

# EPIDEMIOLOGÍA DE LA BRUCELOSIS EN TRES ÁREAS PRODUCTORAS DE OVINOS DEL ESTADO DE VERACRUZ, MÉXICO

## EPIDEMIOLOGY OF BRUCELOSIS IN THREE SHEEP PRODUCTION AREAS OF THE STATE OF VERACRUZ, MEXICO

Daniela Lucia Román-Ramírez<sup>1</sup>, David Itzcoatl Martínez-Herrera<sup>1\*</sup>, Álvaro Enrique de Jesús Peniche-Cardena<sup>1</sup>, José Alfredo Villagómez-Cortés, Juan Felipe de Jesús Torres-Acosta<sup>2</sup>, Ricardo Flores-Castro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Circunvalación esquina Yáñez s/n, Colonia Unidad Veracruzana, Puerto de Veracruz, 91710, Veracruz, México. (mvzduroman@live.com.mx), (dmartinez@uv.mx), (apeniche@uv.mx), (avillagomez@uv.mx), Carretera Mérida-Xmatkuil Km 15.5, Tizapán, 97100, Mérida, Yucatán, México. (jftorresacosta@gmail.com), CENID Microbiología Animal-INIFAP, Km 15.5 Carretera México-Toluca, Colonia Palo Alto, 05110, Ciudad de México (florescastro@hotmail.com).

### RESUMEN

La brucelosis es una zoonosis con morbilidad alta y distribución mundial, causada por especies del género *Brucella* que afectan a otras especies productivas. Aunque se ha estudiado en forma amplia en bovinos y en caprinos, se desconoce el comportamiento epidemiológico de la enfermedad en ovinos, por lo cual el objetivo fue realizar un estudio epidemiológico (seroprevalencia, factores de riesgo y distribución espacial) de la brucelosis en las principales áreas de producción ovina del estado de Veracruz. Como hipótesis se esperaba una seroprevalencia del 50% con factores de riesgo asociados en las áreas elegidas de producción de ovinos. El estudio fue transversal polietápico y estratificado y se incluyeron 414 ovinos de 55 Unidades de Producción (UP) seleccionadas por conglomerados. El diagnóstico fue en serie con la prueba de tarjeta como tamiz e inmunodifusión radial como confirmatoria. La seroprevalencia se determinó con el programa en línea VassarStats y los Factores de Riesgo (FR) por razón de momios con el programa en línea Win Epi. La distribución espacial de las unidades de producción se georreferenció y los mapas de distribución espacial se elaboraron con el software QGIS 2.10.1. La seroprevalencia general fue 1% (IC<sub>95%</sub>: 0.3 a 2.6) y por unidad de producción fue 3.6% (IC<sub>95%</sub>: 0.6 a 13.6). No se identificaron factores de riesgo asociados con la presencia de brucelosis ovina, pero se confirmó seroprevalencia baja de la enfermedad en dos unidades de producción en los municipios de Perote y Altotonga.

### ABSTRACT

Brucellosis is a zoonosis with high morbidity and worldwide distribution, caused by species of the genus *Brucella* that affect other productive species. There is ample experience studying the disease in cattle and goats; however, its epidemiological behavior in sheep is unknown. Therefore, our objective was to carry out an epidemiological study (seroprevalence, risk factors, and spatial distribution) of brucellosis in the main sheep production areas of the state of Veracruz. As hypothesis, we expected a 50% seroprevalence with associated risk factors in the chosen sheep producing areas. The study was multistage cross-sectional and stratified, and included 414 sheep from 55 farm (UP, production units) selected by conglomerates. The diagnosis was serial with the card test as screening and radial immunodiffusion as confirmatory. We determined seroprevalence with the online program VassarStats and the Risk Factors (FR) for odds ratio with the online program Win Epi. Also, we geo-referenced the spatial distribution of the production units, and mapped them by using the QGIS 2.10.1 software. The overall seroprevalence was 1% (95% CI: 0.3 to 2.6) and per production unit was 3.6% (95% CI: 0.6 to 13.6). We identified no risk factors associated with the presence of ovine brucellosis, but confirmed the disease with low seroprevalence in two production units at the municipalities of Perote and Altotonga.

**Key words:** epidemiological study, ovine brucellosis, *Brucella* spp., seroprevalence, risk factors, spatial distribution.

\* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

Recibido: octubre, 2018. Aprobado: mayo, 2019.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 54: 661-672. 2020.

**Palabras clave:** estudio epidemiológico, brucelosis ovina, *Brucella* spp., seroprevalencia, factores de riesgo, distribución espacial.

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad crónica distribuida en el mundo y la bacteria del género *Brucella* es su etiología (Michaux-Charachon *et al.*, 1997; Castro *et al.*, 2005). Esta enfermedad es uno de los principales problemas de salud pública que se transmite de diversas especies animales al hombre y genera morbilidad alta. Además, es una de las zoonosis más importantes porque compromete la salud pública por la incapacidad laboral y costo alto de los tratamientos prolongados (Bano y Lone, 2015).

El contacto directo con animales infectados, sus membranas fetales y abortos, consumo de alimento contaminado con las bacterias, en particular leche y sus derivados sin pasteurizar, y manipulación de muestras para laboratorio sin protección, son las formas en las que se transmite el agente hacia el humano (Acha y Szyfres 2001). Entre las especies que afectan al humano, *Brucella melitensis* suele ser la más virulenta y genera la mayoría de los casos de la enfermedad. Los hospederos naturales de *B. melitensis* son ovinos y caprinos (Samartino, 2003). Sin embargo, *Brucella abortus* también puede infectar borregos de forma esporádica, pero rara vez produce la enfermedad clínica. Oceanía y Norteamérica, excepto México, están libres de los biovars 1, 2 o 3 de *B. melitensis*, los cuales afectan a ruminantes pequeños (Benavides, 2009).

En cultivo sobre agar, *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis* forman colonias lisas, redondas con bordes definidos; en cambio, *B. ovis* y *B. canis* muestran forma rugosa, con colonias redondas, brillantes y convexas. Este aspecto de las colonias se debe a la expresión del lipopolisacárido (LPS) en la superficie de cada especie: LPS-S en las lisas y LPS-R en las rugosas; aunque pueden ocurrir mutaciones que afecten a la expresión del LPS (Castro *et al.*, 2005). El LPS es el principal antígeno de la pared celular y es responsable por la respuesta humoral. En las cepas rugosas de *Brucella*, el LPS es semejante al de las cepas lisas pero no posee la cadena O, o posee sólo alguno de sus residuos (Fernandez-Prada *et al.*, 2001; 2003).

*Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis* pueden infectar al humano, pero los agentes que con mayor frecuencia causan la brucelosis humana

## INTRODUCTION

Brucellosis is a chronic disease distributed throughout the world and the bacterium of the genus *Brucella* is its etiology (Michaux-Charachon *et al.*, 1997; Castro *et al.*, 2005). This disease is one of the main public health problems transmitted from various animal species to humans, and generates high morbidity. Furthermore, it is one of the most important zoonoses because it compromises public health due to and the high cost of longer treatment (Bano and Lone, 2015).

The agent is transmitted to humans through direct contact with infected animals, their fetal membranes and abortion products, consumption of food, in particular milk and its unpasteurized derivatives, contaminated with bacteria and from unprotected laboratory manipulation of samples (Acha and Szyfres 2001). Among the species that affect humans, *Brucella melitensis* is usually the most virulent and generates most cases of the disease. The natural hosts for *B. melitensis* are sheep and goats (Samartino, 2003). However, *Brucella abortus* also can infect sheep sporadically, but rarely causes clinical disease. Oceania and North America, except Mexico, are free of biovar 1, 2 or 3 of *B. melitensis* that affect small ruminants (Benavides, 2009).

In agar culture, *B. abortus*, *B. suis* and *B. melitensis* form smooth, round colonies with even edges; instead, *B. ovis* and *B. canis* are rough in shape with round, shiny, and convex colonies. This aspect of the colonies is due to the expression of lipopolysaccharide (LPS) on the surface of each species: LPS-S in the smooth one and LPS-R in the rough; although mutations affecting LPS expression can occur (Castro *et al.*, 2005). The LPS is the main cell wall antigen and is responsible for the humoral response. In the rough *Brucella* strains, LPS is similar to that of the smooth strains but lacks the O chain, or has only some of its residues (Fernández-Prada *et al.*, 2001; 2003).

*Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* and *B. canis* can infect humans, but the agents that most frequently cause brucellosis in humans are *B. melitensis* (98%) and *B. abortus* (2%) (Álvarez-Hernández *et al.*, 2015). In animals, smooth strains are generally the most virulent and infect females, while rough species prefer males (Padrón-Tello *et al.*, 2011). *Brucella ovis* is more virulent in sheep than in any other species, and it particularly affects males (Corbel, 2006).

son *B. melitensis* (98%) y *B. abortus* (2%) (Álvarez-Hernández *et al.*, 2015). En animales, por lo general, las cepas lisas son las más virulentas e infectan a las hembras, mientras que las especies rugosas infectan a los machos (Padrón-Tello *et al.*, 2011). *Brucella ovis* es más virulenta para las ovejas que para cualquier otra especie, y afecta en particular a los machos (Corbel, 2006).

En cuanto al impacto productivo de los pequeños rumiantes, según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción ovina ocupa el segundo lugar en el mundo, y en México 71% de esta se realiza en el estado de México, seguido por los estados de Hidalgo y Veracruz (FAO, 2016). Para prevenir la enfermedad, la vacuna viva *B. melitensis* cepa Rev-1 se considera la mejor protección disponible contra la brucelosis en pequeños rumiantes (Blasco, 1997), aunque presenta algunos efectos adversos como: interferencia con el diagnóstico serológico con la pruebas de rosa bengala y fijación del complemento. Además, se excreta a través de la leche cuando se aplica en animales adultos y resulta infectante para las personas (Garín-Bastuji *et al.*, 2006; Pérez-Sancho *et al.*, 2014).

La brucelosis tiene graves implicaciones económicas en las unidades productivas, ya que ocasiona abortos en los animales y fallas reproductivas que impactan sobre las variables productivas (Bofill *et al.*, 1996). Además, esta enfermedad genera pérdidas importantes en la producción de carne y leche, y se vuelve una barrera para el comercio y la exportación de los animales, así como de sus productos (Acha y Szyfres, 2001; Tsegay *et al.*, 2015). Por lo tanto, para minimizar el riesgo de la enfermedad a través de su control, erradicación o ambos, en México, la Secretaría de Agricultura y Ganadería estableció la Campaña Nacional contra la Brucelosis en Animales (SAGAR, 1996).

Entre sus resultados, durante 2004 y 2005, se realizó una campaña de vacunación intensiva en pequeños rumiantes en la zona centro del estado de Veracruz. La cobertura alcanzó más del 90% de los rebaños, y disminuyó la incidencia de la brucelosis (Martínez-Herrera *et al.*, 2010; Román-Ramírez *et al.*, 2017). Veracruz cuenta con una campaña zoonosanitaria contra la brucelosis, con avances significativos en el control de esta infección en bovinos y caprinos. Sin embargo, en ovinos, cuya producción es

As for the productive impact of small ruminants, according to data from the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO), sheep production ranks second in the world; in Mexico, 71% of it is carried out in the state of Mexico, followed by the states of Hidalgo and Veracruz (FAO, 2016). To prevent the disease, the alive vaccine *B. melitensis* Rev-1 strain is considered the best available protection against brucellosis in small ruminants (Blasco, 1997), although it has some adverse effects such as interference with serological diagnosis by the Bengal rose and complement fixation tests. Besides, vaccine is eliminated through milk when applied to adult animals and is infective for humans (Garín-Bastuji *et al.*, 2006; Pérez-Sancho *et al.*, 2014).

Brucellosis has serious economic implications in the farms since it causes abortions in animals and reproductive failures that affect the productive variables (Bofill *et al.*, 1996). In addition, this disease generates significant losses in the production of meat and milk, and becomes a barrier to trade and export of animals and derivatives (Acha and Szyfres, 2001; Tsegay *et al.*, 2015). Therefore, to minimize the risk of the disease through measures of control, eradication or both, Mexico established the National Campaign against Brucellosis in Animals, run by SAGAR (1996).

As a result, between 2004 and 2005, there was an intensive vaccination campaign carried out among small ruminants in the central area of the state of Veracruz. More than 90% of the herds were covered, and the incidence of brucellosis decreased (Martínez-Herrera *et al.*, 2010; Román-Ramírez *et al.*, 2017). In the state of Veracruz there is a sanitary campaign against brucellosis in animals, with significant advances in the control of this infection in cattle and goats. However, on sheep, whose production is sparse in this state, there is no reliable epidemiological information.

Thus, as the state of Veracruz ranks third in the national sheep inventory, it is important to learn about the epidemiology of brucellosis. The objective of this study was to identify the seroprevalence, risk factors, and spatial distribution of brucellosis in sheep. The hypothesis assumes a seroprevalence value of 50% and some risk factors associated with the breedstock in three sheep-producing areas in the state of Veracruz.

más dispersa en la entidad veracruzana, se carece de información epidemiológica confiable.

