

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL**



Factores de riesgo para la seropositividad a brucelosis en novillas  
Holstein en la Comarca Lagunera

Por:

**MARIANA VALERIA CENSO FERNÁNDEZ**

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2021

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL**



Factores de riesgo para la seropositividad a brucelosis en novillas  
Holstein en la Comarca Lagunera

Por:

**MARIANA VALERIA CENSO FERNÁNDEZ**

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Factores de riesgo para la seropositividad a brucelosis en novillas  
Holstein en la Comarca Lagunera

POR:

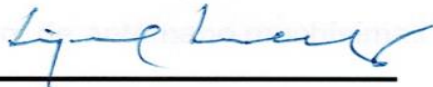
**MARIANA VALERIA CENSO FERNÁNDEZ**

TESIS

Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito  
para obtener el título de:


**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

Aprobada por:



Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque

Director de tesis



Dr. José Eduardo García Martínez

Asesor



Dr. Jesús Alberto Mellado Bosque

Asesor



Dr. José Duñez Alanís

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre 2021

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS** por darme el gran regalo de la vida, por darme una segunda oportunidad de vida para rectificar el camino y valorar todo lo que existe a mi alrededor; gracias Dios por nunca dejarme sola y siempre poner a personas de buen corazón en mi camino para apoyarme y motivarme cuando las circunstancias me hacían sentir que no podía más. Simplemente gracias por nunca abandonarme y cuidar siempre mis pasos.

**A mi gloriosa ALMA MATER LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por recibirme con las puertas abiertas y brindarme la oportunidad de poder realizar una carrera profesional ofreciéndonos infinidad de oportunidades y apoyos para superarnos.

**Al Dr. Miguel Mellado** por todo su apoyo en la elaboración de este trabajo, muchas gracias por la confianza y sobre todo por permitirme tener el gran honor y privilegio de trabajar con usted en este proyecto, de antemano muchísimas gracias por su asesoría y sus consejos.

**Al Dr. Eduardo García** por sus enseñanzas y conocimientos dentro del aula, así como la asesoría y participación en este trabajo de titulación. Muchas gracias.

**Al Dr. Jesús Alberto Mellado** por el apoyo y colaboración de este trabajo de titulación.

**A MC. Laura Maricela Lara** por ser una gran maestra y amiga, gracias por tus consejos, convivencias y por siempre estar ahí para apoyar y escuchar mis mortificaciones.

**Al MC. Enrique Esquivel** por interceder por mí en el momento más difícil de mi vida aun sin conocerme demasiado, gracias por su confianza y por su intervención para lograr ese apoyo que tanto me ha ayudado. Muchas gracias.

† **Al Ing. Genaro Rodríguez de la Colina** por ofrecerme su apoyo para concluir mis estudios aun sin conocerme, gracias porque antes de su apoyo todo era más difícil y el camino era incierto, gracias por haber tenido un gran corazón para apoyar a jóvenes como yo que tienen hambre de triunfar, muchas, muchas gracias y hasta el cielo le digo que no se me olvida la promesa que le hice aquel día, la promesa de devolverle a la vida el apoyo que usted me ofreció ayudando a jóvenes a concluir sus estudios si la vida me lo permitía.

**Al Ing. Marcelo, Genaro y Andrés Rodríguez Dávila** gracias a todos ustedes por seguir con el legado de su papá y no dejar de apoyarme cuando fácilmente lo pudieron haber hecho, gracias por tener un gran corazón y seguir apoyándome a concluir este sueño, que más que una carrera significa una promesa que hice en vida a mi madre. Definitivamente estoy en deuda con todos ustedes.

**A mis amigos** Joel, Adolfo, Joansi, Chucho, Fernanda, Deisy a todos ustedes gracias por todos los momentos que compartimos, gracias por esas desveladas de estudio, esas desveladas de fiesta, por estar cuando había problemas, gracias por ser una familia que durante 5 años aprendimos a más que ser amigos, ser HERMANOS BUITRES (POR SIEMPRE) gracias por todo y aunque a cada uno nos toca seguir el

camino, les deseo mucho éxito y obviamente los voy a extrañar canijos... y por supuesto Estrellita, gracias por ser la compañera de locura y también por estar ahí en todo momento, gracias por ser como una hermana para mí, gracias por tu sopa que me mandó al hospital jajaja!.

Y a todas aquellas personas que en algún momento de mi pasado estuvieron siempre apoyándome y motivándome a seguir adelante para culminar este sueño, a ustedes muchas gracias por formar parte de mi pasado pero ser una parte fundamental para forjar mi futuro **(Ing. Salvador A.C y M.C. Marcos L.R).**

**A mi padre Valentín Censo Acevedo** gracias por el apoyo que alguna vez me brindaste, me hubiese gustado conocer lo que era tener un padre sincero, así como también haber contado con todo tu apoyo incondicional para culminar este sueño, el camino fue difícil pero gracias a Dios encontré personas a mi paso que me ayudaron más que mi propia familia, gracias por tu apoyo y aunque quizá no lo sea me hubiera gustado compartir este triunfo contigo y ser tu orgullo.

## DEDICATORIA

**† A MI MAMÁ ANA MARÍA RUÍZ MARTÍNEZ** a usted le dedico este gran logro, me hubiera gustado que estuviera aquí para compartir este logro por el cual luchamos tantos años. Gracias por haber sido madre y padre a la vez, por darme todo lo que estuvo a su alcance, por siempre motivarme a salir adelante y siempre estar ahí en mis triunfos y fracasos, gracias por inculcarme tantos valores y por inculcarme que estudiar era una de las cosas más importantes para salir adelante, sin duda alguna no tengo como agradecerle todo lo que hizo por mí, pero sé que aunque no esté presente físicamente usted está orgullosa de que su “nena” por fin cumplió la meta. Gracia por dedicar su vida a cuidarme, protegerme y forjarme para el futuro, gracias por nunca abandonarme y por siempre buscar la manera de sacarme adelante; la vida ya no me permitió devolverle lo mucho que me dio pero siempre estará presente en mi vida y sus enseñanzas siempre hablaran del gran trabajo de crianza y amor que usted tuvo conmigo... gracias porque tuve a la mejor mamá del mundo... hasta el cielo le dedico este triunfo y le digo que la amo muchísimo y la extraño aún más.

**A mi sobrino Eliú León Fernández.** Gracias porque aunque quizá no lo supiste la petición de mi mamá en vida de hacerme cargo de ti me dio las fuerzas necesarias para no dejarme caer por su pérdida, fue demasiado difícil cumplir esta promesa pero creo que por algo pasan las cosas, y aunque las cosas no salieron como mamá quería también te dedico este logro y aunque ya sé que te molesta el ejemplo que yo te doy quiero decirte que en esta vida todos los sueños se pueden cumplir con trabajo, perseverancia y fe, que Dios nunca nos deja solos y que aunque no supiste verlo solo queremos lo mejor para ti y también te queremos.

**A Pedro Durán Belman.** Le doy gracias a Dios por ponerte en mi camino, gracias por cuidarme y estar ahí cuando me operaron y solo tú me seguiste hasta el final, gracias por apoyarme a ver la vida de manera diferente y controlar todo el caos que traía en mi vida.

**A mi hermano Víctor Geovani, mi sobrino Matys y a mí cuñada Dayana.** A todos ustedes también les dedico este logro, gracias a ustedes por formar parte de mi vida y apoyarme cuando he necesitado, gracias por ser tan burlones, por ser comprensivos y gracias por darme un gran sobrino (Matys).

A Matys simplemente gracias por ser el niño de mis ojos, y alegrarme con sus ocurrencias y ternura cuando me siento mal, este logro te lo dedico y espero sigas el buen camino y recuerdes que con mucho esfuerzo, perseverancia, dedicación y fe todo lo que te propongas puedes lograrlo, te quiero mucho y sabes que siempre estará tu tía nena para apoyarte a salir adelante.

**A mi niñ@ que viene en camino,** no hay palabras para explicar la alegría que sentí al saber que te estabas formando dentro de mí, nunca había llorado de felicidad y tu lograste eso en mí, le doy gracias a Dios por darme la oportunidad de ser tu mami y juntos el día de hoy culminar este sueño por el que luche tantos años contra viento y marea, sé que serás la fuerza e inspiración que me faltaba para seguir adelante, y aunque aún no te conozco te amo y siempre me esforzare por ser la mejor mamá y guiarte por el camino del bien, sé que serás un gran hij@ porque tendrás una gran mamá. Te amo y quiero que sepas que la alegría más grande que he tenido es saber que voy a ser mamá.



## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>ii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PALABRAS CLAVES</b> .....	<b>iv</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>3</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
2.1.- Taxonomía.....	4
2.2.- Componentes antigénicos de <i>Brucella spp.</i> .....	5
2.3.- Patogenia de <i>Brucella</i> e inmunidad del hospedador.....	6
2.4.- Factores de riesgo para seropositividad a brucelosis.....	7
2.5.- Pérdidas económicas por brucelosis.....	9
2.6.- Vacunación y control.....	10
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>12</b>
3.1.- Área de estudio.....	12
3.2.- Características del hato lechero.....	12
3.3.- Base de datos.....	12
3.4.- Análisis estadístico.....	13
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>14</b>
<b>V. CONCLUSIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>20</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro 1.** Índices de riesgo (odds ratio) y 95% intervalo de confianza (IC) para los efectos de la edad al primer parto, el peso al destete y la época del parto sobre la seropositividad a brucelosis en vacas Holstein primíparas en un ambiente caluroso (n = 1000)..... 16

**Cuadro 2.** Efecto de la seropositividad a brucelosis y número de vacunas contra esta enfermedad (RB51) sobre la ocurrencia de aborto en vacas Holstein primíparas de alto rendimiento vacas Holstein en ambiente caluroso. .... 18

## RESUMEN

El presente estudio se realizó con la finalidad de determinar los factores causantes de la seropositividad a brucelosis, así como el efecto que causa esta seropositividad y el número de vacunas sobre la ocurrencia de abortos en vacas Holstein primíparas en un ambiente caluroso en la Comarca Lagunera. Se utilizaron los registros de 1,000 vacas lecheras, estudiando la estación del año al nacimiento, peso al destete, edad al parto, positividad a brucelosis, presencia de aborto y número de vacunas RB51 aplicadas; con los cuales se llevaron a cabo regresiones logísticas múltiples (proceso multivariado) para detectar las posibles variables que influyen sobre la seropositividad a brucelosis. Una vez detectadas las variables significativas, se analizaron una por una (proceso univariado), incluyéndose en el modelo estadístico el número de lactancia y mes de parto, para ajustar los resultados por estas variables. El porcentaje de becerras seropositivas a brucelosis fue de 31.9%. Las vacas con <660 días de edad al primer parto fueron 1.5 veces más propensas a presentar seropositividad a brucelosis que las vacas cuyo primer parto ocurrió después de los 660 días. Las novillas con un peso menor a 75 kg al destete fueron 50% más propensas para resultar seropositivas a brucelosis que sus compañeras más pesadas al destete. Las vacas nacidas en verano presentaron una mayor seroprevalencia a brucelosis con un 36.7%, a diferencia de las vacas nacidas en otras estaciones, las cuales presentan un 29.6% de seroprevalencia a esta enfermedad. El porcentaje de abortos en las vacas seropositivas a brucelosis fue más del doble ( $P < 0.01$ ) que las vacas seronegativas para esta enfermedad. La mitad de las vacas que no recibieron vacuna contra brucelosis abortaron, mientras que alrededor de un tercio de las vacas que recibieron una (antes de la fecundación) o dos (temprano en la gestación) vacunas presentaron aborto. Se concluyó que la vacunación (RB51) repetida al parto contra *B. abortus* en novillas Holstein no se asoció con una reducción de la tasa de abortos; además se presentó un gran porcentaje de abortos en vacas seronegativas a brucelosis, lo que sugiere que no sólo *B. abortus* sino otros agentes patógenos causantes de pérdidas fetales existen en el hato estudiado. Finalmente, las vacas que

llegan al primer parto muy jóvenes o son destetadas con un peso subóptimo son más susceptibles a resultar seropositivas a brucelosis.

**PALABRAS CLAVES.** Brucelosis, aborto, seropositividad, vacuna RB51, primíparas.

## I. INTRODUCCIÓN

En la región norte de México se encuentra Torreón, Coahuila entre ciudades vecinas como Gómez Palacio, Ciudad Lerdo y otros 17 municipios de Coahuila y Durango los cuales conforman la Comarca Lagunera. Esta región concentra la mayor parte del inventario de bovino de leche en México, con un promedio de 423,000 cabezas que representan alrededor de 20 % del hato nacional (SAGARPA, 2013). Las unidades de producción de leche en esta zona son explotaciones de gran escala, con altas producciones de leche por vaca. Las vacas en esta zona presentan un deficiente comportamiento reproductivo (Mellado *et al.*, 2013).

La brucelosis bovina suele presentarse principalmente con problemas reproductivos con mayor incidencia. Estos problemas reproductivos generalmente se caracterizan por infertilidad, repetición de celos, abortos, malformaciones congénitas, nacimiento de crías débiles, prematuras o becerros muertos, así como orquitis e infecciones de las glándulas sexuales accesorias en machos. La bacteria *Brucella spp.* es la causante de dicha enfermedad, la cual tiene amplia distribución geográfica en la mayoría de los países del mundo. Sin embargo, la alta prevalencia y su constante incidencia, ha provocado que esta bacteria se registre en países en vía de desarrollo. En México, la brucelosis es causa de una importante zoonosis bacteriana que provoca grandes pérdidas económicas, en la ganadería mexicana, principalmente en la producción de leche (Bustamante *et al.*, 2000; D' Pool *et al.*, 2004; Rivera *et al.*, 2004; Córdova *et al.*, 2007).

La característica principal de la brucelosis es el aborto, el cual se define como la pérdida del producto de la gestación a una edad entre los 42 y 260 días (Ojeda, 2013). El fenómeno del aborto no sólo se reduce a la pérdida del producto, se considera que es un factor limitante del desarrollo ganadero por las pérdidas económicas que genera en el sistema (Benavides *et al.*, 2010). Debido a que el aborto además de ocasionar la pérdida directa de la cría, propicia muchas veces a la pérdida de la vaca o vaquilla, y es la causa de otras pérdidas que no son estimadas por el productor, pero que lo afectan económicamente; también afectando la reproducción,

ya que ocasiona que el periodo de días abiertos y de intervalo entre partos se prolonguen demasiado (Romero, 2008).

En un hato lechero se acepta como normal una incidencia de aproximadamente un 10%, pero si sobrepasa este límite se puede estar en presencia de un brote o una tormenta de abortos (Ronda, 2012).

En México se estima que permanecen como desconocidas las causas de los abortos en más de un 70% de las veces (Meléndez et al., 2010); el porcentaje del aborto causado por etiología infecciosa está estimado en el 40-60% de total (Conigliario, 1997). También es importante destacar que más del 50 % de los episodios abortígenos son de etiología desconocida, sólo del 30 al 50% de los abortos reportados tienen un diagnóstico certero y de ellos el 90% son debido a los agentes infecciosos (Amenábar, 2008).

En algunas regiones de la Comarca Lagunera, del estado de Durango, se han hecho estimaciones de las pérdidas ocasionadas por abortos; en 1998 el Comité Técnico sobre el Aborto Bovino estimó que sólo por alimentación, reducción de la producción láctea, medicamentos, semen y la pérdida del reemplazo el costo del aborto en vacas de primer parto, era de \$10,684.20 pesos y de \$12,249.60 pesos si el aborto afectaba a vacas de más de dos partos (Romero, 2012).

Por todo lo anterior se consideró pertinente realizar una investigación de los factores que influyen a que las vacas lecheras primíparas tengan mayor incidencia a brucelosis y a presentar abortos en la región lagunera.

## **OBJETIVOS**

Determinar los factores de riesgo para la seropositividad a brucelosis en novillas Holstein en un ambiente caluroso.

Determinar si la seropositividad a brucelosis y el número de vacunas (RB51) aplicadas a novillas afecta a la ocurrencia de abortos en novillas Holstein en un ambiente caluroso.

## **HIPÓTESIS**

- Vacas con menor edad al primer parto presentan mayor incidencia a brucelosis.
- Vacas con menor peso al destete presentan mayor incidencia a brucelosis.
- Vacas nacidas durante el verano tienen mayores posibilidades de presentar brucelosis.
- Vacas positivas a brucelosis tienen mayor riesgo de presentar abortos.
- Al incrementarse el número de vacunas (RB51) aplicadas aumenta el riesgo de resultar positivas a brucelosis.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

La brucelosis es una de las enfermedades más comunes en el ganado bovino, pero a menudo es una de las enfermedades zoonóticas desatendidas en el mundo (Franc *et al.*, 2018). La enfermedad se presenta en todo el mundo, excepto en algunos países de ingresos altos incluidos Gran Bretaña, Noruega, Suecia, Finlandia, Dinamarca, Alemania, Bélgica, Países Bajos, Suiza, Austria, República Checa, Eslovaquia, Nuevo Zelanda, Canadá, Francia e Italia. Sin embargo, esta enfermedad es un tema importante en los países en desarrollo, con biogrupos de *B. abortus* generalmente presentes particularmente en los países tropicales (Boral *et al.*, 2009; Pal *et al.*, 2017). En los países de bajos ingresos, la ocurrencia de esta enfermedad en el ganado o los humanos a menudo no se informa y hay poco o ningún control efectivo, lo que resulta en importantes perjuicios sanitarios y económicos (McDermott *et al.*, 2013).

### 2.1.- Taxonomía

El género *Brucella* pertenece a la familia *Brucellaceae* dentro del orden *Rhizobiales* de la clase *Alphaproteobacteria* (Godfroid *et al.*, 2011). La clase *Alphaproteobacteria* incluye organismos que son patógenos o simbioses de mamíferos o plantas. Dentro de la familia *Brucellaceae*, *Ochrobactrum* es el vecino más cercano filogenéticamente hablando de *Brucella*.

La clasificación de *Brucella* se basa históricamente en huéspedes naturales, preferencia y rasgos fenotípicos (Al Dahouk *et al.*, 2010). Actualmente *Brucella* comprende diez especies que incluyen las seis clásicas especies de *Brucella*: *B. melitensis*, biotipos 1-3 (ovino y caprino); *B. abortus*, biotipos 1-7 y 9 (bovinos y otros bóvidos); *B. suis* biotipos 1-5 (biotipos 1-3 cerdos, biotipo 4 reno, biotipo 5 pequeños roedores); *B. canis* (perro); *B. ovis* (oveja) y *B. neotomae* (ratas de madera del desierto).



