
Prevalencia de enfermedades que afectan la reproducción en ganado Bovino Lechero del cantón Loja

Prevalence of diseases that affect reproduction in dairy cattle Canton Loja

Franklin Román-Cárdenas¹
Rómulo Chávez-Valdivieso²

1. Docente, Centro de Biotecnología, Universidad Nacional de Loja, Ciudadela Universitaria Loja, Ecuador

2. Docente Honorario Universidad Nacional de Loja, Ciudadela Universitaria, Loja, Ecuador

*Autor para correspondencia: rchaval.24@gmail.com/franklinroman11@gmail.com

RECIBIDO: 14/04/2016

APROBADO: 16/11/2016

RESUMEN

Se aborda el estudio de las enfermedades más frecuentes que están presentes en las fincas y afectan la reproducción del ganado bovino lechero, en el cantón Loja, Ecuador, muchas de las cuales son zoonóticas, generan serios problemas de salud pública y provocan grandes pérdidas económicas. Para el diagnóstico de brucelosis se utilizó las técnicas de Rosa de Bengala (RB) y seroaglutinación lenta (SAT), para Leptospirosis el Test de Micro aglutinación (MAT), para DVB y IBR se utilizó el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas indirecto (iELISA), y la inmunoabsorción ligado a enzimas competitivo (cELISA) para la neosporosis. Se tomaron 856 muestras de sangre bovina de 158 ganaderías de las parroquias urbanas y rurales del cantón Loja mediante punción de la arteria coccígea media. La prueba de tuberculización simple (SIT) se realizó en campo, en 357 bovi-

ABSTRACT

The study of the most common diseases that are present on farms and affect reproduction of dairy cattle in the canton Loja, Ecuador, many of which are zoonotic, generate serious public health problems and cause economic losses addressed. For the diagnosis of brucellosis techniques Rose Bengal (RB) and slow agglutination (SAT) for Leptospirosis the Micro agglutination test (MAT), DVB and IBR testing by indirect enzyme-linked immunosorbent assay was used (iELISA), and the competitive enzyme linked immunosorbent assay (cELISA) to neosporosis. 856 bovine blood samples from 158 farms in urban and rural parishes of the canton Loja by puncturing the coccygeal artery average taken. Tuberculation simple test (SIT) was conducted in the field, 357 cattle. The samples were taken from cattle older than six months. The highest incidence was found leptospirosis

nos. Las muestras fueron tomadas a bovinos mayores a seis meses de edad. La mayor incidencia se encontró a leptospirosis (74,83%), Neosporosis (22,31%), IBR (20,75%), DVB (8,24%) y TBB (6,16%). En un 7,29 % de los casos se encontró reacción seropositiva de un mismo animal hasta a cuatro diferentes enfermedades. La raza, edad y sexo no se expresaron como factores predisponentes.

Palabras clave: Prevalencia, Leptospirosis, Neosporosis, DVB, IBR, Tuberculosis.

(74.83%), Neosporosis (22.31%), IBR (20.75%), DVB (8.24%) and TBB (6.16%). In 7.29% of cases, seropositive reaction of one animal was found up to four different diseases. Race, age and sex were not expressed as predisposing factors.

Keywords: Prevalence, Leptospirosis, Neosporosis, BVD, IBR, Tuberculosis.

■ INTRODUCCIÓN

La eficiencia productiva y reproductiva de las ganaderías se halla influenciada por un complejo de factores vinculados con el manejo, entre los que se resalta la integridad higiénico sanitaria de los hatos (Chávez R. et., al., 2012) y la presentación de enfermedades microbianas de origen bacteriano, vírico, protozoario y fúngicas, de rápida y fácil difusión como las leptospirosis, brucelosis, neosporosis, tuberculosis, DVB, IBR, muchas de ellas de carácter zoonosico.

El consumo de lácteos no pasteurizados, carne cruda y el contacto con secundinas constituyen los principales vehículos de contaminación de brucelosis bovina en humanos, cuyo agente es la *Brucella* spp., bacteria Gram negativa que tiene la facultad de infectar a una gran variedad de mamíferos, desencadenando en las vacas abortos, mastitis y en los machos orquitis, no obstante es conocido que los bovinos se infectan naturalmente por vía conjuntival, digestiva, respiratoria, genital y por contacto (Silva T., et., al., 2011).