Por lo tanto, debido a que el estado de Veracruz ocupa el tercer lugar en el inventario ovino nacional, es importante conocer la epidemiología de la brucelosis. El objetivo de este estudio fue conocer la seroprevalencia, los factores de riesgo y la distribución espacial de la brucelosis en ovejas. La hipótesis supone un valor de seroprevalencia del 50% con factores de riesgo asociados al ganado en tres áreas productoras de ovinos en el estado de Veracruz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

El estudio transversal polietápico y estratificado, se realizó de noviembre 2014 a mayo 2015 en tres áreas del estado de Veracruz. En los municipios: 1) Coatzintla, Gutiérrez Zamora, Papantla y Tihuatlán en la región Totonaca; 2) Altotonga, Ayahualulco, Emiliano Zapata, Jalacingo y Perote en la región de la capital del estado; y 3) Ángel R. Cabada, Santiago Tuxtla, San Andrés Tuxtla y Catemaco en la región de Los Tuxtlas, (INAFED, 2015).

Perote es el municipio con mayor número de ovejas y cabras en el estado, pero los municipios aledaños (Altotonga, Ayahualulco, Emiliano Zapata y Jalacingo) también poseen un inventario importante (SIAP, 2016). Los municipios seleccionados en la región Totonaca y en la región de Los Tuxtlas también tienen una cantidad importante de ovejas. En conjunto, las tres zonas escogidas agrupan alrededor de 90% del inventario ovino estatal.

La región Totonaca se ubica en el norte del estado, a lo largo de la planicie costera del estado de Veracruz y hacia la sierra norte de Puebla, donde predomina un paisaje montañoso. El relieve es plano, pero hay lomeríos, montañas y cañadas, y el clima es cálido húmedo. El uso de suelo se orienta a actividades del sector primario, con cerca del 90% de su territorio destinado a actividades agropecuarias, como cultivos y pastizales.

La región de la capital del estado se ubica en el centro del estado y su topografía es bastante accidentada, con varias elevaciones importantes. Predomina el clima templado y se destaca por su orientación de uso de suelo con cerca del 70% dedicado a actividades del sector primario. Los Tuxtlas es una región cercana a la costa, en la porción centro-sur del estado de Veracruz, que es una de las regiones más lluviosas en el país. En términos topográficos, la región de Los Tuxtlas es accidentada, con varias elevaciones y un relieve escarpado con alturas que van de 200 hasta más de 1700 m. Debido a las diferentes altitudes de la comarca, el clima varía de tropical a subtropical húmedo (INAFED, 2015; SIAP, 2016).

## MATERIALS AND METHODS

### Study design

The multistage cross-sectional, and stratified study was established from November 2014 to May 2015, in three areas of the state of Veracruz. At the municipalities: 1) Coatzintla, Gutiérrez Zamora, Papantla and Tihuatlán, in the Totonaca region; 2) Altotonga, Ayahualulco, Emiliano Zapata, Jalacingo and Perote, in the state Capital region; and 3) Ángel R. Cabada, Santiago Tuxtla, San Andrés Tuxtla and Catemaco in Los Tuxtlas region (INAFED, 2015).

Perote is the municipality with the largest number of sheep and goats in the state, but the neighboring municipalities (Altotonga, Ayahualulco, Emiliano Zapata and Jalacingo) also have an important inventory (SIAP, 2016). Selected municipalities in the Totonaca and Los Tuxtlas regions also have a significant number of sheep. Together, the three chosen areas comprise around 90% of the state sheep inventory.

The Totonaca region is located in the north of the state of Veracruz, along the coastal plain and towards the northern highlands of Puebla, where mountains border the landscape. Land relief is flat, but there are hills, mountains, and ravines, and the climate is humid warm. Land use is oriented to primary activities, about 90% of the land is agricultural, for crops and grasslands.

The state Capital region is located at the center of the state and its topography is quite rugged, with several important elevations. Temperate climate predominates and land use stands out for nearly 70% land dedicated to primary activities. Los Tuxtlas is a region near the coast, in the southern-central portion of the state of Veracruz, and one of the rainiest areas in the country. In topographic terms, the Los Tuxtlas region is rugged, with several elevations and a steep relief with heights ranging from 200 to over 1700 m. Due to the different altitudes of the region, the climate varies from tropical to humid subtropical (INAFED, 2015; SIAP, 2016).

We calculated the sample size with the online program Win Epi v. 2.0 (Thrusfield *et al.*, 2001; Thrusfield, 2005), with the «estimate percentages» procedure, and adjusted it to an estimated prevalence of 50% (95% confidence and 5% error). We did this on the assumption that there is a lack of information to establish the real prevalence of ovine brucellosis in the state; thus, we determined a minimum sample size of 381 sheep, and 414 samples were actually collected.

The number of farms (UP) for sampling was estimated using clusters according to the table of values proposed by Cannon and Roe (1982) for a prevalence of 50%, and obtained five UP per municipality and six sheep in each of them. Due to the possibility

El tamaño de muestra se calculó con el programa en línea Win Epi v.2.0 (Thrusfield *et al.*, 2001; Thrusfield, 2005), con el procedimiento 'estimar porcentajes' y se ajustó a una prevalencia estimada del 50% (95% de confianza y 5% de error). El supuesto parte de que se carece de información para establecer la prevalencia real de la brucelosis ovina en la entidad; así que se determinó un tamaño mínimo de muestra de 381 ovinos, y se recolectaron 414 muestras.

El número de unidades de producción (UP) para muestreo se estimó por conglomerados de acuerdo con la tabla de valores propuesta por Cannon y Roe (1982) para una prevalencia de 50%, y se obtuvieron cinco UP por municipio y seis borregos en cada una de ellas. Debido a la posibilidad de detectar anticuerpos maternos, no se consideraron las hembras menores a tres meses de edad. Por ello, solo se muestrearon de forma aleatoria todas las hembras mayores a tres meses, sin importar estado fisiológico y todos los machos que eran o serían destinados a sementales.

De estos ovinos se obtuvieron muestras de sangre sin anticoagulante, que se procesaron en serie con la Prueba de Tarjeta al 3% (PT) como tamiz, e Inmunodifusión Radial (IDR) como confirmatoria (OIE, 2008). La prueba de tarjeta emplea como antígeno *B. abortus* cepa 1119-3 a una concentración de 3% y corresponde a una cepa lisa de referencia internacional (SAGAR, 1996). Para la prueba confirmatoria con IDR se usó un antígeno que se obtiene de una cepa rugosa de *B. melitensis* B115, así como Ag de pared poli-B. Para identificar los factores de riesgo (FR), en cada UP se aplicaron dos encuestas, una general por UP y otra individual por ovino muestreado.