Los estudios de hibridación ADN-ADN han mostrado que, según a las reglas taxonómicas comunes (homología de ADN > 70%, las especies clásicas sólo representan una especie (Verger *et al.*, 1985) y, por lo tanto, debe combinarse en un solo genoma especie *Brucella melitensis*. Sin embargo, para evitar confusiones, el “Subcomité de taxonomía de *Brucella*” propuso mantener el nomen-especie.

Además, se han agregado tres especies nuevas a este género, *B. pinnipedialis* (focas), *B. ceti* (delfines y ballenas) y *B. microti* (campañol común, zorros rojos y también del suelo). Más recientemente, *B. inopinata* aislado de una herida de implante mamario ha sido descrita como una nueva especie hasta ahora desconocida (Scholz *et al.*, 2010). Hay otros dos aislamientos, con las típicas características de *Brucella* pero distintas de las actuales especies descritas, que se sabe que han causado incidencias de enfermedades. Estos aislamientos aún están a la espera de la clasificación taxonómica final (Pappas *et al.*, 2010).

## **2.2.- Componentes antigénicos de *Brucella spp.***

La membrana celular externa se asemeja a la de otros bacilos gram-negativos con un lipopolisacárido dominante, componente que se considera el objetivo para muchos estudios serológicos e inmunológicos y es el principal factor de virulencia de *Brucella* (Bossi *et al.*, 2004). Todas las especies de *Brucella*, excepto *Brucella ovis* y *Brucella canis*, contienen lipopolisacáridos lisos (S-LPS) en su pared celular exterior (Poester *et al.*, 2010). Con su S-LPS son más virulentos y más resistentes a la destrucción intracelular por leucocitos polimorfonucleares que las cepas con lipopolisacárido rugoso (Mancilla *et al.*, 2015).

Los S-LPS existen como epítomos antigénicos A y M que tienen una distribución cuantitativa diferente entre las cepas de *Brucella* lisas y están ausentes en las cepas rugosas de esta bacteria. Esto es de valor en la diferenciación de biotipos de las principales especies utilizando antisueros A y M monoespecíficos (Conde-Álvarez *et al.*, 2012). Hans *et al.* (2020) mencionan que el antígeno A está asociado con *B.*

*abortus* (A-dominante) y el antígeno M está asociado con *B. melitensis* (M-dominante). Proteínas estructurales de la membrana externa (Omp25) también son útiles en pruebas de diagnóstico. Otros, como las proteínas ribosomales (L7/L12) y proteínas de fusión, han demostrado un efecto protector contra *Brucella* basado en anticuerpos y células de respuestas mediadas (Araj *et al.*, 2010)

### **2.3.- Patogenia de *Brucella* e inmunidad del hospedador**

Las brucelas tienen predilección por los macrófagos, las células dendríticas, (CD) y trofoblastos (Billard *et al.*, 2005) y las bacterias pueden entrar, sobrevivir, y replicarse dentro de estas células y causar enfermedades (Delrue *et al.*, 2004). La *Brucella* tiene acceso al huésped a través de la inhalación, la conjuntiva, la piel, abrasiones e ingestión (Vassalos *et al.*, 2009). *Brucella spp.* puede invadir células epiteliales del huésped, lo que permite la infección a través de superficies mucosas. Se han identificado células M en el intestino como puerta de entrada para *Brucella spp.* (Ackermann *et al.*, 1988). Los trofoblastos son las células placentarias a las que se dirigen durante la infección de animales preñados. Aunque es una bacteria exigente, *Brucella abortus* tiene importantes vías biosintéticas (Dagger *et al.*, 2002). En su huésped principal, el ganado, la vía metabólica para esta bacteria es la degradación del eritritol, incluso utilizado preferentemente a la glucosa (Halling *et al.*, 2005). Dado que eritritol se encuentra en la placenta de los bovinos, esto puede ser un posible factor en la virulencia de estas bacterias. Olsen y Tatum (2010) indican que la mayoría de las vacas infectadas permanecen crónicas y pueden permanecer infectadas durante el resto de sus vidas, con las bacterias localizadas en el tejido de la ubre o ganglios linfáticos.

Una vez que *Brucella spp.* ha invadido a su hospedero, generalmente a través del canal digestivo o respiratorio, son capaces de sobrevivir intracelularmente dentro de las células huésped fagocíticas o no fagocíticas (Carvalho-Neta *et al.*, 2010). *Brucella* tiene la capacidad de interferir con el tráfico intracelular, evitando la fusión de la *Brucella* con células que contienen vacuola (BCV) y se dirigen hacia un

compartimento del retículo endoplásmico rugoso (RER), que es altamente permisivo para la replicación intracelular de *Brucella* (Pizarro-Cerdá *et al.*, 2000). Curiosamente, la invasión a través del tracto digestivo no provoca ninguna respuesta inflamatoria del anfitrión (Paixão *et al.*, 2010). Por lo tanto, *Brucella spp.* invade “silenciosamente” o inadvertidamente el sistema inmunológico del huésped. De hecho, *Brucella spp.* tiene mecanismos que evitan la activación del sistema inmunológico innato del huésped (Barquero-Calvo *et al.*, 2010).

En el ganado bovino, la infección es causada predominantemente por *B. abortus*, con menos frecuencia por *B. melitensis* y ocasionalmente por *B. suis* (OIE, 2016). En vacas sexualmente maduras, la infección se localiza en el aparato reproductor y produce placentitis, seguida de aborto, provocando pérdidas de producción de leche y carne (Caminiti *et al.*, 2016).

La mayoría de los animales infectados abortan sólo una vez en su vida, pero pueden permanecer infectados durante toda su vida (Godfroid *et al.*, 2010). La enfermedad suele ser asintomática en las vacas no preñadas o después del aborto provocado por esta bacteria. El toro adulto puede desarrollar orquitis y la brucelosis puede causar infertilidad en ambos sexos. Los higromas pueden ocurrir en la pierna, articulaciones y son una manifestación común de brucelosis en algunos países tropicales (Megid *et al.*, 2014).

#### **2.4.- Factores de riesgo para seropositividad a brucelosis**

Los factores de riesgo incluyen sistemas de producción, zonas agroecológicas, prácticas de cría, contacto con animales salvajes y factores de la gestación. Éstos se pueden clasificar en general en cuatro grupos. Una asociación significativa entre la infección por *Brucella* y marcadores de riesgo, como el aborto, la retención de placenta y las inseminaciones repetidas, son reportados por algunos investigadores. Aulakh *et al.* (2008) encontraron una asociación significativa entre la brucelosis y el aborto y la retención de placenta, pero no entre brucelosis y repetición de servicios. Mugizi *et al.*

(2015) y Asmare *et al.* (2013) no encontraron una asociación significativa entre la seropositividad de *Brucella* y el aborto y la retención de placenta. En el caso de la infección por *B. melitensis* en el ganado, la seroprevalencia fue menor y el aborto ocurrió con menos frecuencia que en el caso de la infección por *B. abortus* (Asmare *et al.*, 2013).

Muchos investigadores encontraron asociaciones significativas entre especies, sexo, raza y edad de los animales con seropositividad a brucelosis (Makita *et al.*, 2011; Shome, 2014; Patel *et al.*, 2014). Otros factores de riesgo reportados incluyen: falta de agua limpia, insuficiente eliminación y limpieza de estiércol, mala gestión en la eliminación de materiales abortados, introducción de nuevos animales de rebaños que no estaban libres de brucelosis, rebaños mantenidos en estrecho confinamiento, y rebaños mixtos (Dhand *et al.*, 2005; Calistri *et al.*, 2013).

El apareamiento natural resulta en más animales seropositivos para infección por *Brucella* que los animales sometidos a inseminación artificial. Las granjas que practican análisis de leche de rutina para la detección de esta enfermedad, la infección por *Brucella* es menos probable que aquellos que no siguen tal práctica (Shome, 2014). El espacio inadecuado en los corrales también se ha informado como uno de los factores de riesgo de infección por *Brucella* (Pathak *et al.*, 2016). Los informes sugieren que las vacas más jóvenes son menos probabilidades de ser seropositivas que las vacas más viejas (Lindahl *et al.*, 2014).

Si bien se han reportado grandes hatos más propensos a la infección por *Brucella*, los hatos grandes pueden ser propiedad de agricultores que tienen más recursos y tienen más conocimientos y esto puede resultar en menor incidencia de esta enfermedad. En este caso la prosperidad económica y la educación son factores que enmascaran la relación positiva entre el tamaño grande del hato y la aparición de brucelosis. Otro estudio informó una mayor prevalencia en fincas organizadas de tamaño mediano (26-100) que pequeñas o granjas de gran tamaño (Shome, 2014).