El agente de la leptospirosis es una bacteria Gram negativa, aerobia obligatoria, conocida como *leptospira* spp., con cientos de serovares, endémica en muchos países tropicales y subtropicales, y en los últimos 20 años se ha converti-

do en un verdadero problema de salud pública (Suputtamongkol et al., 2010), debido a la forma de transmisión de la infección que frecuentemente es directa, mediante contacto con orina, fluidos genitales, restos de placenta o leche infectada, además se ha determinado que puede ser transmitida por vía venérea o transplacentaria (Zunino, 2007). De World Animal Health (2004) señala que se desconoce la magnitud de la enfermedad en el Ecuador.

La Tuberculosis Bovina (TBB) es una enfermedad infecciosa crónica, causada por *Mycobacterium bovis*, integrante del complejo *Mycobacterium tuberculosis* MBTC. La TBB afecta principalmente al ganado vacuno, como huésped definitivo y también se ha encontrado en otros animales domésticos y salvajes, así como en los seres humanos como huéspedes accidentales (Acha, et al. 2001), por lo tanto la TBB es una de las enfermedades de notificación obligatoria (OIE, 2011).

La Diarrea Viral Bovina (DVB) es una enfermedad endémica en las ganaderías bovinas, producida por un virus que pertenece al género Pestivirus de la familia Flaviviridae. Naturalmente infecta sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. Los Pestivirus infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres,

la transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto. La mejor práctica de erradicar la enfermedad consiste en la identificación y eliminación de bovinos persistentemente infectados, que son la principal fuente de infección y reservorio del virus (Arsdall D., 2011).

La Rinotraqueitis (IBR) es causada por el Herpesvirus 1 bovino (HVB 1), la infección puede adoptar diversas formas que incluyen: la respiratoria, la conjuntival, la vulvo vaginal, abortos endémicos y la forma septicémica de los neonatos que afecta los mecanismos de defensa, puede causar alta mortalidad en asociación con la DVD por la inmunosupresión que se presenta (Raizman E., et., al., 2011).

Santana et.al., (2010) señala que la Neosporosis ha sido identificada en varios países como la principal causa de aborto bovino, es producida por *Neospora caninum*, cuyo hospedador definitivo es el perro y hospedadores intermediarios los animales domésticos y salvajes como: felinos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, ciervos y equinos (Campero C., 2002). La transmisión se realiza por transmisión vertical y horizontal.

Para el diagnóstico de estos microorganismos se utilizan diversas técnicas directas e indirectas como Histopatología e Inmunohistoquímica (Moore., et al, 2005); PCR (Gottstein et.al., 2002); aislamiento in vitro; Microscopía óptica; Test de Inmunofluorescencia Indirecta iELISA; Test de Micro aglutinación (MAT).

Estudios preliminares realizados por Román F. et.,al.,2013 alertaron sobre la presencia de enfermedades que afectan la reproducción en las ganaderías bovinas del cantón Loja, Ecuador, razón por la que la presente investigación se orienta a la identificación serológica de anticuerpos contra *Brucella* spp., *Leptospira* spp., Diarrea Viral Bovina DVB, Rinotraqueitis Infecciosa IBR (HVB 1), *Neospora caninum* y tuber-

culosis, en las ganaderías bovinas en el cantón Loja, que por el número de animales se consideran pequeñas de 1 a 20, medianas de 21 a 70 y grandes aquellas de más de 70 bovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en las ganaderías bovinas del cantón Loja ubicadas entre los 1478 y 2880 msnm., Para los estudios de brucelosis, leptospirosis, tuberculosis, e IBR se eligieron hembras bovinas en edad reproductiva, mayores de un año sin y con antecedente de abortos y para el diagnóstico de neosporosis y DVB se escogieron animales a partir de los seis meses de edad indistintamente machos y hembras. Las pruebas se realizaron en el laboratorio de Microbiología animal en el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja y pruebas de verificación se realizaron en Centro Internacional de Zoonosis CIZ de la Universidad Central del Ecuador, laboratorio de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito y en el laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación.

