



Revista MVZ Córdoba

ISSN: 0122-0268

editormvzcordoba@gmail.com

Universidad de Córdoba

Colombia

González T., Marco; Ríos R., Rodrigo; Mattar V., Salim

Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad infecciosa en bovinos de Montería, Colombia

Revista MVZ Córdoba, vol. 12, núm. 2, julio-diciembre, 2007, pp. 1028-1035

Universidad de Córdoba

Montería, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69312208>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

PREVALENCIA DE BACTERIAS ASOCIADAS A LA INFERTILIDAD INFECCIOSA EN BOVINOS DE MONTERÍA, COLOMBIA

PREVALENCE OF BACTERIA ASSOCIATED WITH INFECTIOUS INFERTILITY IN BOVINES OF MONTERIA, COLOMBIA

Marco González T*, M.Sc, Rodrigo Ríos R, Bacteriólogo, Salim Mattar V, Ph.D

Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. A.A. 354, Montería, Colombia. *Correspondencia: mgonzalez@sinu.unicordoba.edu.co

Recibido: Diciembre 5 de 2006; Aceptado: Septiembre 4 de 2007

RESUMEN

Objetivo. Establecer la prevalencia de algunos gérmenes asociados con infertilidad infecciosa de bovinos del municipio de Montería. **Materiales y métodos.** Se recolectaron 384 muestras sanguíneas e igual número de hisopados cervicales de hembras que cumplieron con alguno de los siguientes criterios de inclusión: más de tres servicios sin concepción, vaginitis, cervicitis, metritis, endometritis, útero con contenido, momificación fetal, natimortos, reabsorciones embrionarias, antecedentes de abortos y/o hembras positivas a brucelosis. Las muestras cervicales se sembraron en agar Mc conkey, agar sangre, agar brucella y agar campylobacter. A las colonias sospechosas se le realizaron pruebas bioquímicas y la confirmación se llevó a cabo con pruebas serológicas. Para el serodiagnóstico de *Brucella*, los sueros fueron analizados por Rosa de Bengala y los positivos fueron confirmados con ELISA indirecta. **Resultados.** De las 384 muestras procesadas, hubo crecimiento en 281 (73,2%), las bacterias prevalentes fueron *Escherichia coli*, Bacilos Gram Negativos Oxidantes, *Klepsiella* spp y *Pseudomonas* spp, que correspondieron a 194 (69.1%) aislamientos y cinco muestras equivalentes al 1.8% resultaron positivas para *Campylobacter* spp. Las pruebas serológicas para *Brucella* arrojaron como resultado 22 muestras positivas por ELISA (6.3%). **Conclusiones.** Los resultados de este trabajo describen de forma preliminar la posible asociación bacteriana en la infertilidad infecciosa en hembras vacunas, demostrando la presencia de una gran variedad de microorganismos.

Palabras clave: Infertilidad, seroprevalencia, brucelosis, bovinos, *E. coli*, *Campylobacter*.

ABSTRACT

Objective. To establish prevalence of some germs associated with bovine infectious infertility in Monteria city. **Materials and methods.** 384 sera samples and same

number of cervical swabs of females were collected that fulfilled some of the following criteria inclusion: more than three services without conception, virginities, cervicitis, metritis, endometritis, uterus with content, fetal mummification, stillborns, embryonic re absorptions, antecedents of abortions and/or positive females to brucellosis. Cervical samples were cultivated in culture medium Mc Conkey agar, blood agar, *Brucella* agar and *Campylobacter* agar. The suspected colonies biochemical tests were made and the confirmation was made with serologic tests. To serodiagnosis of *Brucella* sera, were analyzed by Rose Bengal and the positive ones were confirmed with indirect ELISA. **Results.** Of the 384 processed samples, there was growth in 281 (73,2%), the prevalent bacteria were *Escherichia coli*, *Bacillus* Gram Negative Oxidants, *Klebsiella* spp and *Pseudomonas* spp that yield to 194 (69,1%) five were positive for *Campylobacter* spp., isolates (1,8%) Serologic tests for *Brucella* gave as result 22 positive samples for ELISA (6,3%). **Conclusions.** The results of this work gave preliminary information on the bovine female infectious infertility demonstrating the presence of a great variety of microorganisms.

