

ARTÍCULO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano

The seroprevalence of bovine brucellosis in two locations in Colombia's Caribbean region

Seroprevalência da brucelose bovina em duas regiões do Caribe colombiano

Alfonso Calderón-Rangel^{1*}; Libardo A. Angulo-Maza^{2**}; Vaneza P. Tique-Salleg^{3*}
Virginia C. Rodríguez-Rodríguez^{4*}; Carlos F. Ensuncho-Hoyos⁵

¹ MVZ, MSc

² MVZ, MSc

³ Bacterióloga, MSc

⁴ Bacterióloga, MSc

⁵ MVZ, Especialista en Sanidad Animal

* Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT), Montería, Córdoba.

** Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montería, Córdoba.

Email: alcaran1@yahoo.com

Recibido: junio 03 de 2013

Aceptado: junio 23 de 2015

Resumen

La prevalencia de brucelosis bovina varía considerablemente entre países; en Latinoamérica las tasas que se registran van desde 0,5 a 10%. En Colombia en la especie bovina se estima que la seroprevalencia actual está entre el 2,4 y el 5%. Para estimar la seroprevalencia de la brucelosis bovina en dos regiones del Caribe colombiano, se realizó un estudio epidemiológico descriptivo de corte transversal en áreas rurales de los municipios Pijiño del Carmen (Magdalena) y María La Baja (Bolívar). Se recolectaron 246 muestras de suero de bovinos para el diagnóstico de brucelosis. Se implementó la prueba Rosa de Bengala (RB) y los sueros positivos se confirmaron con la prueba de Elisa competitiva. En María La Baja se estableció una seroprevalencia del 11% con RB y del 6% C-Elisa y en Pijiño del Carmen del 1,36 con RB y del 0,6% con C-Elisa. Los estudios de seroprevalencia en regiones donde la densidad de la población de animales susceptibles son altas, permiten conocer la epidemiología e implementar medidas de prevención y control.

Palabras clave: Anticuerpos, bovinos, *Brucella abortus*, diagnóstico, serología.

Abstract

The prevalence of bovine brucellosis varies considerably from country to country; the rates recorded in Latin-America range from 0.5 to 10%. The current seroprevalence rate for brucellosis in cattle in Colombia is estimated as being between 2.4% and 5%. A descriptive epidemiological cross-sectional study was carried out in rural areas near the towns of Pijiño del Carmen (Magdalena department) and María la Baja (Bolívar department) for estimating bovine brucellosis seroprevalence

in two locations in Colombia's Caribbean region. This involved collecting 246 samples of bovine sera for diagnosing brucellosis by the Rose Bengal test (RBT), positive sera being confirmed by C-ELISA test. The RBT gave 11% seroprevalence in Pijiño del Carmen and C-Elisa 6% whilst RBT gave 1.36% and C-Elisa 0.68% in María la Baja. Seroprevalence studies in regions where the susceptible animals' population density is high should provide an insight into the pertinent epidemiology and lead to prevention and control measures being brought into force.

Key words: Antibody, cattle, *Brucella abortus*, diagnosis, serology.

Resumo

A Prevalência da brucelose varia consideravelmente entre os países da América Latina, com taxas entre 0,5 a 10%. Na Colômbia, a soroprevalência bovina estima-se entre 2,4 e 5%. Para estimar a soroprevalência da brucelose em duas regiões do Caribe colombiano, foi realizado um estudo epidemiológico descritivo transversal, em áreas rurais dos municípios de Pijiño do Carmen (Magdalena) e Maria La Baja (Bolívar). Foram recoletadas 246 amostras de soro de bovino para o diagnóstico de brucelose. Foi utilizado o teste RB e soros positivos foram confirmados com o teste de Elisa competitiva. Na Maria La Baja foi determinada soroprevalência de 11% com RB e 6% C-Elisa. Em Pijiño do Carmen com RB foi encontrada 1,36% com RB e 0,68%, com C-Elisa. Os estudos de soroprevalência em regiões onde a densidade de animais sensíveis é alta, permite conhecer a epidemiologia e programar medidas de prevenção e controle.

Palavras chave: Anticorpos, bovinos, *Brucella abortus*, diagnóstico, sorologia.