Tamaño y transporte de la muestra.- Se tomaron 856 muestras de sangre bovina de 158 ganaderías, mediante punción de la arteria coccígea media, la recolección se realizó en vacutainers sin anticoagulante, previamente identificados, en cantidad de 8 a 10 ml, y se transportó en coolers a menos 4 °C. La prueba de tuberculización se realizó en campo, en 357 bovinos, con tuberculina-bovina Asurequality

Procesamiento de las muestras.- En el laboratorio, del Centro de Biotecnología de la UNL, las muestras se sometieron a centrifugación a 3000 rpm durante cinco minutos, para separar el suero sanguíneo, el cual fue depositado en microtubos de 1,5 ml que se mantuvieron a -20 °C hasta su análisis, para el diagnóstico de brucelosis se utilizó RB, antígeno de IDEXX y POURQUIER SAW brucelosis Ag., RB técnica

de tamizaje que produce aglutinación de anticuerpos IgG. Las reacciones positivas presentan grumos de aglutinaciones que pueden ser grandes o pequeños y las negativas tienen ausencia de éstos.

Se realizó pruebas comprobatorias mediante SAW o SAT que es una prueba de aglutinación estándar que permite determinar inmunoglobulinas específicas de las clases IgM, IgG e IgA. Los resultados se consideran negativos cuando el antígeno forma en el centro de la cúpula un punto compacto, con un borde neto y el sobrenadante es turbio; los positivos forman una fina capa de sedimento repartido uniformemente en el fondo de la cúpula, o cuando existe la formación de una gran zona de sedimentación. Se utilizó diluciones controles del antígeno y se consideró positivo los títulos en dilución igual o mayor a 1:80. El punto de corte para considerar a una animal positivo fue de 30 Unidades Internacionales de Aglutinación. Para la determinación de la presencia de anticuerpos de *Leptospira* spp., se aplicó la prueba de aglutinación microscópica en tubo (MAT), en búsqueda de anticuerpos leptospirales contra veinte y cinco sero variedades de *Leptospira* spp. Como control fue utilizada la biovariedad no patógena *L. patoc.*, del Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación INSPI. Para determinar la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* se utilizó el kit cELISA, de la casa VMRD Veterinary Medical Research and Development. 425 NW Albion Drive Pullman, WA 99163. Para el diagnóstico de DVB, se empleó el kit ELISA BVDV Total Ab de la casa IDEXX, y para la determinación de anticuerpos del virus HVB 1 de IBR se utilizó el Kit ELISA SVANOVIR IBR-Ab de la casa SVANOVA.

RESULTADOS

Reactores positivos en las ganaderías bovinas.

En las ganaderías bovinas del cantón Loja se detectó la presencia de múltiples enfermedades, siendo las más frecuentes las Leptospirosis (74%), las neosporosis (22%) e IBR (20%), no obstante la presencia importante de DVB y TBB, como se evidencia de la tabla 1.

Tabla 1. Positivos a diferentes enfermedades, en ganaderías bovinas del cantón Loja

Enfermedades	Técnica	Reactores Positivos		Total muestras
		Nro.	%	
Brucelosis	RB	1	0,15	676
Brucelosis	SAT	3	0,44	676
Leptospirosis	MAT	449	74,83	600
Tuberculosis *	SIT	22	6,16	357
DVB	ELISAi	71	8,34	856
IBR	ELISAi	83	20,75	400
Neosporosis	ELISAc	145	22,31	650

*Se obtuvo un 7,28% de sospechosos a TBB

Reactores positivos, por parroquias del cantón Loja

Los tres casos de Brucelosis diagnosticados por RB y SAT comprobatorio se encontraron en las parroquias de Santiago, San Lucas y el Valle, uno en cada sector, que representan el 0,15% del total de la muestra (676), tabla 1 y 2

Se encontró una alta tasa de positividad (74,83%) a Leptospirosis en las ganaderías del cantón Loja (tabla 1), con mayor presencia en las ganaderías de las parroquias El Valle, San Sebastián, San Lucas, tabla 2.

Los reactores positivos a la prueba SIT para determinar TBB se concentran en la parroquia el Valle (77%), no obstante consideramos preocupante los resultados obtenidos para el cantón de 6,16% de casos positivos y de 7,28% de sospechosos, tabla 1 y 2.

Se determinó una seropositividad de 8,24% para DVB y de 20,75% para IBR en las ganaderías del cantón Loja, siendo las parroquias de mayor concentración de casos positivos: El Valle,

San Sebastián, Yangana y Sucre para DVB y El Valle, Chuquiribamba, San Sebastián, Santiago y Taquil para IBR, tablas 1 y 2.

De las 650 muestras estudiadas el 22,31%

resultaron positivas a Neosporosis, con mayores concentraciones de seropositividad en las parroquias El Valle, San Sebastián y San Lucas, tabla 2.