## 2.5.- Pérdidas económicas por brucelosis

La brucelosis bovina causa grandes pérdidas a la industria lechera; sin embargo, hay una escasez de información integral sobre el impacto económico de esta enfermedad. También se observa que términos tales como: impacto económico, la pérdida y el costo de la brucelosis son utilizados por algunos investigadores de forma flexible e intercambiable. El impacto económico puede incluir, por ejemplo, producción de leche reducida, aumento de la mortalidad de becerros y costos indirectos (por ejemplo, vacunación, sacrificio). Los impactos directo pueden clasificarse además como visibles (por ejemplo, aborto, servicios repetidos), invisibles (por ejemplo, menor fertilidad), costos adicionales (por ejemplo, tratamiento, vacunación) e ingresos no percibidos (por ejemplo, venta de emergencia de vacas) (Oseguera Montiel *et al.*, 2015). La pérdida puede comprender solo aquellos parámetros que reducen los beneficios (por ejemplo, producción de leche reducida, aumento de peso reducido, fertilidad, aumento del costo de reemplazo, aumento de la mortalidad, etc.) mientras que el costo también comprendería las cantidades gastadas para tratamiento y control (por ejemplo, bioseguridad, vacunación, control de movimiento, vigilancia de enfermedades, investigación, etc.) de la enfermedad (Oseguera Montiel *et al.*, 2014; Sing *et al.*, 2018). La mayoría de las estimaciones económicas no han tenido en cuenta la pérdida causada por venta de emergencia, alimentación y manejo, pérdida de animales preñados en caso de aborto, días-persona pérdida por tratar los animales, costo de antisépticos y detergentes, costo de transporte relacionado con el tratamiento, costo de diagnóstico, etc.

La mayoría de los estudios extrapolan las cifras económicas con base en información epidemiológica limitada y supuestos desarrollados en el mismo país o en otro lugar. Pocos estudios han estimado el impacto económico de la enfermedad basado en datos epidemiológicos rigurosos recopilados de forma aleatoria de una población seleccionada. Debido a la falta de uniformidad en enfoque para la medición del impacto económico / costo / pérdida, y el hecho de que estos son muy específicos del contexto, las estimaciones también han variado ampliamente.

Panchasara *et al.* (2012) informó que las pérdidas causadas por la brucelosis se debieron principalmente a la reducción de la producción de leche seguida del costo del tratamiento de la enfermedad además de la pérdida del ternero abortado. Se mencionó además que hubo una pérdida promedio de 231 litros y 177 litros de leche (10% de la producción total de lactancia) en vacas positivas a *Brucella*, causando una pérdida económica de alrededor de USD 40. Sin embargo, un estudio de Mellado *et al.* (2014) mostró que 11% de prevalencia de brucelosis en vacas Holstein de alta producción de leche no ejerció un efecto detrimental en la producción de leche a 305 días y el comportamiento reproductivo en estos animales.

## **2.6.- Vacunación y control**

En los países de ingresos bajos y medianos, el clásico enfoque de vacunación, pruebas serológicas, cuarentena y el sacrificio de los animales reactivos con políticas de compensación tiene un éxito limitado, debido a la cooperación limitada de los ganaderos. Se pueden tomar medidas de control más específicas y útiles. La vacunación puede ser la medida de control más apropiada, mientras que el sacrificio sanitario puede ser demasiado gravoso económicamente (Makita *et al.*, 2011).

La vacuna más utilizada para la prevención de la brucelosis en el ganado es la vacuna *B. abortus* S19, que sigue siendo la vacuna de referencia con la que se comparan otras vacunas. Se utiliza como vacuna viva y normalmente se administra a becerras de entre 3 y 6 meses de edad como una única dosis subcutánea de  $5-8 \times 10^{10}$  organismos viables o como una dosis reducida de  $3 \times 10^8$  a  $3 \times 10^9$  organismos que pueden administrarse por vía subcutánea a bovinos adultos. Alternativamente, se puede administrar a bovinos de cualquier edad como una o dos dosis de  $5 \times 10^9$  organismos viables, administrados por vía conjuntival (International Office of Epizootics, 2009). *B. abortus* S19 tiene las propiedades normales de la cepa biovar 1 de *B. abortus*, pero no requiere CO<sub>2</sub> para su crecimiento, no crece en presencia de bencilpenicilina (3 µg/mL = 5 UI/mL), azul de tionina (2 µg/mL), o i-eritritol (1 mg / mL)

(todas las concentraciones finales), y se presenta con un uso elevado de L-glutamato (International Office of Epizootics, 2009).

La cepa de *B. abortus* RB51, un organismo rugoso atenuado, que derivó originalmente de un mutante resistente a la rifampicina de la cepa 2308 de *B. abortus* y ha reemplazado a la cepa *B. abortus* S19 como candidata a vacuna en algunos países desarrollados. La cepa RB51 es muy estable y no tiene características abortivas o ésta es muy reducida (Schurig *et al.*, 1991). La eficacia protectora y la inmunidad inducidas por la cepa RB51 son similares o mejores que las inducidas por la cepa 19 (Lord *et al.*, 1998). Sin embargo, aunque la cepa RB51 tiene un excelente historial de estabilidad, ésta es resistente a la rifampicina, un importante antibiótico utilizado en el tratamiento de la brucelosis; además, sigue siendo infeccioso para los seres humanos y no se ha descrito la naturaleza exacta de sus mutaciones. Recientemente se informó que las vacas vacunado con RB51 en el área metropolitana de Yellowstone en los Estados Unidos todavía era susceptible a la brucelosis (Olsen *et al.*, 2009; Van Campen and Rhyan, 2010). La cepa de *Brucella abortus* RB51 ha demostrado ser segura y eficaz en el campo contra la brucelosis bovina y exhibe interferencia insignificante con la serología diagnóstica (Schurig *et al.*, 2002; Sing *et al.*, 2012).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- Área de estudio**

El presente estudio se realizó en establos lecheros con vacas Holstein de la Comarca Lagunera. Dichos establos se encuentran en la posición geográfica 25° 32' 18" Latitud Norte, 103° 27' 55" Longitud oeste y una altitud de 1,140 msnm. En dicha área se presenta un clima semidesértico, con un promedio de precipitación pluvial anual de 230 mm, y una temperatura anual promedio de 23.7°C, pero puede alcanzar una temperatura máxima de 43°C en verano y una temperatura mínima de -1°C en invierno. Se presenta una humedad relativa promedio de 58%, con una máxima de 83% y una mínima de 29%; se presentan vientos de 5 km/h y la evaporación es de 2,500 mm anualmente.

#### **3.2.- Características del hato lechero**

El presente estudio fue realizado con vacas lecheras primíparas de la raza Holstein, las cuales eran manejadas de manera intensiva en dos establos adyacentes y altamente tecnificados.

#### **3.3.- Base de datos**

Se tomaron los registros de 1,000 vacas lecheras primíparas en donde se registraron las siguientes variables: fecha de nacimiento, peso al nacimiento, peso al destete, número de lactancia, presencia de brucelosis al parto, fecha de parto, mes de nacimiento de la cría, número de crías, condición corporal al parto. Además, se registró si la vaca presentaba seropositividad a brucelosis. Si algunas de las vacas resultaban positiva a brucelosis (BR), se registraba lo siguiente: fecha de BR +, años con BR+, así como también se registró si la vaca presentó aborto, fecha de vacuna



contra brucelosis (RB51). En este estudio hubo vacas que presentaron hasta 4 vacunas durante toda la lactancia. Se registró fecha de la última inseminación y la fecha de secado.

### **3.4.- Análisis estadístico**

Para la obtención de resultados se utilizaron regresiones logísticas múltiples (proceso multivariado) para detectar las variables que influyen sobre la seropositividad a brucelosis. Una vez detectadas las variables significativas se analizó una por una (proceso univariado), incluyendo en el modelo estadístico el número de lactancia y mes de parto, para ajustar los resultados por estas variables.

Fueron muy pocas las variables asociadas con la brucelosis y no se encontró ningún factor que influyera en la ocurrencia de brucelosis al parto.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aborto en el presente estudio se definió como la pérdida de un feto que se produjo desde el momento del diagnóstico de la preñez por palpación por el recto hasta los 260 días de gestación (punto en el que el feto es capaz de sobrevivir fuera del útero). Se enfatiza esta definición porque existen numerosas definiciones de aborto que se utilizan internacionalmente, algunas de las cuales incluyen el diagnóstico temprano de la gestación por ecografía ( $\approx$  30 días). El porcentaje de becerras seropositivas a brucelosis en el presente estudio fue de 31.9. Esta cifra es muy superior a la incidencia de esta enfermedad en otros países, donde las cifras reportadas son de 8 a 29% en países africanos (Craighead *et al.*, 2018; Ntivuguruzwa *et al.*, 2020), 1.9 en China (Ran *et al.*, 2019), 1.3-5.0% en Norteamérica (Jousan *et al.*, 2005; Norman *et al.*, 2012), 1.7-10.3% encontrado en Europa (Andreu-Vázquez *et al.*, 2012; Barański *et al.*, 2012), 6-7% en Nueva Zelanda y Australia (Norton *et al.*, 1989; McDougall *et al.*, 2005) y 6.9% observado en Asia (Lee y Kim, 2007). No obstante, los abortos observados en la presente investigación se acercan a los observados en hatos Holstein donde no se investigó la etiología de los abortos en la zona templada de México 24-29% (Albuja *et al.*, 2019; Mellado *et al.*, 2019).