Key words: Infertility, seroprevalence, brucellosis, bovines, *E. coli*, *Campylobacter*.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas en la producción de ganado bovino es la presencia de problemas reproductivos como reabsorciones embrionarias, abortos (tempranos o tardíos), metritis, nacimiento de crías muertas o débiles y muertes perinatales, entre otras, lo que en última instancia afecta la fertilidad del hato (1). Estos trastornos reproductivos tienen múltiples etiologías; como el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), la diarrea viral bovina (BVD), el herpes bovino 1 (VHB-1), leptospirosis, brucellosis, campylobacteriosis genital bovina así como algunos protozoarios y hongos (1). Este tipo de trastornos reproductivos en las explotaciones ganaderas repercute considerablemente en grandes pérdidas económicas ya que afectan la eficiencia productiva y reproductiva de los hatos, producen altos costos de mantenimiento de las vacas improductivas, retrasos en el mejoramiento genético, altos costos por concepto de medicamentos y disminución en la producción de carne y leche, entre otros factores de la producción animal. De otro lado hay que tener presente las implicaciones de carácter zoonótico que

tienen algunas de estas enfermedades como la leptospirosis y brucellosis que representan un riesgo para la salud pública (1).

Entre los problemas reproductivos más comunes en bovinos se encuentran las infecciones uterinas que por lo general son de etiología bacteriana y se favorecen cuando concurren diferentes factores predisponentes relacionados con la higiene del parto, ya que durante el parto y puerperio el tracto genital se expone al medio (2,3). El mecanismo fisiológico y anatómico de cierre del canal genital resultan temporalmente insuficientes y las bacterias que normalmente habitan la región perianal y vulvar, pueden ascender y causar infecciones (4). Asimismo, intervenciones como la inseminación artificial, el coito y los exámenes obstétricos, pueden incrementar el riesgo de introducción de bacterias en el útero. Otros factores predisponentes son el estrés, la alta producción, enfermedades metabólicas y carenciales (5).

Por otra parte, la brucellosis tiene gran impacto en la producción de ganado bovino y es considerada como una de las zoonosis de mayor importancia y distribución a nivel mundial y en especial en los países en

desarrollo (6,7). En América Latina, la brucelosis ocasiona pérdidas económicas estimadas en 600 millones de dólares anuales; no sólo por las fallas reproductivas, sino también, por constituir una barrera para el comercio internacional de semovientes (8).

En Colombia, se desconoce la carga real de estas enfermedades infecciosas, debido posiblemente a deficiencias en el diagnóstico. Por esta razón es importante generar información referente a estas afecciones ya que los reportes de problemas reproductivos se están incrementando año tras año. En ese sentido, el departamento de Córdoba que se constituye en uno de los principales productores de ganado bovino en Colombia, con mas de 2'400.000 cabezas de ganado bovino, basa su economía en esta industria por lo que se hace necesario establecer un estudio preliminar que investigue las enfermedades infecciosas que afectan al ganado bovino de esta región de Colombia.

El objetivo de este estudio fue establecer la prevalencia de algunos gérmenes asociados con la infertilidad infecciosa de bovinos del municipio de Montería.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. Se desarrolló un estudio de tipo descriptivo, prospectivo de corte transversal.

Sitio de estudio. El estudio fue realizado en fincas pertenecientes al municipio de Montería, capital del departamento de Córdoba que posee una población de aproximadamente 348.168 habitantes, situada en el valle del río Sinú, en la costa caribe Colombiana, con una temperatura promedio anual de 30° C y una humedad relativa del 90%.

Animales. Se analizaron 384 hembras bovinas de las cuales 175 (45,5%) fueron

novillas y 209 (54,5%) vacas. Se recolectaron 384 muestras sanguíneas e igual número de hisopados cervicales de estas hembras que cumplieron con alguno de los siguientes criterios de inclusión: más de tres servicios sin concepción, vaginitis, cervicitis, metritis, endometritis, útero con contenido, momificación fetal, natimortos, reabsorciones embrionarias, antecedentes de abortos (tempranos o tardíos) y/o hembras positivas a brucelosis. Se consideraron reabsorciones aquellas hembras que fueron diagnosticadas como gestantes con un tiempo menor de 45 días y presentaron calor posteriormente. Para el caso de abortos tempranos, se incluyeron las hembras que fueron diagnosticadas gestantes con un tiempo mayor de 45 días y posteriormente presentaron calor sin evidencias de fetos abortados; para los casos de abortos tardíos, se consideró la evidencia del feto abortado. Estas situaciones se pudieron constatar para cada caso a través de las evaluaciones reproductivas rutinarias que se adelantaron en cada finca, así como en las tarjetas reproductivas respectivas y software ganaderos de las diferentes fincas.