Tabla 2. Número de bovinos positivos a las diferentes enfermedades, en ganaderías del cantón Loja

Enfermedades	Parroquias																
	Yangana	Quimara	San Pedro de	Vilcabamba	Chuquiribamba	Taquil	Gualele	El Cisne	Santiago	San Lucas	Jim billa	Malacatos	Chantaco	El Valle	San Sebastián	Sucre	
Brucelosis									1	1				1		3	
Leptospirosis	27	8	1	8	7	33	11	9	28	45	7	17	9	110	108	21	449
Tuberculosis	1			1										17	3		22
DVB	8			5	5		1	2	2	1	6	2	2	13	12	7	66
IBR	17	1		10	25	14	22	2	15	13	7	4	1	36	17	11	195
Neosporosis	8	1		2	2	12		4	9	16	3	3	1	40	37	7	145

Reactores a múltiples enfermedades

A 325 bovinos se les corrieron pruebas para conocer la presencia de diferentes enfermedades en los mismos animales, obteniéndose que el 35,7 % (116) presentan anticuerpos para dos enfermedades, siendo lo más frecuente (24,31%) la presencia asociada de anticuerpos para *Leptospira* spp y *Neospora caninum*. El 12,32% de los animales (40) mostraron anticuerpos para tres diferentes enfermedades; y el 1,24% tienen anticuerpos para cuatro enfermedades diferentes. Solamente un 7,69% de los animales muestreados no presento anticuerpos para las enfermedades en estudio, grafico 2.

Seropositividad de fincas a diferentes enfermedades

La presencia de brucelosis se diagnosticó en una finca, en un solo animal y cuyo suero reacciono con las dos técnicas. El 89% de las fincas estudiadas mostro seropositividad a leptospirosis, el 45,39% a neosporosis. Vale resaltar que el 33% de las fincas mostraron seropositivi-

dad tanto a leptospirosis como a neosporosis. La IBR, la DVB y la TBB están presentes en las ganaderías del cantón Loja, con índices preocupantes (22,93%; 13,92%; y 8,87%, respectivamente), tabla 3.

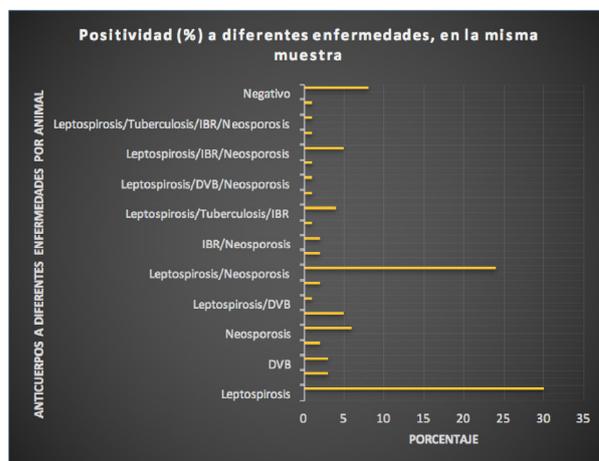


Figura 1. Positivos a diferentes enfermedades, en ganaderías bovinas, en el cantón Loja.

Tabla 3. Seropositividad de fincas a diferentes enfermedades.

Región	Nro. de fincas	Nro. fincas seropositivas	Seropositivas para la enfermedad	Porcentaje de Seropositividad
Cantón Loja	155	1	Brucelosis bovina	0,64
	136	121	Leptospirosis bovina	89,00
	124	11	Tuberculosis bovina	8,87
	141	64	Neosporosis bovina	45,39
	158	22	DVB	13,92
	109	25	IBR	22,93
	136	45	Leptospirosis y neosporosis bovina	33,00

Reactores positivos por razas y edad

En el presente estudio se observó que, en la zona de estudio, la raza y edad de los bovinos no son factores predisponente para la incidencia de DVB, Neosporosis, IBR, Leptospirosis y Tuberculosis, estas enfermedades afectan a todas las razas y a todas las edades de los animales que entran en contacto con dichos microorganismos.