Introducción

La brucelosis es una zoonosis, que afecta a bovinos, ovinos, cabras, cerdos y al hombre. Nueve especies de *Brucella* se han reportado hasta el momento, cuatro especies son zoonóticas: *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. melitensis* y *B. suis*, que por lo general están relacionadas con ganado, perros, cabras ovejitas y cerdos respectivamente. Otras especies tales como *B. microti*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. pinipedialis*, y *B. inopinata* son huéspedes específicos (Rodríguez *et al.*, 2015).

Brucella abortus es considerada el agente causal de la brucelosis bovina siendo más frecuente el biovar 1. Se ha documentado que otras especies como *B. suis* (biovar 1 y 3) y *B. melitensis* son capaces de infectar bovinos, aunque la infección no está asociada con la aparición de signos clínicos. La brucelosis bovina se caracteriza por la presentación de abortos durante el último trimestre de gestación, nacimientos de terneros débiles o muertos e infertilidad en vacas y toros. Otros signos de la infección en vacas incluyen la reducción de la producción de leche que se estima hasta en un 25%, disminución en la eficiencia reproductiva, reabsorciones embrionarias, retención de placenta y metritis. (Seleem *et al.*, 2010; Neta *et al.*, 2010). En machos infectados, la lesión más significativa es la orquitis a menudo asociada a vesiculitis seminal y epididimitis. Es importante destacar que la infección en animales depende de la edad, estado reproductivo e inmunológico, resistencia natural, ruta de infección y virulencia de la cepa infectiva (Neta *et al.*, 2010).

En algunos países de latino américa como Ecuador las pérdidas anuales por la brucelosis en el ganado se es-

timan en alrededor de 5,5 millones de dólares debido a abortos, reducción de la producción de leche y la mortalidad (Rodríguez *et al.*, 2015). En la India donde la brucelosis es endémica se han establecido prevalencias entre el 6,5% al 16,4% y pérdidas de 3,4 billones de dólares por la enfermedad en diferentes especies de animales domésticos; los bovinos y los búfalos representan el 95,8% del total de las pérdida generadas (Singh *et al.*, 2015).

La prevalencia de brucelosis bovina varía considerablemente entre países, en Latinoamérica las tasas que se registran van desde 0,5 a 10% (Lucero *et al.*, 2008) con cifras del 0,04% en Uruguay, 10,20% en el norte y el 0,06% en el sur de Brasil, 0,2% en Chile, 3,15% en Paraguay, 2,27% en Bolivia y Argentina 2,10% (Aznar *et al.*, 2014). En Colombia en la especie bovina según algunos estudios, la seroprevalencia oscila entre el 2,4 al 5% (Barrera y Guerrero, 2007; Tique *et al.*, 2009; Osorio *et al.*, 2013).

El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) durante el 2012, realizó análisis serológicos de 1.496.688 bovinos en 72.374 predios de 28 departamentos estableció una positividad en bovinos del 5% (68.187) y del 23% (16.567) en predios o fincas. Los departamentos con mayor proporción de predios afectados fueron: Guaviare, Magdalena, Vichada, Bolívar, Cesar, Sucre, Atlántico, Caquetá, Casanare, Meta, Valle del Cauca, Risaralda, Chocó y Arauca (Osorio *et al.*, 2013).

En algunos países la incidencia de la brucelosis ha disminuido como resultado de las medidas sanitarias aplicadas en bovinos, ovejitas y cabras. La enfermedad persiste en áreas del Mediterráneo, Oriente Medio,

Golfo Pérsico y algunos países de Latinoamérica. La presencia de la infección en animales es un marcador de la aparición de casos en humanos; motivo por el cual la realización de estudios de seroprevalencia en regiones donde la densidad de la población de animales susceptibles es alta, permite el control y la prevención de esta enfermedad (Seleem *et al.*, 2010).

