

## Hallazgos histopatológicos en bovinos naturalmente afectados por el síndrome neuroparalítico en la Orinoquía colombiana

Diego Ortiz Ortega<sup>1</sup>, MV, MSc.; Efraín Benavides Ortiz<sup>1</sup>, MV, MSc., PhD.

<sup>1</sup>Programa Nacional de Salud Animal. Centro de Investigación en Salud y Producción Animal, CEISA. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Apartado aéreo 39144. Bogotá D.C., Colombia\*. dortiz@corpoica.org.co  
ebenavid@hemeroteca.icfes.gov.co

(Recibido: 5 septiembre, 2000; aceptado: 27 noviembre, 2001)

### Resumen

*Como parte de un estudio epidemiológico longitudinal desarrollado en la Altillanura del departamento del Meta durante un año (1998-1999), y con el fin de determinar alteraciones de patología macroscópica y cambios histopatológicos asociados al Síndrome Neuroparalítico Bovino (SNB), se estudiaron 39 bovinos entre 2 y 8 años de edad, los cuales se encontraban afectados naturalmente por esta causa. Se procesaron muestras de 305 tejidos por la técnica de inclusión en parafina, para determinar las principales lesiones histopatológicas. En la necropsia los hallazgos más importantes fueron la presencia de cuerpos extraños (huesos, arcilla, piedras, madera) en el rumen y retículo; en la mayoría de los casos ocurrió compactación del librillo y vesícula biliar pletórica. La congestión de envolturas cerebrales fue una alteración común en todos los casos. Los hallazgos histopatológicos más relevantes incluyeron cambios vasculares en tejido nervioso, dados por edema, congestión, hemorragia e hiperplasia de células endoteliales; cambios grasos intracitoplasmáticos y megalocitosis en hepatocitos; en el riñón, infiltrados mononucleares en glomérulos y túbulos contorneados con vacuolización intracitoplasmática; hialinización y fragmentación de miofibrillas en músculo estriado esquelético y presencia de *Sarcocystis bovis* y necrosis de Zenker en músculo estriado cardíaco. Se confirma que el Botulismo bovino no produce alteraciones microscópicas de valor; las otras alteraciones son compatibles con Neurotoxicidad Retardada por Pesticidas, deficiencias energéticas y leptospirosis.*

**Palabras clave:** Botulismo, Histopatología, Neurotoxicidad, Pesticidas, *Sarcocystis*.

### Introducción

Desde inicios de la década de los años noventa, la ganadería bovina de la Orinoquía colombiana ha venido siendo afectada por un problema emergente de mortalidad de animales adultos, caracterizado por una sintomatología de naturaleza nerviosa; Esta enfermedad ha venido siendo denominada Síndrome Neuroparalítico Bovino (SNB) (14).

Distintas observaciones realizadas por veterinarios de campo o de instituciones indicaron que la enfermedad se caracterizaba por afectar principalmente el grupo de vacas y novillas, lactantes o en último tercio de gestación, generalmente en buen estado de carnes. El cuadro clínico de los animales se destacaba por ser de naturaleza neuroparalítica, los síntomas predominantes eran: erizamiento de la piel, andar tambaleante, debilidad progresiva de los miembros posteriores, mirada vidriosa,

\* Dirección para solicitar reimpresos

finalizando en caída del animal, decúbito y muerte en medio de parálisis respiratoria (3, 19, 21).

Varios grupos de trabajo dedicados, bien al diagnóstico o a la investigación, han tratado de abocar esta problemática y a través del tiempo se han sugerido diversas etiologías como causa de esta mortalidad; dentro de las causas propuestas se destaca: la intoxicación por nitratos y nitritos (17), deficiencia de tiamina (18), deficiencia mineral generalizada (6, 9, 16), causas múltiples (19) y el botulismo bovino (3, 12, 21). Sin embargo, la mayoría de los citados autores no soportan evidencias que permitan confirmar de manera inequívoca la etiología de la enfermedad.