■ DISCUSIÓN

Los estudios epidemiológicos desarrollados por Román F., et., al., en el 2013 determinaron la presencia de diferentes alteraciones reproductivas, como abortos, en las ganaderías bovinas del cantón Loja, sin agente etiológico identificado y en la presente investigación se han encontrado reactivos positivos para diferentes enfermedades que afectan la reproducción bovina, resaltándose la presencia de Leptospirosis (74,83%), Neosporosis (22,31%), IBR (20,75 %), DVB (8,24%) y TBB (6,16%) en los bovinos de la zona de estudio, que genera preocupación por los efectos económicos y de salud pública, más aún que en el Ecuador se desconoce la magnitud de las enfermedades investigadas, salvo los aislados trabajos de titulación de pregrado que reportan algunas universidades.

En el 2008 la asociación Holstein Friesian reporta una prevalencia de Brucelosis del 1,54% para el país y del 1,3 al 2,6 % para la provincia de Loja (AGROCALIDAD, 2009), en el presente es-

tudio se obtuvo el 0,15% en bovinos del cantón Loja, las investigaciones de Cuenca M., (2012) reporta 0,0% de seroprevalencia en los bovinos de la parroquia Huertas del cantón Zaruma, provincia de el Oro, Agurto D., Fernández P., (2013) del 0,021% en la parroquia Ingapirca del cantón Cañar y Balarezo L, et., al., (2014) el 1,5% en la parroquia el Carmelo del cantón Tulcán

La leptospirosis se ha reportado en ganaderías de la zona central de Manabí, Ecuador, con una incidencia del 87,92% (Meza J., 2013) y en las parroquias urbanas de la Hoya de Loja Albarracin C., (2011) encontró un 48,10% de bovinos infectados, mientras que nosotros determinamos que en el 89% de las fincas ganaderas está presente la leptospirosis, con respuesta de seropositividad del 74,83% de los bovinos en explotación.

De TBB se han reportado prevalencias del 5,60% en el cantón Naranjal, provincia del Guayas (Moncada F., 2003) y en sectores de Aloag, Aloasi, Chaupi, Machachi, Tambillo, de la provincia de Pichincha el 6,91% (Proaño F., et al., 2009). El 8,87% de las ganaderías bovinas del cantón Loja tienen TBB, con positividad del 6.16% de los vacunos muestreados y un 7,28% de sospechosos.

La seroprevalencia de DVB encontrada en las ganaderías del cantón Loja (13,92%) y en los bovinos estudiados (8,24%) es muy cercana a la encontrada por Jara D., et., al., (2010) de 16,07% para la provincia de Loja,

La prevalencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina-IBR reportada para la provincia de Loja por Jara D., et., al., (2010) del 14,17% es muy inferior a la registrada para el cantón Loja, en el presente estudio, que es del 20,75% y está presente en el 22,93% de las fincas.

Dubey, J.P. (2003), reporta que la seroprevalencia de neosporosis, en las vacas lecheras, mundialmente, varía entre 12 y 42% y Lozada, E. (2004) registra una seroprevalencia del 42% en ganado lechero de la sierra centro del Ecuador, mientras que nosotros encontramos que el 45,39% de las fincas ganaderas tienen neosporosis, que afecta al 22,31% del ganado vacuno del cantón Loja.

CONCLUSIONES

La seropositividad obtenida mediante el empleo de diferentes técnicas diagnósticas conjuntamente con los signos observados por los propietarios de las ganaderías indican que se están produciendo eventos de enfermedad en el ganado bovino las mismas que están alterando los procesos productivos y reproductivos que determinan pérdidas económicas y en algunos casos riesgos de contaminación a las personas involucradas en todos los procesos

El manejo tradicional sin la utilización de registros, sin cronogramas de vacunación sin medidas de protección, la presencia de roedores, perros y demás ajenos a la ganadería están formando parte como diseminadores de la enfermedad

Por la seroprevalencia muy baja encontrada de brucelosis en la zona se debe hacer una investigación más minuciosa y específica estableciendo correctamente los planes de vacunación que algunos ganaderos han iniciado investigación que es necesaria para el manejo epidemiológico de la enfermedad.

La determinación de anticuerpos conduce a realizar estudios más avanzados para estable-

cer e identificar molecularmente los microorganismos presentes.

LITERATURA CITADA

Agurto Diego Fernández P. (2013) Prevalencia de brucelosis bovina en la parroquia Ingapirca del cantón Cañar. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/415/1/tesis.pdf>.

Albarracín C., (2011). Prevalencia de Leptospirosis en el ganado bovino de la Hoya de Loja. Tesis pregrado Universidad Nacional de Loja.