La alta seroprevalencia de esta enfermedad en la zona de estudio pudiera deberse a que en esta zona los esfuerzos para limitar o controlar esta enfermedad no fueron completos en el pasado. Las vacas con <660 días de edad al primer parto fueron 1.5 veces más propensas a presentar seropositividad a brucelosis que las vacas cuyo primer parto ocurrió después de los 660 días al primer parto. Esta respuesta no está clara, pero una posible explicación es que las novillas jóvenes pudieron tener una proporción más alta de partos distócicos. La distocia es perjudicial para la reproducción y la salud, y el peso corporal de las novillas en el primer parto afecta la distocia (Erb *et al.*, 1985; Hoffman y Funk, 1992). Otros investigadores encontraron una correlación negativa entre el peso corporal al primer parto y la distocia (Thompson *et al.*, 1983; Erb *et al.*, 1985). Las vaquillas más jóvenes y más pequeñas, así como las vaquillas más viejas y con exceso de condición corporal, pueden experimentar más partos distócicos.

La dificultad del parto causa trauma tanto a las vacas como a sus crías, y puede predisponer a un aumento de las tasas de infecciones uterinas u otras infecciones sistémicas (Bellows y Lammoglia, 2000; Berry *et al.*, 2007; Tenhagen *et al.*, 2007). Los animales con distocia, entonces, quedan más debilitados y su sistema inmunológico puede montar una respuesta más débil a la infección por brucelosis.

Las novillas con un peso menor a 75 kg al destete fueron 50% más propensas para resultar seropositivas a brucelosis que sus compañeras más pesadas al destete. Los menores pesos al destete pudieron deberse a que las becerras experimentaron distocia y los terneros que sobreviven a la distocia experimentan una menor transferencia de inmunidad pasiva, una mayor mortalidad y mayores indicadores de estrés fisiológico. Estos terneros tienen un peor bienestar en el período neonatal y posiblemente más adelante en su vida (Barrier *et al.*, 2013).

Concentraciones reducidas de inmunoglobulinas séricas después de un parto distócico se han reportado previamente en becerras lecheras (Vermorel *et al.*, 1989) así como en terneros de carne (Waldner y Rosengren, 2009). Acidosis y estados hipóxicos pueden suceder después de la distocia, lo que puede conducir a una disminución de la absorción de inmunoglobulinas calostrales (Boyd, 1989; Jacobsen *et al.*, 2002). Sin embargo, la absorción de inmunoglobulinas, evaluada después de la ingestión controlada de calostro, no está influenciada por la distocia (Burton *et al.*, 1989). Además, no se encontró relación entre el contenido de Ig calostrales y la experiencia de un parto difícil (Gulliksen *et al.*, 2008). La inmunidad en terneros de partos distócicos puede resultar de un menor vigor (Barrier *et al.*, 2011), y sus retrasos asociados en la succión de la ubre y una disminución de la ingesta de calostro. No está claro si las altas concentraciones de cortisol endógeno observadas en estos terneros tienen algún efecto sobre la absorción de inmunoglobulinas (Chen *et al.*, 1999; Jacobsen *et al.*, 2002).

Las vacas nacidas en verano presentaron una mayor seroprevalencia a brucelosis con un 36.7%, a diferencia de las vacas nacidas en otras estaciones, las cuales solo presentan un 29.6% de seroprevalencia a esta enfermedad. Esta respuesta no se debe a un mayor estrés por calor de las becerras en el verano, pues

las becerras Holstein no muestran signos de estrés en el ambiente donde el estudio se llevó a cabo (Mellado *et al.*, 2014). Sin embargo, en este ambiente la concentración plasmática media de cortisol fue mayor en las becerras con estrés por calor nacidos en verano ( $59 \pm 40$  ng / mL) que en los terneros nacidos en invierno ( $20 \pm 28$  ng / mL). La ingesta del alimento iniciador granulado una semana antes del destete fue más baja en el otoño ( $0.82 \pm 0.26$  kg / ternero / día; media  $\pm$  DE) y más alta en la primavera ( $1.26 \pm 0.43$  kg / ternero / día), lo que indica que, en este ambiente particular, el estrés por calor afecta el peso al nacer y la tasa de crecimiento de las becerras Holstein (López *et al.*, 2018). Lo anterior pudiera reducir la resistencia a las enfermedades de las becerras bajo estrés por calor.

**Cuadro 1. Índices de riesgo (odds ratio) y 95% intervalo de confianza (IC) para los efectos de la edad al primer parto, el peso al destete y la época del parto sobre la seropositividad a brucelosis en vacas Holstein primíparas en un ambiente caluroso (n = 1000)**

Variables	Prevalencia	Odds ratio (OR)	95% CI OR	P
Edad al primer parto (días)				0.0021
<660	171/465 (36.8)	1.5	1.2 – 2.0	
>660	148/535 (27.7)	Referencia		
Peso al destete (kg)				0.0063
<75	162/445 (36.4)	1.5	1.1 – 1.9	
>75	157/555 (28.3)	Referencia		
Estación de parto				0.0235
Verano	120/327 (36.7)	1.4	1.0 – 1.8	
Otras estaciones	199/673 (29.6)	Referencia		

IC= Intervalo de confianza; odds ratio= índice de riesgo

En el Cuadro 2 se muestra el efecto de la seropositividad a brucelosis y el número de vacunas contra esta enfermedad sobre la ocurrencia de aborto en vacas Holstein primíparas en un ambiente caluroso. El porcentaje de abortos en las vacas seropositivas a brucelosis fue más del doble ( $P < 0.01$ ) que las vacas seronegativas para esta enfermedad. La manifestación clínica más común de brucelosis en vacas es la pérdida fetal resultante del aborto, nacimiento de una cría débil o infertilidad. En particular, el aborto es el sello distintivo de la brucelosis (Verma *et al.*, 2000; Olsen y Tatum, 2010). En el presente estudio las vacas seropositivas a brucelosis tuvieron muchas más probabilidades de presentar aborto en su primera gestación que las vacas no reactivas. Esto es comparable a los resultados de Kabagambe *et al.* (2001) y Oloffs *et al.* (1998) de Uganda y Schelling *et al.* (2003) de Chad, quienes informaron que los animales seropositivos a *Brucella* tenían de tres a cinco veces más probabilidades de tener un aborto en comparación con los grupos seronegativos.

La alta tasa de abortos aún en las vacas que no resultaron seropositivas a brucelosis sugiere que no solamente la brucelosis fue el agente causante de abortos, sino algunos otros organismos como *Neospora caninum*, u otros patógenos (Yildiz *et al.*, 2009). La brucelosis es el más importante agente abortivo en ganado lechero; sin embargo, hoy en día la infección por *Neospora caninum* se ha reportado en hatos ganaderos, especialmente en aquellos con historial de altas tasas de aborto (Guimaraes *et al.*, 2004; Hall *et al.*, 2005; Simsek *et al.*, 2008).

En la epidemiología clásica de la brucelosis en bovinos, cuando las medidas de control no se practican adecuadamente, se alcanza un estado de endemidad en el mantenimiento de la especie hospedadora que se caracteriza por una alta seroprevalencia tanto en los hatos como en los animales individuales. Las becerras aparentemente se infectan temprano en su vida y las hembras abortan en su primera preñez.

La mitad de las vacas que no recibieron vacuna contra brucelosis abortaron, mientras que alrededor de un tercio de las vacas que recibieron una (antes de la fecundación) o dos (temprano en la gestación) vacunas presentaron aborto. No hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) en las tasas de aborto entre las vacas que recibieron una o dos

vacunas contra brucelosis. Entonces, la repetición de una vacuna contra brucelosis no aumentó el riesgo de aborto. Estos datos no coinciden con un estudio de Fluegel y Dougherty *et al.* (2013) quienes encontraron que la vacunación de ganado vacuno de carne adulto gestante con *B. abortus* RB51 resultó en un 5.3% de pérdidas de gestación. Asimismo, los informes de campo han demostrado la participación de la cepa de la vacuna contra la brucelosis RB51 en el aborto de algunas vacas lecheras (Yazdi *et al.*, 2009; Sanz *et al.*, 2010). Por lo tanto, podría ser que la cepa atenuada *B. abortus* RB51 pudiera albergarse en vacas no gestantes, y una vez que se establece la gestación, *B. abortus* puede causar infección fetal y aborto, como lo han informado Van Meter *et al.* (1999) y Yazdi *et al.* (2009). Otra explicación de los efectos deletéreos de la inoculación repetida de RB51 es que el uso recurrente de la vacuna RB51 podría aumentar el riesgo de reversión de esta vacuna de la cepa RB51 atenuada a virulencia de tipo de cepa de campo. Sin embargo, este no fue el caso en el presente estudio.

**Cuadro 2. Efecto de la seropositividad a brucelosis y número de vacunas contra esta enfermedad (RB51) sobre la ocurrencia de aborto en vacas Holstein primíparas de alto rendimiento vacas Holstein en ambiente caluroso.**

	<b>% abortos</b>	<b>95% IC</b>	<b>P</b>
<b>Seropositivas a brucelosis</b>			<.0001
Si	156/319 (48.1) <sup>a</sup>	45 – 57	
No	149/681 (21.9) <sup>b</sup>	18 – 25	
<b>Número de vacunas</b>			0.0019
0	29/59 (49.2) <sup>a</sup>	36 -63	
1 (preparto)	206/732 (28.1) <sup>b</sup>	25 -32	
2 (preparto, postparto)	70/209 (33.5) <sup>b</sup>	27 – 40	

IC= Intervalo de confianza

<sup>a,b</sup>En columnas, porcentajes con diferente superíndice difieren (P<0.01).

