Alouffi A, El Tokhy S, Badawy S, Shirani I, Dawood A, Guo, A, Almutairi MM, Alshammari FA, Selim A. (2021). Virus de la Leucemia Bovina: Circunstancia Epidemiológica Actual y Prospectiva Futura. *Virus*. 13 (11), 2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>
- Meas, S., Usui, T., Ohashi, K., Sugimoto, C., & Onuma, M. (2002). Vertical Transmission of Bovine Leukemia Virus and Bovine Immunodeficiency Virus in Dairy Cattle Herds. *Vet Microbiol*, 84, 275-282. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00458-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00458-8).
- Miretti MM, Ferro JA, Lara LA, Contel EE. (2001). Restriction fragment length polymorphism (RFLP) in exon 2 of the BoLA gene in South American Cattle. *Bioch Genet*. 39: 311-324. <https://doi.org/10.1023/A:1012204829894>
- Nakada, S., Fujimoto, Y., Kohara, J., Adachi, Y. y Makita, K. (2022). Estimación de la pérdida económica por reducción del peso de la canal de vacas lecheras japonesas debido a la infección por el virus de la leucemia bovina. *Medicina Veterinaria Preventiva*, 198, 105528. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105528>
- Nakatsuchi A, Watanuki S, Borjigin L, Sato H, Bai L, Matsuura R, Kuroda M, Murakami H, Sato R, Asaji S, Ando A, Matsumoto Y, Takeshima S, Aida Y. (2022). BoLA-DRB3 Polymorphism Controls Proviral Load and Infectivity of Bovine Leukemia Virus (BLV) in Milk. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(2), 210. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020210>

- Nekouei, O., VanLeeuwen, J., Stryhn, H., Kelton, D. y Keefe, G. (2016). Efectos a lo largo de la vida de la infección por el virus de la leucemia bovina sobre la longevidad y la producción de leche de las vacas lecheras. *Medicina Veterinaria Preventiva*, 133, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.09.011>
- Notsu K, El Daous H, Mitoma S, Norimine J, Sekiguchi S. (2021). Un sistema de pruebas combinado para identificar rápidamente ganado portador del haplotipo controlador de élite BoLA-DRB3* 009:02 contra la infección por el virus de la leucemia bovina. *HLA*, 99 (1), 12-24. <https://doi.org/10.1111/tan.1450>
- Panei CJ, Larsen AE, Fuentealba NA, Metz GE, Echeverría MG, Galosi CM, y Valera, AR. (2019). Estudio de moscas de los cuernos como vectores del virus de la leucemia bovina. *Open Veterinary Journal*. 9 (1), 33-37. <http://dx.doi.org/10.4314/ovj.v9i1>.
- Porras Ramírez A, Rico Mendoza FA, Del Real Navarro MJ. (2022). Leucosis bovina enzoótica como posible factor de riesgo en el desarrollo de cáncer de mama en humanos: revisión sistemática. <https://repositorio.unbosque.edu.co/handle/20.500.12495/8673>
- Spooner RL, Leveziel H, Grosclaude F, Oliver RA, Vaiman, M. (1978). Evidence for a possible major histocompatibility complex (BLA) in cattle. *J. Immunogenet.* 5 (5): 325-346. <https://doi.org/10.1111/j.1744-313X.1978.tb00662.x>
- Takeshima SN, Aida Y. (2006). Structure function and disease susceptibility of the bovine major histocompatibility complex. *Journal Animal Science*, 77(2): 138-50. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2006.00332.x>
- Takeshima SN, Matsumoto Y, y Aida Y. (2009). Short communication: Establishment of a new polymerase chain reaction-sequence-based typing method for genotyping cattle major histocompatibility complex class II DRB3. *Journal of dairy science*, 92(6), 2965–2970. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1999>
- Ting JPY y Trowsdale J. (2002). Control genético de la expresión de MHC clase II. *Cell*, 109 (2):21-33. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00696-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00696-7)
- Trono K. (2022). Vacuna para el control y erradicación de la Leucosis Bovina. Instituto de Virología CICVyA. CNIA. INTA Castelar. <https://www.argentina.gob.ar/inta/tecnologias/vacuna-para-el-control-y-erradicacion-de-la-leucosis-bovina>.
- Van Eijk MJT, Stewart-Haynes JA, Lewin, H. A. (1992). Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Animal genetics*, 23(6), 483-496. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1992.tb00168.x>
- Xu A, Van Eijk MJ, Park C, Lewin HA. (1993). Polymorphism in BoLA-DRB3 exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus. *The journal of immunology*, 151(12), 6977-6985 <https://www.jimmunol.org/content/151/12/6977.short>
- Yoshida T, Mukoyama H, Furuta H, Kondo Y, Takeshima SN, Aida Y, Kosugiyama M, Tomogane H. (2009). Association of the amino acid motifs of BoLA-DRB3 alleles with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows. *Anim Sci.*; 80(5): 510-519. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2009.00664.x>