Durante 1997 y 1998 nuestro grupo de trabajo logró confirmar la presencia de toxinas de *Clostridium botulinum* tipos C y D en muestras de tejidos obtenidos a partir de animales afectados por el síndrome (4), confirmando así esta etiología. El problema no es nuevo en la región ya que desde la década de los años 70 se había reportado un cuadro de mortalidad similar en el cual se sugirió la presencia de botulismo (7); sin embargo, durante la última década se ha convertido en un problema emergente de características epidémicas. Situación similar se ha presentado en otros países de Sudamérica, incluyendo Venezuela (10, 14) donde se ha denominado Síndrome Parapléjico de Santa María de Ipire; y en Brasil donde se conoce como “doença da vaca caída” (15).

Para atender este problema, en 1998 se inició un proyecto de investigación epidemiológica “Alternativas de solución para el problema de mortalidad bovina en la Orinoquía colombiana” cofinanciado por PRONATTA (Programa Nacional de Transferencia de Tecnología Agropecuaria del Ministerio de Agricultura) y CORPOICA, el cual, basado en un estudio epidemiológico transversal y uno longitudinal, buscó obtener un conocimiento más razonable sobre el problema para poder formular alternativas de control. En este reporte se resumen los hallazgos histopatológicos de muestras recolectadas en el estudio longitudinal, a partir de animales afectados por el síndrome.

### **Materiales y métodos**

El estudio longitudinal consistió en el seguimiento de los casos de mortalidad causados por el SNB en cuatro fincas de la Altillanura del departamento del

Meta dedicadas a la cría de tipo extensivo, seleccionadas por conveniencia, durante un año (Mayo 1998 a abril 1999); se presentó mortalidad sólo en tres de ellas. Con el fin de determinar las alteraciones de patología macroscópica y los principales cambios histopatológicos asociados al SNB, se estudiaron 39 bovinos, entre 2 y 8 años de edad, los cuales se encontraban afectados naturalmente por el Síndrome.

Los animales involucrados en el estudio fueron casos incidentes. El criterio de selección de los animales fue definido como animales que en buena condición de un momento a otro presentaron síntomas de debilidad de los miembros posteriores y compromiso del sistema nervioso que empezara por parálisis progresiva caracterizada en un principio por dificultad al caminar, caída de la cola, seguida de caída de los animales en estado de alerta, postración en decúbito y posterior muerte en medio de dificultad respiratoria al cabo de 3 días; sintomatología que corresponde a la descripción de SNB (3,14). Patologías que cursaran con sintomatología diferente fueron descartadas.

A los animales involucrados en el estudio, se les realizó una necropsia completa y se tomaron tejidos de los diferentes órganos, los que se fijaron en solución de formaldehído ( $\text{CH}_2\text{O}$ , SIGMA®, Chemical Company, St. Louis, U.S.A) tamponado al 4% para histopatología y fueron trasladados para su procesamiento al laboratorio en el Centro de Investigación en Salud Animal, CEISA, en la ciudad de Bogotá.

Una vez en el laboratorio, los tejidos se sometieron al proceso de deshidratación con alcohol etílico en concentraciones crecientes y se aclararon con xilol ( $\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$  Fischer Scientific Company, New Jersey, USA.). Posteriormente se incluyeron en parafina a una temperatura de 60° C. Los cortes se realizaron en micrótomos de rotación con un espesor de 4  $\mu\text{m}$ . Se montaron en láminas portaobjeto y se desparafinaron para posteriormente realizar el proceso inverso y proceder a la coloración con hematoxilina ( $(\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6)$ , SIGMA®, Chemical Company, St. Louis, U.S.A.) y eosina ( $(\text{C}_{20}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_9\text{Br}_2\text{Na}_2)$ , SIGMA®, Chemical Company, St. Louis, U.S.A.); además para algunos casos se realizaron algunas coloraciones diferenciales que incluyeron Ziehl Neelsen, Acido Periódico de Schiff (PAS) y coloración de Gram para tejidos (1). La lectura de las láminas se realizó en microscopio óptico binocular con objetivos de 4X, 10X, 40X y 100X.