Calculo del tamaño de la muestra. El cálculo del tamaño de la muestra se realizó con un intervalo de confianza del 99.99% con un error máximo permisible del 5% y una frecuencia esperada de bovinos infértils del 2,0%. Se estableció sobre una población total 500.000 hembras bovinas en el municipio de Montería (Federación Ganadera de Córdoba), y se calculó que 350 animales eran suficientes para inferir la infertilidad infecciosa bovina en el municipio de Montería. (EPI-INFO, 2000, versión 6.0 CDC, Atlanta, GA, USA.)

Recolección de muestras. El animal fue introducido en una manga para restringir sus movimientos. El ano, vulva, región perineal y cola se lavaron bien con agua limpia, jabón y un cepillo de cerdas suaves. Luego se aplicó una solución desinfectante suave de alcohol yodado, secando el excedente con

papel absorbente. Una vez desinfectado se introdujo el especulo de Polansky hasta el fondo de la vagina, previa lubricación con una solución estéril de carboximetil celulosa. Se abrieron las lengüetas y se localizó el cérvix, el cual fue inspeccionado y evaluado clínicamente y se anotó en la hoja de registro individual los respectivos hallazgos. Posteriormente, se introdujo un escobillón con medio de cultivo de transporte incorporado (Culture SwabPlus, Becton Dickinson Microbiology Systems Cockeysville, USA) hasta el fondo del cérvix, realizando movimientos rotatorios. Para alcanzar el cervix, cada escobillón se acopló a un catéter plástico utilizado para lavados uterinos. Se cerró el porta-escobillón y se mantuvo en refrigeración hasta su procesamiento. Los animales nerviosos y difíciles para la toma de muestras, se insensibilizaron (ano, periné, vulva y vagina) mediante la aplicación de anestesia epidural posterior baja, paralizando el nervio cocígeo y sacro posterior. La aguja (calibre 18 de 1.5 pulgadas de largo) se introdujo en el primer espacio intercocígeo y se utilizó como anestésico lidocaína al 2% en dosis de 5 a 8 ml.

Grupo control bovino. Paralelo a este trabajo se realizó un estudio, en el cual se determinó la flora normal presente en novillas vírgenes (no expuestas a toro). Se analizaron 128 novillas con el fin de establecer la importancia de los gérmenes cervicales aislados en vacas y novillas expuestas a toros.

Recolección de sueros. Se realizó desinfección previa de la línea media ventral de la cola, entre la tercera y séptima vértebra cocígea, aproximadamente a 10 centímetros del ano. Se extrajeron 10 ml de sangre de la vena cocígea en tubos tipo vacutainer® sin anticoagulante, el suero se obtuvo por métodos estándares.

Cultivo. Todas las muestras fueron analizadas en el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de

Córdoba. Las muestras recolectadas de cérvix, fueron sembradas en los medios de cultivo agar Mc conkey, agar sangre, agar brucella y agar campylobacter, bajo condiciones previamente estandarizadas para este tipo de gérmenes. A las colonias sospechosas se les realizaron pruebas bioquímicas y la confirmación se realizó mediante pruebas serológicas.

Serología. Los sueros fueron analizados por medio de las pruebas para *Brucella* Rosa de Bengala (Vircell, S. L. Ref. RB001, Granada - España) y confirmadas con ELISA indirecta (*Brucella abortus* IgG, Cypress Diagnostics, Ref. VB047, Langdorp - Bélgica).

RESULTADOS

En la tabla 1 se resumen las patologías que presentaron las 384 hembras analizadas. Se observa que 240 (62.5%) fueron consideradas repetidoras, es decir presentaron tres o más servicios, sin haber quedado gestantes, seguidas con 99 (25.8%) que presentaron abortos y 15 (3.9%) hembras con vaginitis, condiciones que sumadas representaron más del 92% de las condiciones patológicas en las hembras vacunas analizadas.

El aspecto macroscópico de los cuellos uterinos de las 384 hembras analizadas mostraron que 271 (70.6%) hembras tuvieron cuellos normales a 63 (16.4%) se les observó con el cérvix abierto en distintos grados, influenciado por diferentes estados fisiológicos y patológicos del animal al momento de realizar el examen. En resumen, los cuellos normales se observaron en el 87% de los casos y solo el 13 % de las hembras presentó alguna alteración.