## V. CONCLUSIÓN

La vacunación repetida preparto contra *B. abortus* RB51 en novillas Holstein no se asoció con una reducción de la tasa de abortos. Estos hallazgos son de gran importancia práctica porque contradicen la opinión de que la revacunación de las vacas aumenta la inmunidad contra esta enfermedad. Se presentó un gran porcentaje de abortos en vacas seronegativas a brucelosis, lo que sugiere que no sólo *B. abortus* sino otros agentes patógenos causantes de pérdidas fetales existen en el hato estudiado. Finalmente, las vacas que llegan al primer parto muy jóvenes o son destetadas con un peso subóptimo son más susceptibles a resultar seropositivas a brucelosis.

## VI. LITERATURA CITADA

- Abas, K.A., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2014). Cellular and Molecular Immunology. 8th Edition, Elsevier Saunders, USA. 525 p.
- Ackermann, M.R., Cheville, N.F., Deyoe, B.L. (1988). Bovine ileal dome lymphoepithelial cell: endocytosis and transport of *B. abortus* strain 19. *Veterinary Pathology* 25:28-35.
- Al Dahouk, S., Scholz, H.C., Tomaso, H., Bahn, P., Göllner, C., Karges, W., Nöckler, K. (2010). Differential phenotyping of Brucella species using a newly developed semi-automated metabolic system. *BMC Microbiology*. 10:269 <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-269>
- Albuja, C., Ortiz, O., López, C., Hernández-Cerón, J. (2019). Economic impact of pregnancy loss in an intensive dairy farming system. *Veterinaria México* 6(1) doi: 1022201/ fmvz24486760e20191572
- Amenábar, T.K. (2008). Evaluación productiva y económica del síndrome aborto bovino y estimación de su frecuencia en vacas lecheras de la VIII, XIV y X regiones de Chile. Monografía Licenciatura. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 4-5. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fva511e/doc/fva511e.pdf>
- Andreu-Vázquez, C., García-Ispuerto, I., Ganau, S., Fricke, P.M., López-Gatius, F. (2012). Effects of twinning on the subsequent reproductive performance and productive lifespan of high-producing dairy cows. *Theriogenology* 789:2061–2070.
- Araj G.F. (2010). Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 36:12-17.
- Asmare, K., Sibhat, B., Molla, W., Ayelet, G., Shiferaw, J., Martin, A.D., Godfroid, J. (2013). The status of bovine brucellosis in Ethiopia with special emphasis on



- exotic and cross bred cattle in dairy and breeding farms. *Acta Trópica* 126:186–192. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.02.015>
- Aulakh, H.K., Patil, P.K., Sharma, S., Mahajan, V.B., Sandhu, K.S. (2008). A study on the epidemiology of bovine brucellosis in Punjab (India) using milk-ELISA. *Acta Veterinaria Brunensis*. 77:393–399.
- Barański, W., Zduńczyk, S., Janowski, T. (2012). Late embryonic and foetal losses in eight dairy herds in north-east Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 15:735-739.
- Barquero-Calvo, E., Chaves-Olarte, E., Weiss, D.S., Guzmán-Verri, C., Chacón-Díaz, C., Rucavado, A. (2007). *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. *PLoS One*. 2:631.
- Barrier, A.C., Haskell, M.J., Birch, S., Bagnall, A., Bell, D.J., Dickinson, J., Macrae, A.I., Dwyer, C. M. (2013). The impact of dystocia on dairy calf health, welfare, performance and survival. *Veterinary Journal*. 195:86-90.
- Barrier, A.C., Ruelle, E., Haskell, M.J., Dwyer, C.M. (2011). Effect of a difficult calving on the vigour of the calf, the onset of maternal behaviour, and some behavioural indicators of pain in the dam. *Preventive Veterinary Medicine*. 103:248–256.
- Bellows, R., Lammoglia, M. (2000). Effects of dystocia on cold tolerance and serum concentrations of glucose and cortisol in neonatal beef calves. *Theriogenology*. 53:803-81.
- Benavides, B.B., Jurado, C., Cedeño, Q.D. (2010). Factores de riesgo asociados a aborto bovino en la cuenca lechera del departamento de Nariño. *Revista MVZ Córdoba*. 15(2):2087-2094. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0122-02682010000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-02682010000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

- Berry, D., Lee, J., Macdonald, K., and Roche, J. (2007). Body condition score and body weight effects on dystocia and stillbirths and consequent effects on post calving performance. *Journal of Dairy Science*. 90:4201–4211.
- Billard, E., Cazevieille, C., Dornand, J. (2005). High susceptibility of human dendritic cells to invasion by the intracellular pathogens *B. suis*, *B. abortus*, and *B. melitensis*. *Infection and Immunity*. 73:8418-8424.
- Boral, R., Singh, M., Singh, D.K. (2009). Status and strategies for control of Brucellosis: a review. *Indian Journal of Animal Sciences*. 79:1191-1199.
- Bossi, P., Tegnell, A., Baka, A., Van Loock, F., Hendriks, J., Werner, A. (2004). Bichat guidelines for the clinical management of Brucellosis and bioterrorism- related Brucellosis. *Eurosurveillance*. 9(12):15-16.
- Boyd, J.W. (1989). Relationships between acid-base balance, serum composition and colostrum absorption in newborn calves. *British Veterinary Journal* 145:249–256.
- Burton, J.L., Kennedy, B.W., Burnside, E.B., Wilkie, B.N., Burton, J.H., (1989). Variation in serum concentrations of immunoglobulins G, A, and M in Canadian Holstein-Friesian calves. *Journal of Dairy Science* 72:135–149.
- Bustamante, S.J., Salazar, H.F., Díaz, A.E., Manzano, C.C., Pérez, G.R., Hernández, A.L. (2000). Estudio bacteriológico y serológico de Brucelosis en vacas revacunadas con dosis reducidas de cepa 19 de *Brucella abortus*. *Técnica Pecuaria en México*. 38:36-42.
- Calistri, P., Lannetti, S., Atzeni, M., Di Bella, C., Schembri, P., & Giovannini, A. (2013). Risk factors for the persistence of bovine brucellosis in Sicily from 2008 to 2010. *Preventive Veterinary Medicine*. 110:329–334.
- Caminiti, A., Pelone, F., La Torre, G., De Giusti, M., Saulle, R., Mannocci, A., Giovanni Sala, M., Della Marta, U., Scaramozzino, P. (2016). Control and eradication of tuberculosis in cattle: A systematic review of economic evidence. *Veterinary Record*. 179:70-75.

- Carvalho-Neta, A.V., Mol, J.P.S., Xavier, M.N., Paixao, T.A., Lage, A.P., Santos, R.L. (2010). Pathogenesis of bovine brucellosis. *The Veterinary Journal*. 184:146-155.
- Chen, J.C., Chang, C.J., Peh, H.C., Lee, S.L. (1999). Perinatal adrenocortical function in relation to the growth rate and immunoglobulin acquisition of goat kids. *Small Ruminant Research*. 33:255–262.
- Conde-Álvarez, R., Arce-Gorvel, V., Iriarte, M., Manček-Keber, M., Barquero-Calvo, E., Palacios-Chaves, L., Chacón-Díaz, C., Chaves-Olarte, E., Martirosyan, A., Von Bargen, K., Grilló, M.J., Jerala, R., Gorvel, J.P. (2012). The lipopolysaccharide core of *Brucella abortus* acts as a shield against innate immunity recognition. *PLoS Pathogens*. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002675>
- Conigliario, S. (1997). Abortos, causas, diagnóstico y profilaxis. [www.cdv.com.ar/wp-content/uploads/2015/07/perdidas-de-gestacion-en-bovinos.pdf](http://www.cdv.com.ar/wp-content/uploads/2015/07/perdidas-de-gestacion-en-bovinos.pdf)
- Córdova, I.A., Córdova, J.C., Saltijeral, O.J., Ruiz, L.C., Xolalpa, C.V., Cortes, S.S., Guerra, L.J. (2007). Enfermedades abortivas en bovinos. *Revista Veterinaria*. 18:139-142.
- Craighead, L., Meyer, A., Chengat, B., Musallam, I., Akakpo, J., Kone, P., Guitian, J., Häslér, B. (2018). Brucellosis in West and Central Africa: A review of the current situation in a changing landscape of dairy cattle systems. *Acta Trópica*. 179:96-108.
- D' Pool, G., Rivera, P.S., Torres, T., Pérez, M., García, A., Castejón, O., Rojas, N. (2004). Prevalencia de Brucelosis Bovina Mediante Elisa Competitivo en el Municipio La cañada de Urdaneta, Estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica*. 14(2).
- Dagger, E.M., Dagger, I.M. (2002). *Brucella melitensis*: A nasty bug with hidden credentials for virulence. *The Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 99(1):1-3.