## Resultados

El estudio comprendió un total de 39 casos, correspondiente cada uno a una necropsia, las que fueron realizadas en animales afectados por el SNB y que fue posible examinarlos vivos o en corto tiempo luego de su muerte, antes de que los tejidos se autolizaran. En las necropsias, como norma general, no se encontraron lesiones macroscópicas relevantes, excepto la presencia de cuerpos extraños (huesos, arcilla, piedras, madera) en el rumen y retículo; en los 39 casos se observó compactación del librillo y vesícula biliar pletórica.

La congestión de envolturas cerebrales fue un hallazgo común en 36 casos. Los hallazgos histopatológicos se describen en la tabla 1. Allí es factible observar que otros cambios frecuentes fueron: la congestión en diversos órganos (36 casos positivos), dentro de los que se destaca

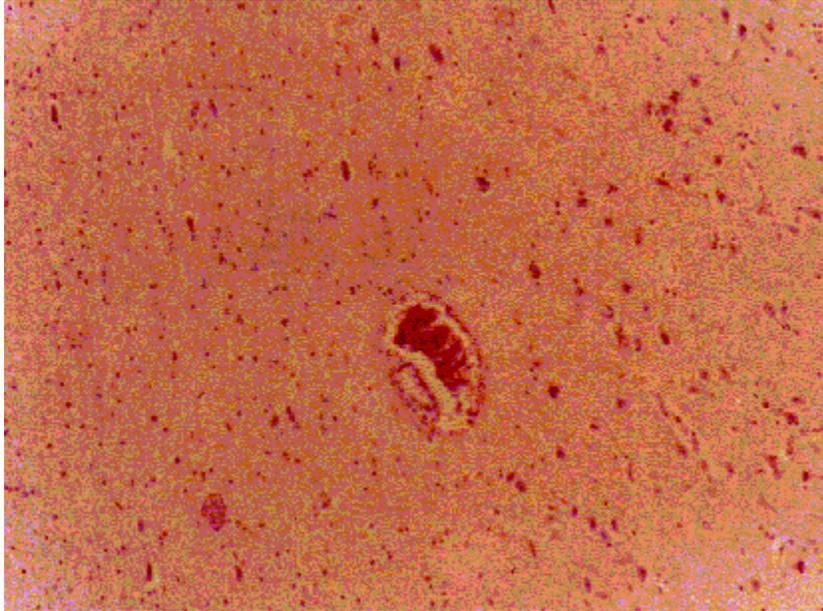
sistema nervioso, bazo, glándula adrenal y riñón; además la hemorragia (en sistema nervioso principalmente, 13 casos) y el edema (13 casos) se observaron como los cambios más frecuentes.

Algunos cambios como la hiperplasia de células endoteliales, la gliosis y el edema perivascular en sistema nervioso (véase Figura 1), ligado a la hialinización y fragmentación de miofibrillas en músculo estriado esquelético, sugieren que estos casos pueden ser compatibles con Neurotoxicidad Retardada por Pesticidas (20).

Se destaca que en once de los 39 casos estudiados fue posible hallar la presencia del parásito *Sarcocystis bovis* insertado en las fibras del músculo estriado cardíaco (véase Figura 2) y en tres de esos casos, adicionalmente se halló necrosis de Zenker.

**Tabla 1.** Hallazgos histopatológicos en animales afectados naturalmente por el Síndrome Neuroparalítico Bovino, en tres fincas de la Altillanura Plana del departamento del Meta (1998 - 1999).