El programa de prevención, control y erradicación de la brucelosis obliga la vacunación de hembras, el diagnóstico y la eliminación de animales positivos o serorreactores. La exclusión de animales seropositivos, acompañado de la vacunación de hembras son las mejores prácticas de prevención en el control y la erradicación de la brucelosis. En Colombia, el diagnóstico oficial de *B. abortus* en las diferentes especies de interés zootécnico (bovina, bufalina, caprina, canina, equina, ovina y porcina), involucra las técnicas de Rosa de Bengala (RB), fijación de complemento (FC), ELISA competitiva (C-ELISA) y fluorescencia polarizada (FP); esta última técnica fue incluida recientemente dentro del esquema de control de la brucelosis (ICA, 2013).

No existe una sola prueba serológica apropiada en todas las situaciones epidemiológicas; todas tienen limitaciones; la RB se caracteriza por una alta sensibilidad y la ELISA competitiva tiene mayor especificidad pero la sensibilidad más baja que la ELISA-I. Las reacciones positivas deben ser re examinados utilizando una confirmación adecuada y/o estrategia complementaria. (OIE, 2012).

La utilización de vacunas juega un papel central en los programas de control y erradicación de la brucelosis bovina y han sido utilizados con éxito en todo el mundo durante décadas. La cepa 19 y RB51 son las vacunas de cepa *B. abortus* aprobados más comúnmente utilizado para proteger al ganado contra la infección y el aborto. Sin embargo, debido ha que hay algunos inconvenientes mostrados por estas vacunas muchos esfuerzos se están realizando para el desarrollo de nuevas vacunas, más seguras y más eficaces, que también podría usarse en otras especies susceptibles (Dorneles *et al.*, 2015).

La brucelosis es reconocida a nivel mundial como un riesgo para la salud pública por las implicaciones de carácter zoonótico y las restricciones en el comercio internacional de animales y productos de origen animal. En muchos casos no es diagnosticada y puede causar cuantiosas pérdidas en los sistemas ganaderos. El objetivo del presente estudio fue estimar la seroprevalencia de brucelosis bovina en dos regiones del Caribe colombiano.

Materiales y métodos

Tipo de estudio. Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo de corte transversal en dos áreas rurales de los departamentos de Magdalena y Bolívar.

Ubicación del estudio

Pijiño del Carmen, está localizado en la depresión Momposina al sur del departamento del Magdalena, a 325 Km Santa Marta, su capital. Su ubicación es 9°20'0" N, 74°27'0" W. Cuenta con un área de 739 km². La temperatura promedio es de 30°C y una humedad relativa del 40%, su topografía es semiondulara con presencia de zonas bajas.

El municipio de María La Baja en el departamento de Bolívar, esta sobre las faldas de los Montes de María a una distancia de 72 Km de Cartagena, su capital; Su ubicación es 9°59' 0" N, 75°18'0" W con una altitud de 14 msnm, una humedad relativa del 80% y una temperatura promedio anual de 28°C, encontrándose precipitaciones anuales de 1828 mm en promedio.

Cálculo tamaño de muestra

El censo de la población bovina de hembras adultas en el municipio de Pijiño del Carmen, Magdalena fue de 39.934 (Asogans, 2010) y en María La Baja, Bolívar de 35.310 (POT, 2009); bovinos con una seroprevalencia del 5% (Osorio *et al.*, 2013), una confiabilidad del 95% y un error del 0,05. Se estableció un muestreo de 146 bovinos en María La Baja y de 100 bovinos en Pijiño del Carmen.

Toma de muestras

Previo desinfección con alcohol al 70%, se realizó punción en la vena coccígea utilizando un sistema al vacío en tubo sin anticoagulante, donde se colectaron 5 ml de sangre por cada animal; las muestras fueron rotuladas con la respectiva identificación del animal luego almacenadas y refrigeradas a 4°C para su transporte hasta el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT) de la Universidad de Córdoba, donde se obtuvieron los sueros por centrifugación a 3.500 rpm durante 5 minutos.