Con relación a las 384 muestras cervicales hubo crecimiento en 281 (73.2%). Entre los aislamientos encontrados los prevalentes fueron *Escherichia coli* (19,6%), Bacilos Gram Negativos Oxidantes (17.4%), *Klebsiella* spp (16,4%) y

Tabla 1. Patologías presentes al momento de la toma de muestra

| PATOLOGÍA | No. | % |
|--------------------------------------|------------|------------|
| 1. Repetidora | 240 | 62,5 |
| 2. Aborto | 99 | 25,8 |
| 3. Vaginitis | 15 | 3,9 |
| 4. Seropositiva para <i>Brucella</i> | 12 | 3,1 |
| 5. Reabsorción Embriónaria | 6 | 1,5 |
| 6. Metritis | 4 | 1 |
| 7. Momificación Fetal | 4 | 1 |
| 8. Nacimiento de cría muerta | 1 | 0,3 |
| 9. Cervicitis | 1 | 0,3 |
| 10. Endometritis | 1 | 0,3 |
| 11. Útero con contenido | 1 | 0,3 |
| Total | 384 | 100 |

Pseudomonas spp (15,6%) los cuales correspondieron a 194 (69.1%) aislamientos y cinco muestras equivalentes al 1.8% resultaron positivas para *Campylobacter* spp. En las novillas

vírgenes no expuestas a toro se observó que en 25 (23,1%) no hubo aislamiento, las dos bacterias prevalentes fueron *Klebsiella* spp y *E. coli* con un 32.4% y 22.2% respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Principales bacterias aisladas de secreciones cervicales de hembras vacunas con antecedentes de infertilidad y de novillas cebú vírgenes no expuestas a toro.

| GERMEN AISLADO | Animales problema | Novillas vírgenes |
|--|----------------------|----------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 55 (19,6%) | 24 (22,2%) |
| BGN O+ (<i>Acinetobacter</i> spp, <i>Burkholderia</i> spp) | 49 (17,4%) | 15 (13,9%) |
| <i>Klebsiella</i> spp | 46 (16,4%) | 35 (32,4%) |
| <i>Pseudomonas</i> spp | 44 (15,6%) | 4 (3,7%) |
| Cocos Gram Positivos (<i>Enterobacter</i> spp, <i>S. aureus</i>) | 30 (10,7%) | 5 (4,7%) |
| Sin aislamiento | 11 (3,9%) | 25 (23,1%) |
| BGN O- | 9 (3,2%) | 0 |
| <i>Campylobacter</i> spp | 5 (1,8%) | 0 |
| Otros | 32 (11,4%) | 0 |
| TOTAL | 281 (100%) | 108 (100%) |

BGN O+: Bacilos Gram Negativos Oxidantes; BGN O-: Bacilos Gram Negativos no Oxidantes

Con respecto a las pruebas serológicas, 29 presentaron resultados positivos a brucelosis correspondiente a un 8.3%. Las muestras positivas fueron sometidas a la prueba confirmatoria de ELISA indirecta la cual arrojó 22 muestras positivas, con lo que se pudo establecer una tasa de ataque del 6.3%.

DISCUSIÓN

En Colombia y en particular en el departamento de Córdoba no existen estudios que determinen la prevalencia de gérmenes que tienen importancia como gérmenes asociados a las afecciones reproductivas en bovinos. Debido al impacto

que causan *Brucella* spp, *Campylobacter* spp y *E. coli* en la producción de ganado, se realizó este estudio en el cual se determinó la prevalencia de dichos gérmenes.

En el presente estudio se determinó la flora normal del cérvix de hembras vírgenes y dichos resultados se tomaron como referencia para establecer diferencias en la proporción de la frecuencia de aislamiento de dichos gérmenes en el cérvix de los animales problema del presente estudio. De acuerdo con esta diferencia se logró determinar cuáles bacterias se encontraban como flora normal (*E. coli* y *Klebsiella* spp) y cuales estaban relacionadas con la producción de infección (*Pseudomonas* spp, *Burkhordelia* spp y bacilos Gram negativos Oxidantes).