DIAGNOSTICO	TEJIDOS	Nº Casos
Absceso en capa muscular, submucosa y lamina propia	Duodeno	2
Antracosis, engrosamiento de septos interalveolares	Pulmón	3
Congestión	Cerebelo, cerebro, bazo, glándula adrenal, pulmón, riñón, hígado, útero, hipocampo	36
Degeneración vacuolar intracitoplasmática	Hígado	8
Edema	Cerebro, pulmón, riñón	13
Enfisema	Pulmón	6
Fibrosis	Riñón, Hígado	3
Gliosis difusa, satelitosis, neuronofagia	Cerebro	3
Hemorragia	Cerebro, cerebelo, hipocampo	13
Hepaticización gris, neutrófilos	Pulmón	2
Hialinización y fragmentación de miofibrillas	Músculo estriado esquelético	6
Hiperplasia de células endoteliales	Cerebro	5
Infiltrado mononuclear en zona corticomedular, en glomérulos y túbulos contorneados, tumefacción y vacuolización citoplasmática de túbulos proximales distales y contorneados.	Riñón	4
Megalocitosis	Hígado	6
Presencia de células mononucleares linfocitos en zona periportal, fibrosis triadas portales	Hígado	2
Presencia de polimorfonucleares neutrófilos	Ganglio linfático	3
<i>Sarcocystis bovis</i>	Músculo estriado cardíaco	11
<i>Sarcocystis bovis</i> , necrosis de Zenker	Músculo estriado cardíaco	3



**Figura 1.** Histopatología de cerebro de un animal afectado por el Síndrome Neuroparalítico Bovino; se destaca la hiperplasia de células endoteliales, gliosis, y edema perivascular. Hematoxilina y Eosina (X400).

### Discusión

En estudios similares realizados en Venezuela, reportan que no se encontraron lesiones microscópicas relevantes (10); macroscópicamente se describe la presencia de cuerpos extraños (huesos, piedras, pedazos de hierro o madera). En Brasil se reporta que el 31.2% de vacas incluidas en un estudio epidemiológico presentaron fragmentos de huesos en el interior del retículo y rumen confirmando que los animales presentaban alotriofagia (15). Durante el estudio transversal de la presente investigación se asoció la presencia de enfermedad al consumo de huesos y materias extrañas por parte de los animales, en su intento por suplir las deficiencias minerales existentes en la región.

Los hallazgos encontrados en sistema nervioso son compatibles con los reportados en casos de la región por González (11), quien manifiesta que en los tejidos por él analizados, encontró en cerebro gliosis difusa, congestión y vacuolización intracitoplasmática; se afirma que la gliosis constituye una forma de reacción inflamatoria proliferativa que es evidente cerca de una semana después de una agresión anóxica o tóxica (13).