El cuestionario general consideró las variables sistema de producción (intensivo, semintensivo o extensivo), movilización de ovinos (sí/no), préstamo de sementales (sí/no), convivencia con otras especies animales (sí/no), manejo reproductivo (monta natural, monta controlada, inseminación artificial), manejo de la cría al nacer (toma o no de calostro; separación de la madre en paridero) y las medidas de higiene y bioseguridad (vacunación, desparasitación, desinfección, aislamiento y cuarentena).

El cuestionario individual consideró las variables: procedencia del ovino (de otro estado, de otra región del estado, del vecino, nacido en la UP), edad, estado e historial productivo, antecedentes clínicos compatibles con brucelosis ovina, ingesta de calostro y condición corporal. Además, se realizó un examen físico general de cada ovino para conocer las constantes fisiológicas e identificar cuadros patológicos pre-existentes.

### Análisis estadísticos

La seroprevalencia se calculó con el programa en línea VassarStats (Lowry, 1998-2019) para cálculo de proporciones, y para

of detecting maternal antibodies, we excluded females younger than three months old. Therefore, samples included only females older than three months, regardless of their physiological status, and any male that was or would be set as ram.

From these sheep we obtained blood samples without anticoagulant, which were serially processed with the 3% Card Test (PT) as a screening test and Radial Immunodiffusion (RID) as confirmatory (OIE, 2008). The card test uses the *B. abortus* strain 1119-3 as an antigen at 3% concentration and corresponds to a smooth international reference strain (SAGAR, 1996). For the confirmatory RID (radial immunodiffusion) test, we used an antigen obtained from a rough strain of *B. melitensis* B115, as well as the poly B wall Ag. To identify the risk factors (FR), we applied two surveys in each farm (UP), one general for UP and another individual per sampled sheep.

The general questionnaire considered the variables production system (intensive, semi-intensive or extensive); mobilization of sheep (yes/no); borrowing of rams (yes/no); coexistence with other animal species (yes/no); reproductive management (natural mating, controlled mating, artificial insemination); management of the calf at birth (colostrum intake or not; separation from the mother in farrowing) and hygiene and biosecurity measures (vaccination, deworming, disinfection, isolation, and quarantine).

The individual questionnaire considered the variables: sheep origin (from another state, another area of the state, neighboring, or born in the UP), age, state and productive background, clinical history compatible with ovine brucellosis, colostrum intake and body condition. In addition, we performed a general physical examination of each sheep to acknowledge physiological traits and identify pre-existent pathological conditions.

### Statistical analyses

Seroprevalence was calculated with the online program VassarStats (Lowry, 1998-2019) to estimate proportions, and to determine FR we employed the Odds Ratio test with the online program Win Epi v. 2.0 (Thrusfield *et al.*, 2001).

### Georeferencing

UP were georeferenced with a Garmin® GPS 60 device, at an error margin of  $\pm 3$  m, coordinates were recorded in UTM (Universal Transverse Mercator) at the foot of each UP. With this information, we mapped spatial distribution with the QGIS 2.10.1 program. (QGIS Development Team, 2017).



determinar los FR se utilizó la prueba de Razón de Momios con el programa en línea Win Epi v. 2.0 (Thrusfield *et al.*, 2001).

### Georreferenciación

Las UP se georreferenciaron con un dispositivo GPS 60, marca Garmin®, con un margen de error de  $\pm 3$  m, las coordenadas se registraron como UTM (Universal Transverse Mercator) al pie de cada UP. Con esta información se construyeron los mapas de distribución espacial con el programa QGIS 2.10.1. (QGIS Development Team, 2017).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Seroprevalencia por municipio

La seroprevalencia general para las tres regiones fue 1% ( $IC_{95\%}$ : 0.3 a 2.6), aunque las regiones Totonaca y de Los Tuxtlas resultaron negativas y los únicos municipios con borregos seropositivos fueron Perote y Altotonga, en la región de la capital del estado (Figura 1).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Seroprevalence by municipality

The general seroprevalence for the three regions was 1% ( $_{95\%}CI$ : 0.3 to 2.6), although the Totonaca and Los Tuxtlas regions were negative and the only municipalities with seropositive sheep were Perote and Altotonga, in the state Capital region (Figure 1).

Brucellosis cases were located in the central zone of the state of Veracruz, with seroprevalence values recorded in the municipalities of Perote (7.9%) and Altotonga (2.7%). These findings coincide with a study carried out with goats in which prevalence was 4.05% at the municipality of Perote, and 0.52% of general prevalence for goats in the central zone of the state of Veracruz (Román-Ramírez *et al.*, 2017). This figure shows that brucellosis exists in sheep in the central zone of Veracruz, but differs from studies conducted in other parts of the world.

In Tajikistan, seroprevalence value on sheep grazing in common areas was 11% (Rajala *et*