Al comparar los gérmenes aislados en la flora cervical de novillas vírgenes con los aislados en hembras con antecedentes de infertilidad (Tabla 2), se pudo observar que en las novillas vírgenes el 54.6% de los aislamientos correspondieron a enterobacterias (*E. coli* y *Klebsiella* spp) y en los animales problema fue de 37%, mientras que la prevalencia de Bacilos Gram Negativos Oxidantes (*Acinetobacter* spp, *Burkhordelia* spp), incluyendo *Pseudomonas* spp fue de 33.8% y 17.6% en animales problema y novillas vírgenes respectivamente. La prevalencia de cocos Gram Positivos en los animales problema fue de 10.7% y en las novillas vírgenes solo fue de 4.7%. Si bien estas bacterias son las más comúnmente encontradas como flora normal, se observaron diferencias significativas en cuanto a la proporción y además durante el período puerperal se presenta un amplio espectro de contaminantes ambientales tales como, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *E.coli*, Bacilos Gram Negativos Oxidantes y otras especies (4) y en los animales problema la frecuencia de aparición de este tipo de bacterias fue mucho mayor.

Por otra parte, es importante resaltar que

el 80% de los animales de donde se aislaron estos gérmenes presentaron repetición de servicios, 10% abortos y 2.5% reabsorciones. La importancia de aislar estos gérmenes en los animales en estudio radica en la capacidad que tienen para producir afecciones en el tracto reproductivo tales como la endometritis que pueden ser originados por un mal manejo por parte del personal encargado de los animales (4,9). Esto se sustenta con el hallazgo de bacterias como *Burkhordelia* spp y especialmente *Pseudomonas* spp que puede ser una de las causas de la ocurrencia de metritis séptica y que en muchos casos está asociada a la retención de membranas fetales.

De los 281 aislamientos obtenidos 49 (17.4%) correspondieron a *E. coli*, que fue la de mayor prevalencia; resultados que coinciden con los estudios de Rocha et al (10) quienes encontraron una prevalencia de 27.7% en vacas en el final de la gestación o en puerperio. A pesar de encontrar a *E. coli* como habitante normal del cérvix de bovinos, este puede convertirse en un germe oportunista altamente patógeno y de gran importancia en el desarrollo de infertilidad y otras afecciones en el ganado bovino (11). Esta cualidad que posee *E. coli* podría explicar la presencia de estos microorganismos en el cérvix, los cuales no solo constituyen la flora normal encontrada a este nivel, sino que también se hallan comúnmente en el ambiente y que fueron aislados de animales con diferentes afecciones reproductivas. Es también importante resaltar la alta prevalencia de *Pseudomonas* spp (15.6%).

Otro microorganismo de gran interés por su capacidad de producir infertilidad es *Campylobacter* spp. Este germe es causa importante de pérdidas económicas en países como Estados Unidos, que tienen como factor importante de su economía la producción de ovejas, ya que es el responsable de abortos en cabras, ovejas y ganado bovino. En Colombia aproximadamente el 15% de los hatos en

zonas lecheras pueden considerarse afectados por *Campylobacter* spp (11), lo que se corrobora con este estudio en el cual se presentó una prevalencia del 1.8%, lo que adquiere importancia si se tiene en cuenta que la campylobacteriosis produce pérdidas de 15 al 25 % de las crías durante la preñez (12). El control de *Campylobacter* spp en la región no es tan estricto, ya que la atención se centra sobre microorganismos como *Brucella* spp que posee un poder patógeno más alto que este. Sin embargo, si se tiene en cuenta que la transmisión de *Campylobacter* se da principalmente durante la cópula, sería importante investigar la presencia del microorganismo tanto en hembras como en machos, aunque el uso de medidas de control básicas pueden contribuir al tratamiento y control de la infección (12); además el uso rutinario de la inseminación artificial ayuda a reducir altamente la diseminación de la enfermedad.

De las 384 vacas analizadas 240 (62.5%) fueron repetidoras; es posible que la endometritis subclínica se encuentre entre las causas que pudieron llevar a estas vacas a fracasar en la gestación y repetir celos, siendo difícil este diagnóstico ya que los signos clínicos suelen pasar desapercibidos. Tampoco es fácil detectarla por el examen rectal y el estudio bacteriológico del mucus uterino no refleja el estado del endometrio por lo que hubiera sido necesaria la realización de estudios histopatológicos para confirmar estos hallazgos (4).