Pruebas serológicas

Rosa de Bengala

En el IIBT, se implementó el diagnóstico de brucelosis mediante la prueba RB se utilizó un antígeno consti-

tuido por células completas inactivadas de *B. abortus* (cepa S99 Weybridge), acidificado a pH 3,6 ±0.05, coloreado con Rosa de Bengala, y con concentración celular aproximada del 7.5-8.5% inactivada por el calor y fenol al 0,5% (Instituto Pourquier, Montpellier, Francia). Este antígeno está calibrado para dar reacción positiva a la dilución 1:45 y reacción negativa a la dilución 1:55 del suero estándar internacional de la oficina internacional de sanidad animal. El montaje de las muestras fue realizado adicionando en una lámina de vidrio 30 µl de suero y 30 µl del reactivo (RB), luego se mezcló por 4 minutos en agitador orbital a 120 rpm y se realizó la visualización de la presencia o ausencia de aglutinación. La presentación de aglutinación fina con borde y fondo transparente o formación homogénea de grumos definidos se interpretó y registró como resultado positivo y como negativo cuando no se produjo aglutinación, coloración rosada uniforme sin grumos de ninguna naturaleza.

ELISA competitiva

Los sueros positivos fueron confirmados mediante la prueba de ELISA-C, efectuada por el Ica (autoridad sanitaria) en el CEISA Bogotá; laboratorio autorizado para la confirmación de casos positivos de esta enfermedad en Colombia.

Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos en formato Excel, donde se consignó información básica de los bovinos evalua-

dos y se realizó estadística descriptiva; los análisis se realizaron mediante el software SAS.

Aspectos éticos

El Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT) de la Universidad de Córdoba, clasificó este estudio de bajo riesgo. Las muestras fueron tomadas y se tuvo en cuenta los procedimientos de toma de muestra, manejo, conservación, normas éticas, técnicas, científicas y administrativas para la investigación en animales según lo mencionado en la ley 84 (Congreso Nacional de Colombia, 1989).

Resultados

Seroprevalencia en bovinos de Pijiño del Carmen (Magdalena). Se estableció una seroprevalencia del 11%(11/100) por medio de la técnica de la RB y del 6% (6/100) por C-Elisa. Con respecto a la edad en los animales confirmados por ELISA competitiva se identificó que la seropositividad a brucelosis se presentó en el 14.3% (2/14) de los animales entre 37-48 meses y 12.5% (2/16) de los animales entre 61-72 meses. La distribución proporcional según la edad fue la siguiente: 2% para animales entre los 37-48 meses y 2% para los animales entre los 61-72 meses (Tabla 1).

Seroprevalencia en bovinos de María La Baja (Bolívar). La seroprevalencia fue del 1.36%(2/146) empleando la RB y del 0.68% (1/146) por C-Elisa. Con respecto a la edad se identificó que la seropositividad

Tabla 1. Distribución de la seropositividad por edad y sexo de la población bovina evaluada en dos municipios del Caribe colombiano.

Categoría	María La Baja (Bolívar)			Pijiño del Carmen (Magdalena)		
	Total	RB	C-Elisa	Total	RB	C-Elisa
	n	n	n	n	n	n
Edad (meses)						
24-36	43	0	0	43	4	0
37-48	26	0	0	14	3	2
49-60	35	0	0	14	1	1
61-72	26	0	0	16	2	2
>84	16	2	1	13	1	1
Sexo						
Hembras	141	2	1	100	11	6
Machos	5	0	0	0	0	0
Total	146	2	1	100	11	6

a brucelosis se presentó en el 6.3% (1/16) de los animales mayores de 84 meses. La distribución proporcional según la edad fue la siguiente: 0.68% para los animales mayores de 84 meses (Tabla 1).

Discusión

En el presente estudio las seroprevalencias a brucelosis en la especie bovina establecidas del 0,68 y 6% respectivamente para los municipios de María La Baja y Pijiño del Carmen, dos localidades del Caribe colombiano, donde las seroprevalencias son bajas comparadas con estudios realizados en otras regiones del país como Córdoba en el Caribe colombiano donde las cifras alcanzan al 8% (González *et al.*, 2007, Tique *et al.*, 2009).

La seroprevalencia de la brucelosis en Colombia en las diferentes especies susceptible son: 10.9% bufalina, 5% bovina, 4,4% caprina, 4,13% ovina, 3,79% equina, 1,64% porcina y del 3,4% en humanos; cifras que demuestran la importancia de la vigilancia en las diferentes especies susceptibles, para el control, prevención y conocimiento del comportamiento epidemiológico de la enfermedad (Osorio *et al.*, 2013).