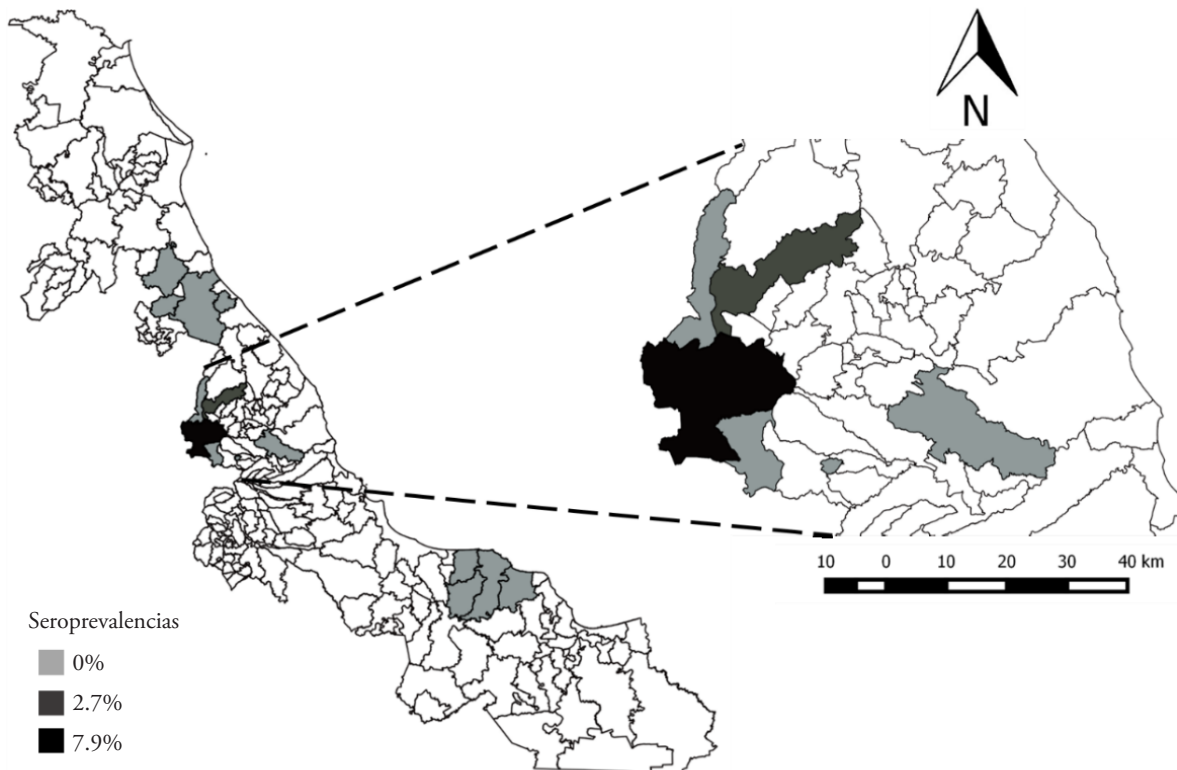


Figura 1. Seroprevalencia por municipio de la brucelosis ovina en el estado de Veracruz, México.  
Figure 1. Seroprevalence by municipality of ovine brucellosis in the state of Veracruz, Mexico.

Los casos de brucelosis se localizaron en la zona centro del estado de Veracruz, con valores de seroprevalencia en los municipios de Perote (7.9%) y Altotonga (2.7%). Estos hallazgos coinciden con un estudio realizado con cabras en el cual la prevalencia fue 4.05% para el municipio de Perote y la prevalencia general de 0.52% en cabras de la zona centro del estado de Veracruz (Román-Ramírez *et al.*, 2017). Esta cifra demuestra que la brucelosis se encuentra en ovinos en la zona centro de Veracruz, pero difiere de lo que concluyen estudios en otras partes del mundo.

En Tajikistan se identificó una seroprevalencia de 11% en ovinos que pastorean en áreas comunes (Rajala *et al.*, 2016). En el norte de Jordania, la seroprevalencia de brucelosis ovina fue 14.3% por prueba de tarjeta, 7.2% por ELISA y 2.2% al usar ambas pruebas en serie (Al-Talafhah *et al.*, 2003). En Pernambuco y Bahía, Brasil, la tasa de seropositividad en borregos fue 6.5% para *B. ovis*, pero ninguna de las ovejas y cabras probadas resultó positiva a *B. abortus* (Peixoto *et al.*, 2016).

En el noreste de Portugal, Coelho *et al.* (2013) hallaron una seroprevalencia individual a brucelosis ovina y caprina de 0.44% en 278 097 animales muestreados. En un estudio en rastros en Etiopía, la brucelosis se encontró en 17 (1.99%) y 15 (1.76%) de los 853 pequeños rumiantes muestreados con las pruebas de Rosa de Bengala y fijación del complemento, respectivamente (Tsegay *et al.*, 2015). En una feria pecuaria en la región de Sertão en el estado de Pernambuco, noreste de Brasil, 5.88% de las ovejas vendidas fueron seropositivas para *B. ovis* (Alves *et al.*, 2017).

### Seroprevalencia por unidad de producción

Por UP, la seroprevalencia encontrada en este estudio fue 3.6% (IC<sub>95%</sub>: 0.6-13.6) (Figura 2), lo cual podría deberse a que la infección se encuentra confinada a la zona centro del estado. Sin embargo, nuestros resultados fueron inferiores a los observados en el norte de Jordania, donde el 56% de los rebaños ovinos fueron seropositivos a brucelosis por la prueba de aglutinación con Rosa de Bengala (RBT), también llamada Prueba de la Tarjeta, y el 45% por ELISA (Al-Talafhah *et al.*, 2003). En otro estudio en Jordania el 22.2% (95%IC: 16.5-28.8) de los rebaños ovinos fueron positivos a brucelosis (Musallam *et al.*, 2015).

*et al.*, 2016). In northern Jordan, ovine brucellosis seroprevalence was determined at 14.3% by card test, 7.2% by ELISA, and 2.2% by using both serial tests (Al-Talafhah *et al.*, 2003). In Pernambuco and Bahía, Brazil, the seropositivity rate in sheep was 6.5% for *B. ovis*, but none of the sheep and goats tested was positive for *B. abortus* (Peixoto *et al.*, 2016).

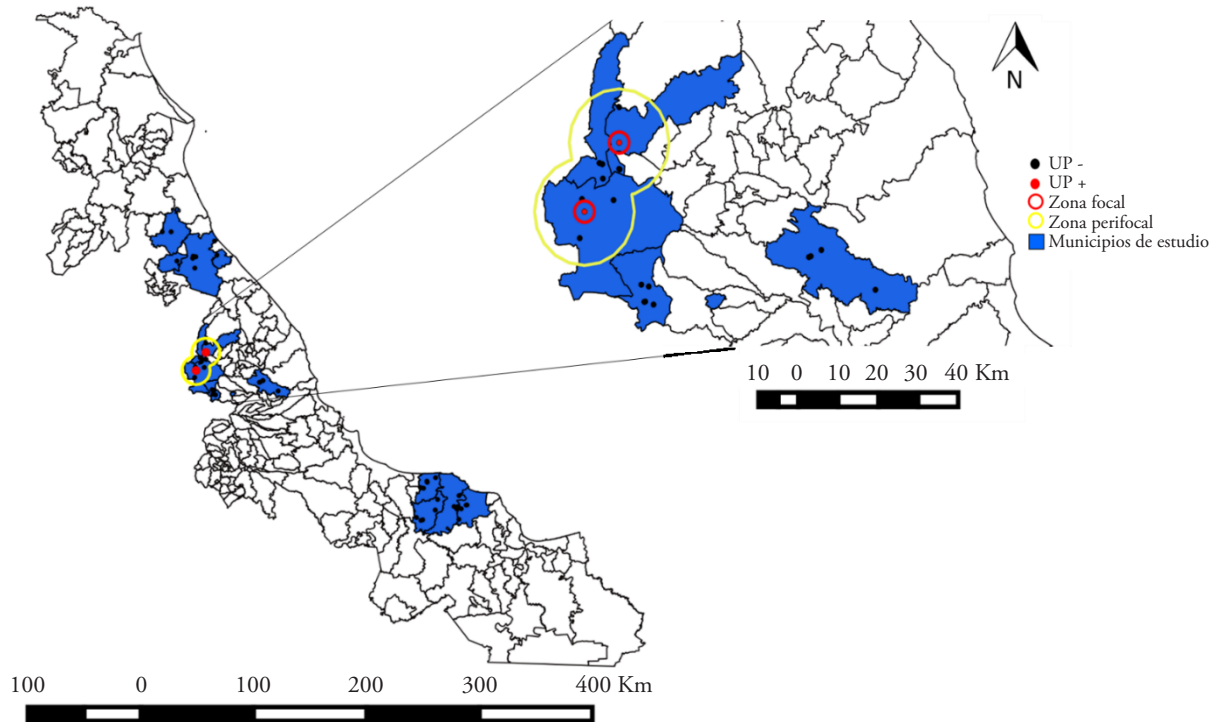
In northeast Portugal, Coelho *et al.* (2013) found an individual 0.44% seroprevalence of ovine and caprine brucellosis in 278 097 sampled animals. In a slaughterhouse study in Ethiopia, 17 (1.99%) specimens were brucellosis-infected, as well as 15 (1.76%) of the 853 small ruminants sampled by the Bengal rose and complement fixation tests, respectively (Tsegay *et al.*, 2015). At an animal fair in the Sertão region, state of Pernambuco, northeast Brazil, 5.88% of the sheep sold were seropositive for *B. ovis* (Alves *et al.*, 2017).