Con respecto a la serología para *Brucella* se encontró una prevalencia de (6.3%) la cual es similar a la encontrada en un estudio realizado por la Universidad de Córdoba y Ganacor, donde fueron analizados 7294 bovinos y se encontró una prevalencia de 4.3% (datos no publicados). Sin embargo, estos resultados son elevados si se comparan con los reportados por Quijada et al (14) quienes encontraron una prevalencia de 0,84% en 592 bovinos en Venezuela. Es pertinente resaltar que

toda la población analizada en el presente estudio tuvo antecedentes de infertilidad, por lo que en gran medida puede atribuirse la alta prevalencia. A pesar de que en el municipio de Montería se realizan jornadas periódicas de vacunación contra *Brucella*, y al estricto control realizado por las entidades sanitarias, se sigue presentando la enfermedad, teniendo en cuenta que un alto porcentaje de animales con serologías positivas fueron repetidoras de servicios (62%). Se ubicaría a este criterio como un posible factor predisponente debido a que a estos animales se les somete constantemente a inseminación artificial, lo que potencialmente se convertiría en un vehículo de transmisión de la enfermedad.

La brucellosis es una enfermedad que no tiene cura y por lo tanto, los animales que resulten positivos deben ser sacrificados. Esta normativa oficial causa graves pérdidas en la ganadería, y bajo el criterio de que un animal seropositivo clasifica el hato como infectado (15), adquiera importancia epidemiológica debido a la capacidad de diseminación del microorganismo. Esto obliga a estudiar con detalle cada uno de los factores de riesgo que pueden estar asociados con la presentación y la diseminación de esta afección. Estos antecedentes sugieren realizar evaluación de las estrategias de control actualmente establecidas en el país.

En Colombia las afecciones reproductivas continúan siendo uno de los principales problemas zoosanitarios que aquejan a la ganadería nacional, lo cual no ha sido posible cuantificar ya que no existen datos disponibles sobre la prevalencia real de estas en el ganado bovino. En conclusión, los resultados de este trabajo arrojaron información preliminar sobre la posible asociación bacteriana en infertilidad infecciosa en hembras, demostrando la presencia de una gran variedad de microorganismos.

REFERENCIAS

1. Cantu A, Factores asociados en la epidemiología de los principales problemas reproductivos en bovinos productores de carne en el estado de nuevo león. Publicación científica. México 2003.
2. Hussain AM, Daniel RCW. Studies on some aspects of neutrophyl functions and uterine defenses in cows during the estrous cycle. Reprod Dom Anim 1991; 26:290-296.
3. Valencia J. Alteraciones del aparato genital de la hembra. En: Reporducción de animales domésticos. México DF: ed. Limusa; 1991; p.219-241.
4. Fernández A, Silveira E, López O. Las infecciones uterinas en la hembra bovina. Revista Electrónica de Veterinaria. 2006; 8(10):1-37.
5. Mongiardino ME. Recuperación de la fertilidad en vacas lecheras durante el períodopuerperal. Vet Arg 1989; VI (59): 622-627. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da. ed. p.14-34. Organización Panamericana de la Salud. Washington. 1989.
6. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da ed. p.14-34. Organización Panamericana de la Salud. Washington. 1989.
7. Gómez MJ. La brucelosis bovina, el enemigo de todos. El Cebú 1993; 269: 8-13.
8. FAO/OMS. Comité Mixto de Expertos en Brucelosis. Sexto informe. Serie de Informes Técnicos 740. OMS. Ginebra 1986; p.149.
9. Carter GR, Wise DJ. Essentials of veterinary bacteriology and micology. Blackwell publishing company. Six editition. Iowa USA 2004; p.115-129.
10. Rocha AA, Gambarini ML, Andrade MA, De Oliveira BD, Araujo F. Microbiota Cervico-vaginal durante o final de gestacao e puerperio em vacas Girolando. Ciencia Animal Brasileira 2004; 5:4:215-220.
11. Griffiths IB, Gallego MI, Villamil LC. Factores de infertilidad y pérdidas económicas en ganado de leche en Colombia. Santa fe de Bogotá DE. 1995.
12. *Campylobacter fetus* en bovinos del sudeste de la provincia de buenos aires. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Campo Grande, Brasil, 21 - 25 octubre 1996; abstracts PN9 488: 229.
13. Campero C. Pérdidas ocasionadas por las enfermedades venéreas de los bovinos. Publicación revista IDIA XXI 2: 127-131. 2002.
14. Quijada T, Gómez G, López G, García G, Marchán V, et al. Prevalencia Serológica de Brucelosis en Bovinos de la Parroquia Moroturo, Municipio Urdan eta, Estado Lara. Gaceta de ciencias veterinarias 2004; 10(1).
15. González H, Patiño R. Identificación de los agentes etiológicos infectocontagiosos del aborto e infertilidad del ganado lechero de Nariño y alto Putumayo. Publicación Grupo Pecuario C.I. Obonuco. CORPOICA Pasto. 2000.