Colombia ha reportado aislamientos de *B. abortus* (n=91) de los serotipos 1, 2 y 4 y *B. suis* serotipo 1 y 1A en humanos, bovinos, cerdos, cabras y ovejas, estos aislamientos confirman la presencia de diferentes especies de *Brucella spp* en varios reservorios animales y en diferente regiones del país (Lucero *et al.*, 2008). Aunque en el presente estudio sólo fueron realizadas pruebas serológicas en bovinos, es importante aclarar que aunque la detección en el laboratorio de *Brucella* en gran medida se basa en el aislamiento bacteriano y caracterización fenotípica, métodos considerados laboriosos y que han sido asociados con un riesgo de infección adquirida en el laboratorio. Los métodos basados en la detección indirecta de anticuerpos poseen limitaciones para el diagnóstico correcto del microorganismo para superar todos estos problema los métodos moleculares permiten la rápida detección y confirmación, la presencia del patógeno, animales infectados, estudiar grandes poblaciones y evaluación de la importancia de la brucelosis de origen alimentario (Qasem *et al.*, 2015, Rodríguez *et al.* 2015).

González *et al.*, (2007) en zonas rurales de Montería realizó un estudio donde determinó los principales problemas reproductivos y determinó para *B. abortus* una seroprevalencia del 8,3% y del 6,3% con RB y con Elisa indirecta (Elisa-I) respectivamente. Tique *et al.*, (2009), en una región del Caribe colombiano reportó una seroprevalencia del 3,71% (1113/29969) y en

predios del 12,7% cifras bajas con relación al presente estudio donde utilizando Rosa de Bengala las cifras alcanzan el 11% en los animales muestreados.

En el presente estudio se identificaron 13 casos positivos por RB de los cuales 7 fueron positivos por C-Elisa, que se consideraron como infectados por *B. abortus*. Aunque la edad y el sexo no fueron independientes ($p>0.05$) de la seropositividad; los animales positivos confirmados correspondieron a hembras entre 49 meses y mayores de 84 meses de edad (Tabla 1). La presencia de anticuerpos detectados por la RB se pueden deber a reacciones cruzadas o la vacunación con cepa 19 fuera de la edad reglamentada por razones de manejo o disponibilidad del biológico. La confirmación por C-Elisa de todos estos casos, facilitó la eliminación con lo cual se contribuyó al saneamiento de predios.

En el Caribe colombiano se han reportado casos de brucelosis en búfalos de río (*Bubalus bubalis*) donde se estableció seroprevalencias del 12% por RB y del 3% por C-Elisa (Calderón *et al.*, 2010); en caprinos y ovinos la seroprevalencia a *B. abortus* fue del 1,2% por RB y a *B. melitensis* del 0% por Elisa-I (Tique *et al.*, 2010) especies que comparten con los bovinos en fincas.

Por medio de la técnica de Ring Test en muestras de leche cruda comercializada se halló una prevalencia de brucelosis del 15% (37/247) en 11 rutas en Popayán (Cauca) y donde las mayores prevalencias se presentaron en fincas donde hay convivencia con especies menores, donde los abortos, retención de placenta, inadecuada disposición de placentas y contaminación por secreciones o descargas vaginales (Vergara *et al.*, 2008). Este valor absoluto es superior a lo reportado para las dos regiones del Caribe colombiano en muestras de suero, utilizando otras técnicas y que aunque no se evaluaron en el actual estudio es posible que estas variables estén asociadas a la diseminación del agente infeccioso por el desconocimiento del estado sanitario de los hatos.

Seroprevalencias más altas por RB han sido reportadas en el estado Zulia del 9,1% donde se determinó como un factor de riesgo el manejo de becerras procedentes de vacas positivas (D'pool *et al.*, 2004), en Tijuana baja California (México) se estableció una seroprevalencia del 7,7% y donde se determinaron como factores de riesgo: la no remoción de desechos de abortos y partos, presencia de perros y la no eliminación de serorreacores (Moreno *et al.*, 2002). Seroprevalencias más bajas por RB han sido determinadas en los estados venezolanos de Guárico del 2,9%(n=206) y Lara (Tamasaukas *et al.*, 2002; Quijada *et al.*, 2004) y en Puerto Inca (Perú) no se hallaron serorreacores por

RB resultado atribuido a la reducida movilidad de animales entre predios (Meza *et al.*, 2010).