### Seroprevalence per unit of production

By UP, the seroprevalence found in this study was 3.6% (95% CI: 0.6-13.6) (Figure 2), which could be because the infection is confined to the central area of the state. However, our results exhibited lower figures than those obtained in northern Jordan, where 56% of the sheep herds were seropositive for brucellosis using the Bengal rose agglutination test (RBT) or also called Card Test, and 45% using ELISA (Al-Talafhah *et al.*, 2003). In another study in Jordan, 22.2% (95% CI: 16.5-28.8) of sheep herds were positive for brucellosis (Musallam *et al.*, 2015).

In southeast Iran, 63 herds of 300 sampled (21%) had at least one seropositive animal (Sharifi *et al.*, 2014), while in northeast Portugal 8.9% of the 5466 herds tested had one or more animals with positive serology to brucellosis (Coelho *et al.*, 2013). On the contrary, our results are higher, compared to the 0.9% seroprevalence of ovine brucellosis found in the Ethiopian-Somali region (Lakew *et al.*, 2019). Thus, despite lesser, there is ovine brucellosis seroprevalence in the state capital region of Veracruz.

One reason why brucellosis is located in the central area of the state could be that sheep graze in common areas along with other species such as goats, which are seropositive in at least one of the affected municipalities (Román-Ramírez *et al.*, 2017). Another possible explanation is that sheep could graze in common areas with animals from the



**Figura 2. Unidades de producción afectadas con área de influencia de brucelosis ovina en el estado de Veracruz, México.**  
**Figure 2. Production units affected within the area of influence of sheep brucellosis in the state of Veracruz, Mexico.**

En el sureste de Irán, 63 rebaños de 300 muestreados (21%) tuvieron al menos un animal seropositivo (Sharifi *et al.*, 2014), mientras que en el noreste de Portugal el 8.9% de los 5466 rebaños probados tuvieron uno o más animales con serología positiva a brucelosis (Coelho *et al.*, 2013). Por el contrario, nuestros resultados son altos en comparación con el 0.9% de seroprevalencia de brucelosis ovina en la región Etiópico-Somalí (Lakew *et al.*, 2019). Entonces, aunque baja, sí existe seroprevalencia de brucelosis ovina en la región de la capital del estado de Veracruz.

Una razón por la cual la brucelosis se localiza en la zona centro del estado, podría ser que los borregos apacientan en áreas comunes con otras especies como cabras, las cuales ya habrían mostrado seropositividad en al menos uno de los municipios afectados (Román-Ramírez *et al.*, 2017). Otra explicación posible es que los borregos podrían apacientan en áreas comunes con animales del estado de Puebla, que está en fase de control de brucelosis. Ese estado ocupa el quinto lugar en producción ovina del país (SIAP, 2016) y colinda con el área de influencia mayor de ovinos del estado de Veracruz (SAGAR, 1996).

state of Puebla, which are in the brucellosis control phase. This state ranks fifth in sheep production in the country (SIAP, 2016) and borders the largest sheep area of influence in the state of Veracruz (SAGAR, 1996). Our results coincide with those of Al-Talafhah *et al.* (2003), in northern Jordan, and Teshale *et al.* (2006) in eastern Ethiopia; they indicated that grazing in communal grassland areas increased the odds that a sheep herd might test seropositive for brucellosis. In the present research, we found differences in seroprevalence associated with some variables. By sex, seroprevalence in males was 2.8% ( $_{95\%}$  CI: 0.4 a 9.1), while in females it was 0.6% ( $_{95\%}$  CI: 0.1-2.4).

One of the explanations would be that in the sheep samples most animals were female. When considering the productive status, there were 2.4% ( $_{95\%}$  CI: 0.4 to 9.1) seropositive in the ram group and 1.5% ( $_{95\%}$  CI: 0.3 to 5.7) in the pregnant ewes group. UPs allocate most of the males for slaughter and keep only a few to use them as rams, thus preventing the spread of the disease. A higher prevalence in males may be due to farmers keep the habit of exchanging



Nuestros resultados coinciden con los de Al-Talafhah *et al.* (2003), en el norte de Jordania, y con Teshale *et al.* (2006) en el oriente de Etiopía; quienes indicaron que el pastoreo en áreas de pastizales comunales aumentó las probabilidades de que un rebaño tuviera ovejas seropositivas a brucelosis. En nuestra investigación se encontraron diferencias en la seroprevalencia asociadas con algunas variables. Por sexo, en machos la seroprevalencia fue 2.8% (IC<sub>95%</sub>: 0.4 a 9.1) mientras que en hembras fue 0.6% (IC<sub>95%</sub>: 0.4 a 9.1).

Una de las explicaciones sería que la mayoría de los borregos en las muestras fueron hembras. Al considerar el estado productivo, en el grupo de sementales hubo 2.4% (IC<sub>95%</sub>: 0.4 a 9.1) seropositivos y 1.5% (IC<sub>95%</sub>: 0.3 a 5.7) en las hembras gestantes. Las UP destinan para el abasto a la mayoría de los machos y conservan solo algunos para utilizarlos como sementales, con lo cual se evita la diseminación de la enfermedad. Una prevalencia mayor en machos se puede deber a que los productores mantienen la costumbre de intercambiar sementales sin conocer su estado zoonosológico, lo cual contribuye a diseminar la enfermedad hacia otros rebaños (Martínez-Herrera *et al.*, 2010). El prestar o pedir prestados sementales se identificó como factor de riesgo para brucelosis ovina (Musallam *et al.*, 2015; Sharifi *et al.*, 2014).