- Delrue, R.M., Lestrade, P., Tibor, A., Letesson, J.J., Bolle, X.D. (2004). *Brucella pathogenesis*, genes identified from random scale screens. FEMS Microbiology Letters. 231:1-12.
- Dhand, N.K., Gumber, S., Singh, B.B., Aradhana, Bal, M.S., Kumar, H., Sandhu, K.S. (2005). A study on the epidemiology of brucellosis in Punjab (India) using Survey Toolbox. OIE Revue Scientifique et Technique. 24:879–885.
- Erb, H.N., Smith, R.D., Oltenacu, P.A., Guard, C.L., Hillman, R.B., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E. (1985). Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield and culling in Holstein cows. Journal of Dairy Science 68:3337-3349.
- Escamilla, H.P., Martínez, M.J.J., Medina, M., Morales, S.E. (2007). Frequency and causes of infectious abortion in a dairy herd in Querétaro, México. The Canadian Journal of Veterinary Research 71:314-317.
- Fluegel Dougherty, A.M., Cornish, TE., O'Toole, D., Boerger-Fields, A.M, Henderson, OL., Mills, K.W. (2013). Abortion and premature birth in cattle following vaccination with *Brucella abortus* strain RB51. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 25:630–635.
- Franc, K.A., Krecek, R.C., Häsler, B.N., & Arenas-Gamboa, A.M. (2018). Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: A call for interdisciplinary action. BMC Public Health. 18:125 <https://doi.org/10.1186/s12889-017-5016-y>
- Godfroid, J., Nielsen, K., Saegerman, C. (2010). Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. Croatian Medical Journal. 51:296–305.
- Godfroid, J., Scholz, H.C., Barbier, T., Nicolás, C., Wattiau, P., Fretin, D. (2011). Brucellosis at the animal / ecosystem / human interface at the beginning of the 21st century. Preventive Veterinary Medicine. 102:118-131.
- Guimaraes, J.S., Souza, S.L.P., Bergamaschi, D.P., Gennari, S.M. (2004). Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in

- dairy cattle of the north of Parana´ state, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 124:1–8.
- Gulliksen, S.M., Lie, K.I., Solverod, L., Österås, O. (2008). Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91:704–712.
- Hall, C.A., Reichel, M.P., Ellis, J.T. (2005). *Neospora abortions* in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary Parasitology*. 128:231–241.
- Halling, S.M., Peterson-Burch, B.D., Bricker, B.J., Zuerner, R.L., Qing, Z., Li, L.L., Kapur, V., Alt, D.P., Olsen, S.C. (2005). Completion of the Genome Sequence of *Brucella abortus* and Comparison to the Highly Similar Genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *Journal of Bacteriology*. 187(8):2715-2726.
- Hans, R., Yadav, P.K., Sharma, P.K., Boopathi, M., & Thavaselvam, D. (2020). Development and validation of immunoassay for whole cell detection of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. *Scientific Reports*. 10:8543. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65347-9>
- Hoffman, P.C., Funk, D.A. (1992). Applied dynamics of dairy replacement growth and management. *Journal of Dairy Science* 75:2504-2516.
- International Office of Epizootics, editors. (2009). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: Mammals, Birds and Bees*. Paris. World Organisation for Animal Health (OIE). Bovine brucellosis; 7th ed. pp. 1–35.
- Jacobsen, H., Sangild, P.T., Schmidt, M., Holm, P., Greve, T., Callesen, H., (2002). Macromolecule absorption and cortisol secretion in newborn calves derived from in vitro produced embryos. *Animal Reproduction Science*. 70:1–11.
- Jacobsen, H., Sangild, P.T., Schmidt, M., Holm, P., Greve, T., Callesen, H. (2002). Macromolecule absorption and cortisol secretion in newborn calves derived from in vitro produced embryos. *Animal Reproduction Science*. 70:1–11.

- Jousan, F.D., Drost, M., Hansen, P.J. (2005). Factors associated with early and mid-to-late fetal loss in lactating and nonlactating Holstein cattle in a hot climate. *Journal of Animal Science*. 83:1017–1022.
- Kabagambe, E.K., Elzer, P.H., Geaghan, J.P., Opuda-Asibo, J., Scholl, D.T., Miller, J.E. (2001). Risk factors for *Brucella* seropositivity in goat herds in Eastern Uganda. *Preventive Veterinary Medicine*. 52:91–108.
- Kumar, N., Pal, B.C., Yadav, S.K., Verma, A.K., Jain, U., Yadav, G. (2009). Prevalence of bovine brucellosis in Uttar Pradesh, India. *Journal of Veterinary Public Health* 2:557–564.
- Lee, J.I., Kim, I.H. (2007). Pregnancy loss in dairy cows: The contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. *Journal of Veterinary Sciences*. 83: 283–288.
- Lindahl, E., Sattarov, N., Boqvist, S., Sattori, I., & Magnusson, U. (2014). Seropositivity and risk factors for *Brucella* in dairy cows in urban and peri-urban small-scale farming in Tajikistan. *Tropical Animal Health and Production*. 46:563–569.
- López, E., Mellado, M., Martínez, A.M., Veliz, F.G., García, J.E., de Santiago, A., Carrillo, E. (2018). Stress-related hormonal alterations, growth and pelleted starter intake in pre-weaning Holstein calves in response to thermal stress. *International Journal of Biometeorology*. 62:493–500.
- Lord, V.R., Schurig, G.G., Cherwonogrodzky, J.W., Marcano, M.J., Meléndez, G.E. (1998). Field study of vaccination of cattle with *Brucella abortus* strains RB51 and 19 under high and low disease prevalence. *American Journal of Veterinary Research* 59:1016–1020.
- Makita, K., Fèvre, E.M., Waiswa, C., Eisler, M.C., Thrusfield, M., & Welburn, S.C. (2011). Herd prevalence of bovine brucellosis and analysis of risk factors in cattle in urban and peri-urban areas of the Kampala economic zone, Uganda. *BMC Veterinary Research*. 7:1–8.

- Mancilla, M. (2015). Smooth to rough dissociation in brucella: the missing link to virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00098>
- McDermott, J.J., Grace, D., Zinsstag, J. (2013). Economics of brucellosis impact and control in low-income countries. *Scientific and Technical Review off Int Diseases Epizooties*. 32 (1):249–261.
- McDougall, S., Rhodes, F.M., Verkerk, G. (2005). Pregnancy loss in dairy cattle in the Waikato region of New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*. 53:279–287.
- Megid, J., Mathias, L.A., & Robles, C.A. (2014). Clinical Manifestations of Brucellosis in Domestic Animals and Humans. *The Open Veterinary Science Journal*. 4(1) <https://doi.org/10.2174/1874318801004010119>
- Meléndez, S.R., Valdivia, F.A., Rangel, M.E., Díaz, A.E., Segura, C.J., Guerrero, B.A. (2010). Factores de riesgo asociados a la presencia de aborto y desempeño reproductivo o en ganado lechero de Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 1(4):391-401. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242010000400007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242010000400007)
- Mellado, M., Garcia, A.M. Arellano-Reynoso, B. Diaz-Aparicio E., Garcia, J.E. (2014). Milk yield and reproductive performance of brucellosis-vaccinated but seropositive Holstein cows. *Tropical Animal Health and Production*. 46:391-397.
- Mellado, M., López, E., Veliz, F.G., De Santiago, M.A., Macías-Cruz, U., Avendaño-Reyes, L., García, J.E. (2014). Factors associated with neonatal dairy calf mortality in a hot-arid environment. *Livestock Science*. 159:149–155.
- Mellado, M., Macías-Cruz, U., Avendaño-Reyes, L., Veliz, F.G., Gaytán, L., García, J.E., Rodríguez, A.F. (2019). Milk yield, periparturient diseases and body condition score as factors affecting the risk of fetal losses in high-yielding Holstein cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 17(2): e0404.

- Mellado, M., Sepúlveda, E., Meza-Herrera, C., Veliz, F.G., Arévalo, J.R., Mellado, J., de Santiago, A. (2013). Effect of heat stress on reproductive efficiency of high yielding Holstein cows in a hot-arid environment. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26:193-200.
- Norman, H.D., Miller, R.H., Wright, J.R., Hutchison, J.L., Olson, K.M. (2012). Factors associated with frequency of abortions recorded through Dairy Herd Improvement test plans. *Journal of Dairy Science*. 957:4074–4084.
- Norton, J.H., Lisle, A.T., Tranter, W.P., Campbell, R.S.F. (1989). A farming systems study of abortion in dairy cattle on the Atherton Tableland I reproductive performance. *Australian Veterinary Journal*. 66:161-163.
- Ntivuguruzwa, J.B., Kolo, F.B., Gashururu, R.S., Umurerwa, L., Byaruhanga, C., Van Heerden, H. (2020). Seroprevalence and associated risk factors of bovine brucellosis at the wildlife-livestock-human interface in Rwanda. *Microorganisms*. 8:1553. doi: 10.3390/microorganisms8101553
- OIE. (2016). Infection with *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. Rome: OIE (World Organisation for Animal Health).
- Ojeda, C.J.J. (2013). Estimación de pérdidas económicas por abortos en la lechería en pequeña escala en el sur oriente del estado de México. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca. México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/63965>
- Ojeda-Carrasco, J.J., Espinosa-Ayala, E., Hernández-García, P.A., Rojas-Martínez, C., Álvarez-Martínez, J.A. (2016). Seroprevalencia de enfermedades que afectan la reproducción de bovinos para leche con énfasis en *neosporosis*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 3(8):243-249.
- Oloffs, A., Baumann, M.P.O., Afema, J., Nakavuma, J. (1998). Experiences with a strategy to investigate bovine brucellosis in a rural area in southwest Uganda. *Revue d'Élevage et Médecine Veterinaire des Pays Tropicaux*. 51:101–105.