En Argentina en las provincias de la Pampa y San Luis en 8965 vacas la seroprevalencia fue del 1,8% (157/8965) y en predios del 19,7% (89/451) utilizando las técnicas de BPAT como tamizaje y 2 mercaptanol y SAT para confirmar los casos; estas cifras son inferiores a las del presente estudio donde además no se conocen los datos densidad de animales, índice vaca/ becerro que se ha establecido tienen relación con la presencia de la enfermedad (Aznar *et al.*, 2015).

En Cantabria, España la brucelosis bovina según estudio realizado por Cowie *et al.*, 2014 alcanza el 21% y ha establecido que factores como el compartir pastos en verano, la compra de ganado dentro de áreas y la presencia de perros en las fincas están relacionados significativamente con la positividad de los animales. La identificación de factores de riesgo comunes para múltiples enfermedades permitirá la integración de los esfuerzos de gestión, aumentando potencialmente la eficiencia y la eficacia de la gestión intervenciones en predios afectados.

Para entender la epidemiología de la brucelosis es necesario determinar la especie de *Brucella*, biovar circulante y como los anticuerpos no son específicos el aislamiento bacteriano es esencial, las pruebas serológicas utilizadas en el presente estudio permitieron conocer el estado sanitario de los hatos e implementar medida de control y prevención en los predios afectados (Ducrottoy *et al.*, 2014).

Referencias

- Asociación de Ganaderos de Santa Ana, Magdalena (Asogans). 2010. Informe ciclo vacunación anti-aftosa.
- Aznar MN, Samartino LE, Humblet MF, Saegerman C. Bovine brucellosis in Argentina and bordering countries: update *Transbound Emerg Dis*. 2014;61(2):121-33. doi: 10.1111/tbed.12018.
- Aznar MN, Linares FJ, Cosentino B, Sago A, La Sala L, Leon E, *et al.* Prevalence and spatial distribution of bovine brucellosis in San Luis and La Pampa, Argentina. *BMC Vet Res*. 2015;11:209. doi: 10.1186/s12917-015-0535-1
- Barrera S, Guerrero B. Resultados serológicos en ganadería cebuínas. *Revista El Cebú*. 2007; 354: 32-37.
- Calderón A, Tique V, Ensuncho CF, Rodríguez V. Seroprevalence of *Brucella abortus* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the municipality of Lórica (Cordoba). *Rev. U.D.C.A Act & Div. Cient*. 2010;13(2):125-132.
- Congreso Nacional de Colombia. 1989. Ley 84. Por la cual se adopta el Estatuto Nacional de Protección de los Animales y se crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia. República de Colombia, gobierno nacional. Diario Oficial 39120 de diciembre 27 de 1989. Bogotá. Disponible desde Internet en: http://www.unal.edu.co/viceministerio/normatividad/etica_ley_84_1989.pdf (con acceso 20/08/13).
- Cowie CE, Marreos N, Gortázar C, Jaroso R, White PCL, Balseiro A. Shared risk factors for multiple livestock diseases: A case study of bovine tuberculosis and brucellosis. *Res Vet Sci*. 2014;12;97(3):491-497.
- Dorneles EM, Sriranganathan N, Lage AP. Recent advances in *Brucella abortus* vaccines. *Vet Res*. 2015;46(1):76. doi: 10.1186/s13567-015-0199-7.
- D'Pool G, Rivera S, Torres T, Pérez M, García A, Castejón O, Rojas N. Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el Municipio de la Cañada de Urdaneta, Estado de Zulia, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ* 2004;14(2):168-176.
- Ducrottoy MJ, Bertu WJ, Ocholi RA, Gusi AM, Brysinckx W, Welburn S, *et al.* Brucellosis as an emerging threat in developing economies: lessons from Nigeria. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(7):e3008. doi: 10.1371/journal.pntd.0003008.
- González M, Ríos R, Máttar S. Prevalence of bacteria associated with infectious infertility in bovines of Montería, Colombia. *Rev. MVZ Córdoba*. 2007;12(2):1028-1035.
- ICA, Instituto Colombiano Agropecuario 2013. Resolución No.001332 del 12 de marzo de 2013. Por medio de la cual se actualiza las medidas sanitarias para la prevención y la erradicación de la brucelosis bovina en la especie bovina y bufalina en Colombia.
- Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, Jacob NR. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect*. 2008;136(4):496-503.
- Meza CA, Morales CS, Ara GM, Manchego AS, Calle ES, Angulo JC. Seroprevalence of bovine brucellosis in Puerto Inca district, Huánuco. *Rev Inv Vet Perú* 2010;(2):223-226.
- Moreno RJF, Rentería ETB, Searcy BR, Montañón GMF. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina en hatos lecheros de Tijuana, Baja California. *Tec Pecu Méx*. 2002;40(3):243-249
- Neta A, Mol J, Xavier M, Paixão T, Lage A, Santos R. Pathogenesis of bovine brucellosis. *The Veterinary Journal*. 2010;184:146-155.
- OIE, 2012. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
- Osorio F, Patiño A, Linares C, Romero L, Ortiz J, Reina J, González M. Instituto Colombiano Agropecuario. Subgerencia de Protección Animal. Dirección Técnica de Vigilancia Epidemiológica 2013. Colombia, Sanidad Animal. 2012. Disponible desde Internet en: <http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-Veterinaria/Bol/Epi/Boletines-Anuales.aspx> (con acceso en: 21-07-2015).
- Plan de ordenamiento territorial 2001-2009. Diagnostico Territorial. Municipio de María La Baja. Disponible desde Internet en: <http://www.marialabaja-bolivar.gov.co/apc-aa-files/3039303230623533332656665396633/POT.pdf> (con acceso en 11-12-2012).