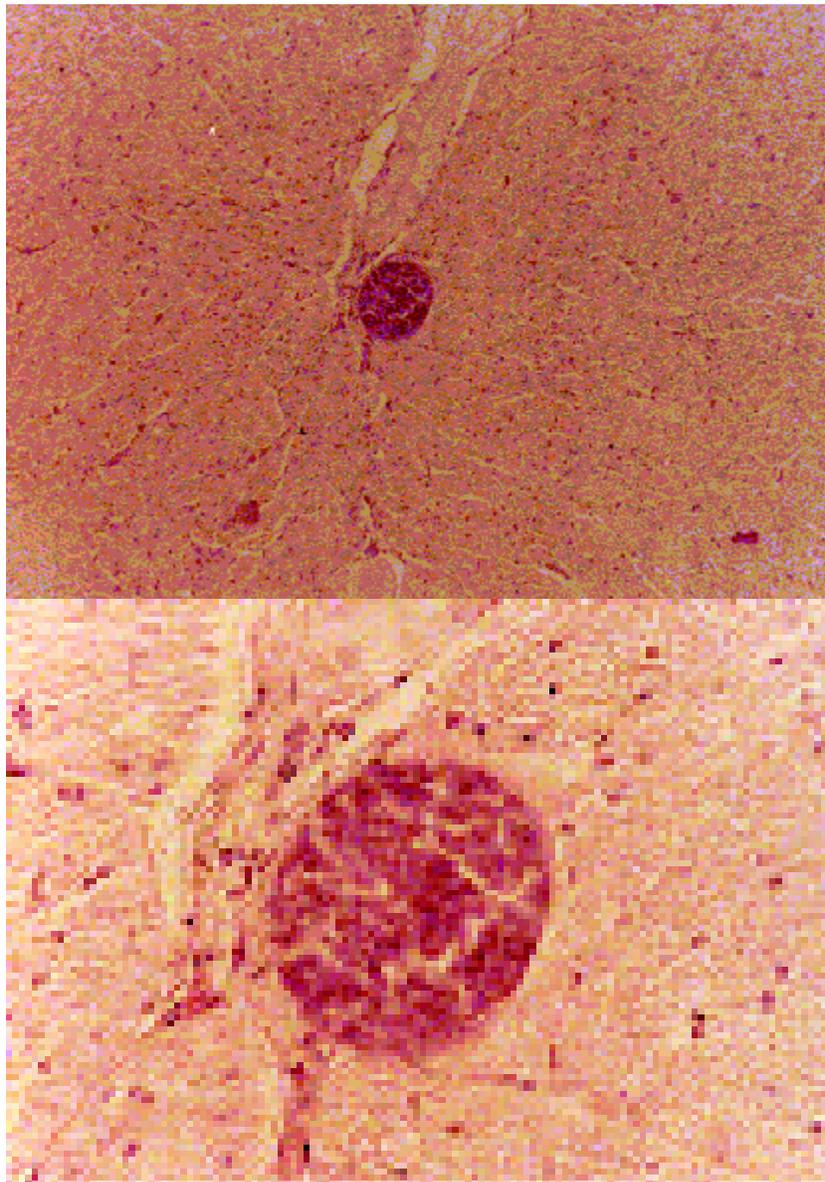
Los hallazgos asociados a neurotoxicidad retardada son compatibles con lo reportado por Torres (20); quien

indica que se han descrito síntomas y lesiones de Neurotoxicidad Retardada en diferentes especies animales con el di-isopropil-fosforofluotidate (DFP), el bismonopropil fosforodiamino-fluoride (Miphafox®), con el 0-(-4-bromo-2-5-diclorofenil)(0-metilfenil fosfonotiotate) o Leptofhosâ, el 0.(2 dicloro-4-bromofenil)(0-metilfenilfosforotiotate (Phosvelâ), el 0-0 bis (2 cloroetil) 0 (3 cloro- 7 hidroxil, 4 metil coumarin fosfate (Haloxonâ o Gloxoneâ) y el Carbarylâ (Carbamato), entre otros.

La patogenesis de este síndrome no está bien determinada pero se sugieren por lo menos dos mecanismos de neurotoxicidad causados por los compuestos organofosforados y carbamatos: uno debido a la inhibición de una «esterasa neurotóxica» y el segundo por una posible reacción hiperérgica del sistema nervioso, en el cual el tóxico actuaría como estímulo antigénico. En cualquiera de los casos el tratamiento con difenhidramina no fue efectivo, como si lo fue en casos de intoxicación aguda por estos pesticidas, seguramente porque este fármaco actúa a nivel enzimático y no a nivel inmunológico. La mayoría de los casos de «Neurotoxicidad» se presentan varios días (2 a 15 días) después de suministrarse una sola dosis del compuesto tóxico, por lo tanto, tampoco se puede descartar la mala dosificación de los baños garrapaticidas (20).