En todo el estado de Veracruz se practica el pastoreo de ovinos y es muy frecuente en el área de influencia de las unidades de producción identificadas como seropositivas a brucelosis, algunos ovinos pueden caminar incluso varios kilómetros diarios en busca de alimento (Reviriego, 2000; Rojas *et al.* 2006). El área perifocal abarca el municipio de Tepeyahualco, que tiene un inventario mayor de caprinos en Puebla y del cual se desconoce su estado zoonosológico. Los ovinos podrían ser reservorios y diseminadores de la enfermedad o contraer la brucelosis de las cabras, para luego infectar a otras cabras y bovinos. Esta infección se disemina en las ovejas dentro de la zona focal, y peri focal. Y a través de ellas la enfermedad puede llegar al humano (Corbel, 2006). Por ello, se ha señalado la trashumancia como un factor de riesgo para brucelosis ovina (Boukary *et al.*, 2013).

La Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales en México dirige la mayoría de sus estrategias hacia bovinos y caprinos (SGDR, 1996). Pero resta atención a los ovinos que tienen una importancia económica en Veracruz y otros estados. Además,

rams ignoring their sanitary status, which contributes to spread the disease to other herds (Martínez-Herrera *et al.*, 2010). Lending or borrowing rams was identified as a risk factor for ovine brucellosis (Musallam *et al.*, 2015; Sharifi *et al.*, 2014).

Sheep grazing is a common practice throughout the state of Veracruz and very frequent in the area of influence of the farms identified as seropositive for brucellosis; some sheep can even walk several kilometers a day in search of fresh grass (Reviriego, 2000; Rojas *et al.* 2006). The perifocal area encompasses the municipality of Tepeyahualco, which has a larger inventory of goats in Puebla, and its sanitary status is unknown. Sheep could be reservoirs and disseminators of the disease, or acquire brucellosis from goats, and then infect other goats and cattle. This infection spreads in sheep within the focal and peri focal zones, and through them, the disease can reach humans (Corbel, 2006). Therefore, transhumance is identified as a risk factor for ovine brucellosis (Boukary *et al.*, 2013).

The National Campaign against Brucellosis in Animals in Mexico directs most of its protection strategies towards cattle and goats (SGDR, 1996). However, it neglects sheep, which are economically important in Veracruz and other states. Furthermore, these ruminants are considered potential reservoirs and disseminators of the disease. Consequently, farmers carry out vaccination voluntarily, which explains the lack of official data in the number of vaccinated herds and sheep. Unfortunately, this prevents us from estimating the effect that sheep vaccination has on the seroprevalence of sheep brucellosis.

Some studies have identified different risk factors related to ovine brucellosis (Lakew *et al.*, 2019). In Jordan, Musallam *et al.* (2015) identified five significant variables associated with a higher probability of seropositivity to brucellosis: lending or borrowing rams, feeding dogs with aborted material, the presence of goats, the introduction of new animals to the herd, and a large herd size. In contrast, separation of newly introduced animals, quarantining animals undergoing abortion, and use of disinfectants to clean up pens were significantly associated with a lower probability of being seropositive.

In northern Jordan, Al-Talafhah *et al.* (2003) found that the use of disinfectants, previous vaccination for brucellosis, and tap water were protective factors.

estos rumiantes se consideran reservorios y diseminadores potenciales de la enfermedad. En consecuencia, los productores realizan la vacunación de manera voluntaria, por lo cual se carece de datos oficiales sobre número de rebaños y borregos vacunados. De manera desafortunada esto evitó estimar el efecto que la vacunación de ovejas tiene sobre la seroprevalencia de la brucelosis ovina.

Algunos estudios han identificado factores de riesgo distintos relacionados con brucelosis ovina (Lakew *et al.*, 2019). En Jordania, Musallam *et al.* (2015) identificaron cinco variables significativas asociadas con una probabilidad mayor de seropositividad a brucelosis: prestar o pedir prestados sementales, alimentar a los perros con material abortado, la presencia de cabras, la introducción de animales nuevos al rebaño y un tamaño de rebaño grande. Por el contrario, la separación de los animales recién introducidos, el mantener en cuarentena los animales que han abortado y el uso de desinfectantes para limpiar los corrales se asoció significativamente con una probabilidad menor de ser seropositivos.

En el norte de Jordania, Al-Talafhah *et al.* (2003) encontraron que el uso de desinfectantes, la vacunación previa para brucelosis y el agua del grifo fueron factores protectores. En la región de Sertão, Pernambuco, Brasil, el sistema de manejo intensivo se identificó como factor de riesgo para *B. ovis* (Alves *et al.*, 2017). En el noreste de Portugal, Coelho *et al.* (2013) identificaron diferencias significativas en las tasas de seroprevalencia entre tamaño del rebaño, la constitución del rebaño, el tipo de producción y las organizaciones de ganaderos. En el sureste de Irán, la presencia de animales recién comprados tuvo asociación significativa con la seropositividad a brucelosis en pequeños rumiantes y destacó la función del movimiento de animales entre rebaños en la epidemiología de la brucelosis en esa región (Sharifi *et al.* 2014).

En Nígeria, el riesgo de transmisión de *Brucella* spp. en rebaños aumentó por trashumancia, crías abortivas y rebaños con más de 50 animales (Boukary *et al.*, 2013). En Argelia, la presencia de pequeños rumiantes vacunados con Rev-1 en un rebaño redujo cuatro veces las probabilidades de seropositividad a la brucelosis, en comparación con otros rebaños (Kardjadj, 2017). Sin embargo, en nuestro estudio no se encontraron factores de riesgo ni factores protectores para la presencia de brucelosis en ovinos en el estado de Veracruz, lo que podría explicarse por la prevalencia

In the Sertão region, Pernambuco, Brazil, the intensive management system was identified as a risk factor for *B. ovis* (Alves *et al.*, 2017). In northeast Portugal, Coelho *et al.* (2013) identified significant differences in seroprevalence rates between herd size, herd constitution, type of production, and farmer organizations. In southeastern Iran, the presence of newly purchased animals was significantly associated with brucellosis seropositivity in small ruminants and highlighted the effect of animal movement between herds on the epidemiology of brucellosis in that region (Sharifi *et al.* 2014). In Niger, the risk of transmission of *Brucella* spp. in herds increased due to transhumance, abortions, and herds of more than 50 animals (Boukary *et al.*, 2013). In Algeria, the presence of small ruminants vaccinated with Rev-1 in a herd reduced the probability of seropositivity to brucellosis by four times compared to other herds (Kardjadj, 2017). However, we found no risk or protective factors for the presence of brucellosis in sheep in the state of Veracruz, which could be due to the low prevalence identified and the limited presence of seropositive animals which led to only two positive UPs.