- Olsen, S., & Tatum, F. (2010). Bovine Brucellosis. *Veterinary Clinics of North América - Food Animal Practice*. 26:15-27.
- Olsen, S., Tatum, F. (2010). Bovine brucellosis. *Veterinary Clinics of North América: Food Animal Practice*. 26:15–27.
- Olsen, S.C., Boyle, S.M., Schurig, G.G., Sriranganathan, N.N. (2009). Immune responses and protection against experimental challenge after vaccination of bison with *Brucella abortus* strain RB51 or RB51 overexpressing superoxide dismutase and glycosyltransferase genes. *Clinical Vaccine Immunology*. 16:535–540.
- Oseguera Montiel, D., Bruce, M., Frankena, K., Udo, H., Van der Zijpp, A., & Rushton, J. (2015). Financial analysis of brucellosis control for small-scale goat farming in the Bajío region, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine* 118:247–259.
- Paixão, T.A., Roux, C.M., Den Hartigh, A.B, Sankaran-Walters, S., Dandekar, S., Santos, R.L., Tsolis. R.M. (2009). Establishment of systemic *B. melitensis* infection through the digestive tract requires urease, the type IV secretion system, and lipopolysaccharide O antigen. *Infection and Immunity*. 77:4197-208.
- Pal, M., Gizaw, F., Fekadu, G., Alemayehu, G., & Kandi, V. (2017). Public health and economic importance of bovine brucellosis: An Overview. *American Journal of Epidemiology and Infectious Disease* 5:27-34.
- Panchasara, H. (2012). Economic implications of brucellosis in bovine. *Indian J F Vet*. 8:19–21.
- Pappas, G. (2010). The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 36:8-11.
- Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L., and Tsianos, E. (2006). The new global map of human brucellosis. *Lancet Infectious Diseases* 6:91–99.
- Patel, M.D., Patel, P.R., Prajapati, M.G., Kanani, A.N., Tyagi, K.K., & Fulsoundar, A.B. (2014). Prevalence and risk factor's analysis of bovine brucellosis in peri-urban

- areas under intensive system of production in Gujarat, India. *Veterinary World*. 7:509–516.
- Pathak, A.D., Dubal, Z.B., Karunakaran, M., Doijad, S.P., Raorane, A.V., Dhuri, R.B., Barbuddhe, S.B. (2016). Apparent seroprevalence, isolation and identification of risk factors for brucellosis among dairy cattle in Goa, India. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 47:1–6.
- Pizarro-Cerdá, J., Moreno, E., Gorvel, J.P. (2000). Invasion and intracellular trafficking of *B. abortus* in nonphagocytic cells. *Microbes and Infection*. 2:829-835.
- Poester, F.P., Nielsen, K., Samartino, L.E., Ling, Y.W. (2010). Diagnosis of Brucellosis. *Open Veterinary Science Journal*. 4:46-60.
- Ran, X., Cheng, J., Wang, M., Chen, X., Wang, H., Ge, Y., Ni, H., Zhang, X.X., Wen, X. (2019). Brucellosis seroprevalence in dairy cattle in China during 2008–2018: A systematic review and meta-analysis. *Acta Trópica* 189:117-123.
- Reichel, M.P., Ayanequi-Alcérreca, M.A., Gondim, L.F., Ellis, J.T. (2013). What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle the billion dollar question. *International Journal for Parasitology*. 43:133-142.
- Rivera, G.H., Benito, Z.A., Ramos, C.O., Manchego, S.A. (2004). Prevalencia de Enfermedades de Impacto Reproductivo en Bovinos de la Estación Experimental del Trópico del centro de Investigaciones IVITA. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 5(2):120-126.
- Rivers, R., Andrews, E., González-Smith, A., Donoso, G., & Oñate, A. (2006). *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 38:7-18.
- Romero, S.D. (2008). Estudio UV causas de abortos en bovinos. *Universo No. 308*. Universidad Veracruzana. <https://www.uv.mx/universo/308/infgral/infgral34.htm>
- Romero, S.D. (2012). Enfermedades que causan abortos en la ganadería bovina. Folleto Técnico. ISBN: 978-607-00-5956-8  
<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/131663>

- Ronda, B.P. (2012). Incidencia y factores de riesgo asociados al síndrome aborto bovino en vacas lecheras de la zona central. Monografía licenciatura. Universidad de Chile. Santiago, Chile. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/131663>
- SAGARPA. (2013). Anuario estadístico de la producción agropecuaria. Delegación Comarca Lagunera. <http://www.sagarpa.gob.mx/dlg/laguna/ANUARIO%202007.pdf>. (11, julio, 2013).
- Sanz, C., Sáez, J.L., Alvarez, J., Cortes, M., Pereira, G., Reyes, A., Rubio, F., Martín, J., García, N., Domínguez, L., Hermoso-de-Mendoza, M., Hermoso-de-Mendoza, J. (2010). Mass vaccination as a complementary tool in the control of a severe outbreak of bovine brucellosis due to *Brucella abortus* in Extremadura, Spain. Preventive Veterinary Medicine. 97:119–125.
- Scholz, H.C., Nöckler, K., Lleras, C.G., Bahn, P., Vergnaud, G., Tomaso, H., De, B.K. (2010). *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 60:801–808.
- Schurig, G.G., Roop, R.M., Bagchi, T., Boyle, S., Buhrman, D., Sriranganathan, N. (1991). Biological properties of RB51; a stable rough strain of *Brucella abortus*. Vet Microbiol. 28:171–188.
- Schurig, G.G., Sriranganathan, N., Corbel, M.J. (2002). Brucellosis vaccines: past, present and future. Veterinary Microbiology 90:479–496.
- Shome, R. (2014). Bovine Brucellosis in Organized Farms of India - An Assessment of Diagnostic Assays and Risk Factors. Advances in Animal and Veterinary Sciences. 2:557–564.
- Simsek, S., Utuk, A.E., Koroglu, E., Dumanli, N., Risvanli, A. (2008). Seroprevalence of *Neospora caninum* in repeat breeder dairy cows in Turkey. Archiv fur Tierzucht. 51:143–148.

- Singh, B.B., Kostoulas, P., Gill, J.P.S., & Dhand, N.K. (2018). Cost-benefit analysis of intervention policies for prevention and control of brucellosis in India. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006488>
- Singh, R., Basera, S.S., Tewari, K., Yadav, S., Joshi, S., Singh, B., & Mukarji, F. (2012). Safety and immunogenicity of *Brucella abortus* strain RB51 vaccine in cross bred cattle calves in India. *Indian Journal of Experimental Biology* 50(3):239–242.
- Tenhagen, B., Helmbold, A. and Heuwieser, W. (2007). Effect of various degrees of dystocia in dairy cattle on calf viability, milk production, fertility and culling. *Journal of Veterinary Medicine*. 54:98–102.
- Thompson, J.R., Pollak, E.J., Pelissier, C.L. (1983). Interrelationship of parturition problems, production of subsequent lactation, reproduction and age at first calving. *Journal of Dairy Science*. 66:1119-1127.
- Van Campen, H., Rhyan, J. (2010). The role of wildlife in diseases of cattle. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 26:147–161.
- Van Metre, D.C., Kennedy, G.A., Olsen, S.C., Hansen, G.R., Ewalt, D.R. (1999). Brucellosis induced by RB51 vaccine in a pregnant heifer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 215:1491–1493.
- Vassalos, C.M., Economou, V., Vassalou, E., Papadopoulou, C. (2009). Brucellosis in humans: why is it so elusive? *Reviews in Medical Microbiology*. 20:63-73.
- Verger, J.M., Grimont, F., Grimont, P.A.D., Grayon, M. (1985). *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 35:292-295.
- Verma, S., Katoch, R.C., Sharma, M., Nigam, P. (2000). Abortions and infertility in livestock due to brucellosis in Himachal Pradesh, India. *Veterinarski Arhiv*. 70:75–82.
- Vermorel, M., Vernet, J., Dardillat, C., Saïdo, Demigne, C., Davicco, M.J. (1989). Energy metabolism and thermoregulation in the newborn calf; effect of calving conditions. *Canadian Journal of Animal Science*. 69:113–122

- Waldner, C.L., Rosengren, L. (2009). Factors associated with serum immunoglobulin G levels in beef calves from Alberta and Saskatchewan and associations between passive transfer and health outcomes. *Canadian Veterinary Journal*. 50:275–283.
- Yang, N., Cui, X., Qian, W., Yu, S., Liu, Q. (2012). Survey of nine abortifacient infectious agents in aborted bovine fetuses from dairy farms in Beijing, China, by PCR. *Acta Veterinaria Hungarica* 60:83-92.
- Yildiz, K., Kul, O., Babur, C., Kilic, S., Gazyagci, A.N., Celebi, B., Gurcan, I.S. (2009). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. *Veterinary Parasitology*. 164:306–310.