La degeneración grasa del hígado, acompañada en seis casos por megalocitosis, demuestra que en esta finca existen problemas hepáticos, los cuales podrían ser de etiología tóxica o por desbalance nutricional. El desequilibrio entre aporte, utilización y síntesis de lípidos por la célula se traduce en degeneración grasa. Se produce una lipólisis excesiva movilizante de la grasa cuando hay un gran aumento de su utilización para producir energía. Esto ocurre con frecuencia cuando es deficiente la utilización de los carbohidratos en caso de inanición y diabetes. Los triglicéridos pueden

acumularse en los hepatocitos a causa de la inexistencia de fosfolípidos necesarios para la síntesis de lipoproteínas. La carencia de colina interfiere la síntesis de fosfolípidos, en cuyo caso se forman lipoproteínas anormales y los triglicéridos se acumulan. Cambios similares se producen por sustancias como tetracloruro de carbono, aflatoxinas y etanol (5). Por otra parte, en la región se ha descrito la presencia de agentes hepatotóxicos, tales como el hongo *Pithomyces chartarum*, el cual se ha relacionado con la producción de la Fotosensibilización Hepatotóxica



**Figura 2.** Histopatología de músculo cardíaco de un animal afectado por el Síndrome Neuroparalítico Bovino, donde se observa un esquizonte de *Sarcocystis bovis* insertado al lado de las células y fibras de Purkinje. Hematoxilina y Eosina (Superior X100; inferior X400).

del ganado asociada al pastoreo de *Brachiaria decumbens* (8); la presencia de éste y otros agentes hepatotóxicos podría ayudar a explicar las lesiones halladas, las cuales es claro, no poseen relación con el SNB.

La presencia de *S. bovis* y la degeneración de Zenker, es un hallazgo frecuente, y se ha descrito en varias publicaciones (11, 14, 19). La patogenicidad del *S. bovis* todavía no es clara, a pesar de que los microorganismos pueden ser numerosos en el músculo cardiaco y esquelético de todo el huésped. En la mayoría de los casos el sarcolema está desplazado, pero no existe una evidente reacción inflamatoria. En algunos corazones bovinos intensamente parasitados, las fibras de Purkinje contienen muchos *S. bovis*, pero no se sabe si su presencia tiene alguna consecuencia sobre el sistema de conducción. A veces se observa mitosis y necrosis muscular asociada a los *S. bovis*, pero es muy difícil establecer una relación causa-efecto valedera. En la actualidad se interpreta que la ruptura de los *S. bovis* estimula el desarrollo de una reacción inflamatoria que puede adquirir naturaleza granulomatosa (13).

Las lesiones renales son compatibles con leptospirosis. Esta enfermedad en bovinos se puede manifestar en la forma septicémica aguda o como tipo nefrótico, siendo este último pocas veces fatal. Las lesiones microscópicas más importantes radican en el epitelio tubular. Las células epiteliales de los túbulos afectados presentan citoplasma tumefacto o vacuolado que a veces aparece fragmentado y desprendido de las células. Los túbulos lesionados están rodeados por masas densas de leucocitos, en especial linfocitos y células plasmáticas (13). Gran parte de los hallazgos histopatológicos concuerdan con lo reportado por otros autores (11).

Se comprobó a través de la necropsia de animales muertos la presencia de cuerpos extraños en el rumen

y retículo (fragmentos de hueso principalmente), lo que demuestra que los animales presentaban alotriofagia, alteración del apetito que llevó a los animales a consumir sustancias no alimenticias, comportamiento inducido por las deficiencias minerales en la dieta, especialmente fósforo y calcio.

Se demostró que las lesiones histopatológicas de algunos casos eran compatibles con neurotoxicidad retardada por pesticidas en bovinos.

Algunas lesiones hepáticas indican una marcada deficiencia energética, la que estimula la utilización de grasas e induce los cambios vacuolares intracitoplasmáticos que se traducen en degeneración celular.