- Qasem JA, AlMomin S, Al-Mouqati SA, Kumar V. Characterization and evaluation of an arbitrary primed Polymerase Chain Reaction (PCR) product for the specific detection of *Brucella* species. *Saudi J Biol Sci.* 2015;22(2):220-226.
- Quijada T, Gómez G, López G, García G, Marchán V, Carucíl P. 2004. Prevalencia serológica de brucelosis en bovinos de la parroquia Moroturo, municipio Urdaneta, estado Lara *Gaceta de Ciencias Veterinaria*, 10 (1). Disponible desde Internet en: http://www.avpa.ula.ve/congresos/...bovinos/03_bovinos_salud_pag56.pdf (con acceso en 15-08-2012).
- Rodríguez-Hidalgo RI, Contreras-Zamora J, Benitez Ortiz W, Guerrero-Viracocha K, Salcan-Guaman H, Minda E, *et al.*, Circulating Strains of *Brucella abortus* in Cattle in Santo Domingo De Los Tsachilas Province - Ecuador. *Front Public Health* 2015;10:3:45.
- Seleem M, Boyle S, Sriranganathan N. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Vet Microbiol.* 2010;140:392-398.
- Singh BB, Dhand NK, Gill JP. Economic losses occurring due to brucellosis in Indian livestock populations. *Prev Vet Med.* 2015;119(3-4):211-215. doi: 10.1016/j.prevetmed.2015.03.013
- Tamasaukas R, Purroy R, Rodríguez H, Ruiz I, Roa N, Labrador C. Seroprevalence of bovine trypanosomosis and brucellosis in integrated farms with maize, of high lands of Roscio and Ortiz Counties, Guárico state, Venezuela. *Revista Científica.* 2002;12(2):630-634.
- Tique V, González M, Máttar S. Seroprevalence of *Brucella abortus* in cattle of the Cordoba department. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 2009;12(2):51-59.
- Tique V, Daza E, Álvarez J, Máttar S. Seroprevalencia de *Brucella abortus* y ocurrencia de *Brucella melitensis* en caprinos y en ovinos de Cesar y Sucre. *Rev. U.D.C.A. Act. & Div Cient.* 2010;13(2):133-139.
- Vergara D, Torres M, González F, Lasso N, Ortega C. Prevalence of brucellosis in cattle raw milk spread in the city of Popayan Cauca. September-December 2006. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial.* 2008; 6(2):76-85.