Ardsall Dan. (2011) Bovine Viral Diarrhea Virus (BVD) Calfology Official sponsor of calf health. Recuperado de: <http://calfology.com/library/wiki/bovine-viral-diarrhea-virus-bvd>.

Balarezo L., Ayala Becerra., Ernesto Armando Tobar Olivo. (2014) Incidencia de Brucelosis bovina, *Brucella abortus*, en los hatos lecheros de la Asociación Rancheros del Norte, Parroquia El Carmelo, Cantón Tulcán, Provincia del Carchi. Recuperado de: <http://181.198.77.140:8080/handle/123456789/35>

Campero Carlos. (2002) Pérdidas provocadas por *Neospora caninum* en bovinos. Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. Recuperado de: URL: http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/sanidad/enf_repro/nc2002.pdf.

Cuenca Mauricio. (2012) Prevalencia de brucelosis bovina en la parroquia Huertas del cantón Zaruma. Recuperado de: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5395/1/TESIS%20%E2%80%9C.pdf>

Chávez-Valdivieso R., Arias J., Sinche Y. (2012). Análisis reproductivo de hatos lecheros y manejo de los potreros de las ganaderías de la hoya de Loja. Revista Estudios Universitarios. Universidad Nacional de Loja, Loja – Ecuador. Pp 52-70

Dubey, J. P., Schares, G., Ortega-Mora, L. M. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Journal of Clinical Microbiology*. 20: 323-367

Gottstein, B., (2002) *Neospora Caninum*: Causa de Aborto en Bovinos. Recuperado de: <http://www.cdvs.com.ar/Images/pdf/Neosporosis.pdf>

Jara Diego, Saa Luis, Fierro Natacha., (2010) Estudio de seroprevalencia de diarrea vírica bovina (DVB) y rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) en la provincia de Loja (Ecuador) por medio de enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) y su distribución epidemiológica geoespacial <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/41>

Lozada Edwin., (2004) Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra centro norte del Ecuador, por prueba inmune enzimática. Universidad Central del Ecuador. Recuperado de: <http://www.google.com>

Macías E., (2003) Prevalencia de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis y Antrax en los bovinos faenados en los camales de El Empalme, Pichincha y Quevedo, desde 2001 a 2003. Tesis. Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria del Ecuador.

Meza J; Moreira D., (2013) Prevalencia de leptospirosis en diez hatos bovinos estabulados de la zona central de Manabí, en el segundo semestre de 2011” Universidad Técnica de Manabí

Moncada F. (2003). Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina en hatos lecheros del cantón Naranjal. Tesis. Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria del Ecuador.

OIE (2013) Enfermedades, infecciones e infestaciones de la Lista de la OIE en vigor en 2013 URL disponible en : <http://www.oie.int/es/sanidad>

Proaño F, Benítez W, Celi M., Ron L., Benítez R., (2009) Epidemiología de la tuberculosis bovina en el Ecuador. Recuperado de: <http://www.edifarm.com.ec/pdf/28-05-2014>

Raizman E, Pogranichniy R, Negron M, Schnur M, Tobar-Lopez D. (2011) Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea virus type 1 and type 2 in non-vaccinated cattle herds in the Pacific Region of Central Costa Rica. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.

Román F., Luna J., Chávez R., (2013) Signos visibles de enfermedades infecciosas reproductivas en el ganado bovino del cantón Loja Universidad Nacional de Loja Revista Centro de Biotecnología, Vol 2. Universidad Nacional de Loja, pp 16-24.

Santana O, Ramos M, Cruz C, Castellano C, Medina L y Quezada D. (2010) *Neospora Caninum*: Detección de ADN en Sangre durante la Primera Gestación de Vaquillas Infeccionadas Naturalmente. Aguascalientes. *Vet. Mex.* Vol 41(2). Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/rvm/vol41-02/RVM041000206.pdf>

Silva T., Costa E., Paixão T., Tsohis R., Santos R., (2011) Laboratory Animal Models for Brucellosis *Research Journal of Biomedicine and Biotechnology* Volume 2011 (2011), Article ID 518323, 10 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/518323>

WHO/FAO/OIE., (2009) Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis. Disponible en: <http://www.health.qld.gov.au/qhcss/documents/lepto/08annual.Pdf>.

WAH World Animal Health., (2004) Sanidad Animal Mundial. Recuperado de: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home.

Zunino E, Pizarro R. (2007). Leptospirosis; *Revista infectología al día*. Santiago de Chile.