Existen algunos factores que podrían estar asociados a la problemática de neurotoxicidad retardada, que aunque no se han referenciado fueron detectados en el estudio transversal, como es el hecho de que muchos de los ganaderos de la zona utilizan productos recomendados para uso agrícola como acaricidas o insecticidas, los cuales tienen costos inferiores a las formulaciones dadas para fines veterinarios por las casas comerciales. El uso indebido de estos productos y de productos comerciales indicados como acaricidas o mosquicidas no es el mejor (diluciones inapropiadas), indicando un desconocimiento por parte de los ganaderos sobre la forma de aplicarlos y pueden desencadenar como se demuestra en este artículo problemas de neurotoxicidad retardada.

Es necesario profundizar más en este tema, desarrollando proyectos multidisciplinarios (que incluyan toxicólogos), que permitan identificar el impacto medioambiental que ocasionan los pesticidas, no solamente en los animales sino en las fuentes de alimento y de agua, para entender el papel que juegan en el problema de mortalidad.

### Agradecimientos

Los autores brindan especiales agradecimientos a todo el personal de campo y de laboratorio involucrado en éste proyecto, se hace un reconocimiento especial al Sr. Ancizar Fernández del laboratorio de histopatología de ICA-CEISA, por el procesamiento de las muestras. Se destaca el vital apoyo brindado por las directivas de PRONATTA y de CORPOICA el cual aseguró la exitosa culminación de este estudio.

### Summary

#### *Histopathological changes in naturally affected bovine by Neuroparalytic Syndrome in Colombian Orinoquía*

*As part of an epidemiological longitudinal study conducted in the Altillanura of the department of Meta during a year (1998-1999) and with the purpose of determining gross pathology alterations and histopathological changes associated with the Bovine Neuroparalytic Syndrome, 39 bovines between two and eight years of age, affected naturally by the disease, were studied. Tissues from 305 samples were processed by the paraffin inclusion technique to determine the main histopathological lesions. At necropsy the more important findings were the presence of foreign bodies (bones, clay, stones, wood) in the rumen and the reticulum; in the majority of cases compactation of omasum and gall bladder plethora were observed. The congestion of meninx was a common change observed. The more relevant histopathological findings included vascular changes in neural tissues, mainly oedema, congestion, haemorrhage and hyperplasia of endothelial cells; fat intracytoplasmic inclusion and megalocytosis in liver cells; mononuclear infiltrates in glomerule and contorted tubule with intracytoplasmic vacuolization in kidneys; hyalinosis and myofibril fragmentation in skeletal striated muscles and the presence of *Sarcocystis bovis* and Zenker's necrosis in cardiac striated muscle. It was confirmed that bovine botulism produce no microscopic alterations of value; other changes are compatible with retarded neurotoxicity due to pesticides, energy deficiencies and Leptospirosis.*

**Key words:** Botulism, Histopathology, Neurotoxicity, Pesticides, Sarcocystosis.

### Referencias

1. Banks WJ. Histología Veterinaria Aplicada. 1ed en español. México, D.F. Editorial El Manual Moderno, S.A. 1986. 730 p.
2. Barrera J, Estrada A. Informe institucional de visita al municipio de la Primavera, departamento del Vichada. Villavicencio, Meta. Centro de Diagnóstico Veterinario, CORPOICA y División de Sanidad Animal ICA. 1994. 5p.
3. Benavides E, Benavides J, Altuzarra R, Ortiz D. Londoño B. *et al.* Botulismo bovino en Colombia: Avances de Investigación con relación al brote de mortalidad de Bovinos en la Orinoquía Colombiana, 1995 - 1996. Rev Col Cienc Pec 1997; 10: 53.
4. Benavides E; Ortiz D, Benavides J. Association of Botulism and Tetanus as Causative Agents of an Outbreak of Bovine Paraplegic Mortality in the Eastern Plains of Colombia. Annals of the New York Academy of Sciences 2000; 916: 646-649.
5. Cheville NF. Patología Celular. 1ed en español. Zaragoza (España). Editorial Acribia. 1980. 214 p.
6. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Informe Anual 1974. Editor: Gutiérrez M. Bogotá (Colombia). Impreso por Malaver & Cia. 1974. 402p.
7. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Informe Anual 1977. Editor: Gutiérrez M. Bogotá (Colombia). Impreso por Editorial Carrera Séptima Ltda. 1977. 447p.
8. García O, Aycardi E, Zuluága FN, Rivera B, Henao FJ. Aspectos Epidemiológicos de la Fotosensibilización Hepatotóxica asociada al pastoreo de *Brachiaria decumbens* en los Llanos Orientales de Colombia. Revista ACOVEZ 1982; 6(21): 5-11.
9. García O, Zuluága FN, Aycardi E. Causas de Mortalidad Bovina en una Ganadería de los Llanos Orientales de Colombia. Revista ACOVEZ 1984; 8(25): 39-46.
10. Garmendia JC, Pacheco G, Reina NY. El Síndrome Parapléjico de los Bovinos. En: Aspectos de Sanidad Animal en Areas Afectadas por el Síndrome Parapléjico del Bovino. Programa de Cooperación Agrícola Convenio MAC/PDVSA. Boletín No.2. Caracas (Venezuela). 1993; 19-34.
11. González HE. Memorando 079. Evaluación microscópica, resultados evaluación tejidos animales muertos. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Centro de Investigaciones en Salud y Producción Animal, CEISA. Centro de Diagnóstico Veterinario. 1993. 2p.
12. Huertas H, Brito E, Cárdenas D. Botulismo Bovino en los Llanos Orientales de Colombia. Boletín No.1. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Villavicencio (Meta). 1999; 16p.
13. Jones T, Hunt R. Patología Veterinaria. 1ed en español de la 5ed en inglés. Buenos Aires (Argentina). Editorial Hemisferio Sur S.A. 1990. 1761 p.
14. Linares T, Marquez N. Cuadro Clínico y Diagnóstico Diferencial de Enfermedades con Sintomatología Parecida al Síndrome Parapléjico Bovino (SPB). En: Aspectos de Sanidad Animal en Areas Afectadas por el Síndrome Parapléjico del Bovino. Programa de Cooperación Agrícola Convenio MAC/PDVSA. Boletín No.2. Caracas (Venezuela). 1993; 47-100.
15. Lisbôa J, Kuchembuck M, Dutra I, Gonçalves R, Almeida C, *et al.* Epidemiología e quadro clínico do botulismo

- epizoótico dos bovinos no estado de São Paulo. *Pesq Vet Brasil* 1996; 16(2/3): 67-74.
16. Morales G, Aycardi E, Guzmán VH, Uribe A. Sanidad Animal en el Trópico Andino y los Llanos Orientales. Suplemento Ganadero. Banco Ganadero. Bogotá (Colombia). 1986; 6(2): 1-64.
  17. Morales G, Peña N, García O. Informe de la comisión realizada a los departamentos del Meta y Vichada para atender la emergencia sanitaria en bovinos. Unidad de Información y Vigilancia Epidemiológica, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA 1994. 16 p.
  18. Mullenax C. Cattle Disease Unique to the Altillanura of the Eastern Plains (Llanos) of Colombia. *Bovine Practice* 1982; 3(2): 16-25.
  19. Parra J, Olarte F, Barrera J, Acevedo L. Mortalidad bovina en la Altillanura del Vichada. Informe técnico No. 01. Jaramillo CA (ed). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, Programa Regional Métodos de Transferencia de Tecnología, Regional 8. Villavicencio (Meta). 1997. 57 p.
  20. Torres JE. Neurotoxicidad Retardada por Pesticidas en Bovinos. *Revista ICA* 1983; 18(4): 355-361.
  21. Uribe A. La identificación de la causa etiológica, la prevención y el tratamiento de una enfermedad responsable de la mortalidad de bovinos en los departamentos del Meta, Vichada y Casanare. Informe Final del Proyecto de investigación financiado por el Fondo Nacional del Ganado, FEDEGAN. Bogotá (Colombia) 1996. 132 p.