In this study, we discovered that brucellosis is endemic to sheep in the state of Veracruz. The current vaccination program focuses mostly on cattle and goats, so the coverage for sheep population is very low. Results obtained allow proposing revision of current brucellosis control programs and related vaccination schemes with measures promoting hygiene and management practices. Besides, it allows applying appropriate restrictions on the trade of animals and enhancing awareness of livestock owners on quarantine principles for newly purchased animals, in order to minimize the risk of introducing *Brucella* spp. to their herds.

## CONCLUSIONS

*Brucella* spp. is present in sheep from the Capital region of the state of Veracruz with a low general seroprevalence. We identified no risk factors for the presence of brucellosis in the three study areas. Brucellosis is limited to only two production units in the municipalities of Altotonga and Perote.

In Veracruz, ovine brucellosis is characterized by a limited geospatial distribution. In addition,

baja identificada y la presencia limitada de animales seropositivos que se limitó a solo dos unidades de producción.

Esta investigación encontró que la brucelosis es endémica en los borregos del estado de Veracruz. El programa de vacunación actual se enfoca en bovinos y cabras, por lo cual tiene una cobertura muy baja para la población de ovejas. Los resultados permiten proponer la revisión de los programas actuales de control de la brucelosis y acompañar la vacunación con medidas que promuevan prácticas de higiene y manejo. Además, respalda el aplicar restricciones apropiadas al comercio de animales y mejorar el conocimiento de los propietarios de ganado sobre los principios de cuarentena para los animales recién comprados, con el fin de minimizar el riesgo de introducción de *Brucella* spp. a sus rebaños.

## CONCLUSIONES

*Brucella* spp. está presente en ovinos de la región de la capital del estado de Veracruz con una seroprevalencia general baja. No se identificaron factores de riesgo para la presencia de brucelosis en las tres zonas en estudio. La brucelosis está delimitada a solo dos unidades de producción en los municipios de Altotonga y Perote.

En Veracruz, la brucelosis ovina se caracteriza por una distribución geoespacial limitada. Además, es importante evaluar la función individual de los ovinos dentro de las campañas zoonositarias contra brucelosis

## AGRADECIMIENTOS

A FUNPROVER por el apoyo económico a la investigación, la cual forma parte del proyecto de investigación “Estudio integral de los principales agentes etiológicos que afectan la producción de los pequeños rumiantes”, con clave 30-2009-0869 bajo la dirección técnica del Dr. David Itzcoat Martínez Herrera.

Este artículo forma parte del trabajo recepcional de Tesis de Maestría en Ciencias Animal de la Universidad Veracruzana del primer autor y por ello se agradece a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de esta Casa de Estudios por las instalaciones facilitadas para la realización del posgrado, procesamiento de las muestras y a los investigadores que han contribuido en su formación”

## LITERATURA CITADA

Acha, P. N., y B. Szyfres. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Oficina Panamericana Sanitaria (OPS). Washington, D.C. pp: 28-55.

it is important to evaluate the individual role of sheep within the animal health campaigns against brucellosis.

—End of the English version—



- Al-Talafhah, A. H., S.Q. Lafi, and Y. Al-Tarazi. 2003. Epidemiology of ovine brucellosis in Awassi sheep in Northern Jordan. *Prev. Vet. Med.* 60: 297-306. DOI: 10.1016/S0167-5877(03)00127-2
- Álvarez-Hernández, N. E., M. Díaz-Flores, y M. Ortiz-Reynoso. 2015. Brucelosis, una zoonosis frecuente. *Revista de Medicina e Investigación* 3: 107-168. DOI: 10.1016/j.mei.2015.07.002
- Alves, J. R. A., G. M. S. Lima, J. D. da Silva, D. F. da Costa, F. A. dos Santos, S. S. Higino, S. S. de Azevedo, e C.J. Alves. 2017. Epidemiological characterization and risk factors associated with leptospirosis and brucellosis in small ruminants sold at animal fair in the Sertão Region of Pernambuco State, a semi-arid Region of Northeastern Brazil. *Seminário: Ciências Agrárias* 38: 1933-1946. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p1933>
- Bano, Y., and S. A. Lone. 2015. Brucellosis: An economically important infection. *J. Med. Microb. Diagn.* 4: 1-8.
- Benavides, E. 2009. Principales enfermedades que afectan la producción ovina en el trópico. *Revista Spei Domus.* 5: 32-36.
- Blasco, J. M. 1997. A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Prev. Vet. Med.* 31: 275-283. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(96\)01110-5](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(96)01110-5)
- Bofill, R., A. Rivas, y W. Ramírez. 1996. Manual de Enfermedades Infecciosas. Instituto Politécnico Nacional (IPN), México. pp: 60-84.
- Boukary, A. R., C. Saegerman, E. Abatih, D. Fretin, R. Alambedji Bada, R. De Deken, H. A. Harouna, A. Yenikoye, and E. Thys. 2013. Seroprevalence and potential risk factors for *Brucella* spp. infection in traditional cattle, sheep and goats reared in urban, periurban and rural areas of Niger. *PLoS One* 16(8):e83175. DOI: 10.1371/journal.pone.0083175
- Cannon, R. M., and R. T. Roe. 1982. *Livestock Disease Surveys: A Field Manual for Veterinarians.* Bureau of Animal Health. Canberra, Australia. 35 p.
- Castro, H. A., S. R. González, y M. I. Prat. 2005. Brucelosis una revisión práctica. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 32: 203-216.
- Coelho, A. M., A. C. Coelho, and J. Rodrigues. 2013. Seroprevalence of sheep and goat brucellosis in the northeast of Portugal. *Arch. Med. Vet.* 45: 167-172. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2013000200008>.
- Corbel, M. J. 2006. *Brucellosis in Humans and Animals.* World Health Organization. Geneva, Switzerland. pp:28-32. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43597/WHO\\_CDS\\_EPR\\_2006.7\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43597/WHO_CDS_EPR_2006.7_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y) (Consulta: julio 2018).

- FAO (Food and Agriculture Organization). 2016. Live Animals. Statistics Division, United Nations - FAO. Rome, Italy. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> (Consulta: julio 2018).
- Fernandez-Prada, C. M., M. Nikolich, R. Vemulapalli, N. Sri-ranganathan, S. M. Boyle, G. G. Schurig, T. L. Hadfield, and D. L. Hoover. 2001. Deletion of *Wbo A* enhances activation of the lectin pathway of complement in *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. *Infect. Immun.* 69: 4407-4416.
- Fernandez-Prada, C. M., E. B. Zelazowska, M. Nikolich, L. Hadfield, R. M. Roop 2nd, G. L. Robertson, and D. L. Hoover. 2003. Interactions between *Brucella melitensis* and human phagocytes: bacterial surface O-polysaccharide inhibits phagocytosis, bacterial killing, and subsequent host cell apoptosis. *Infect. Immun.* 71: 2110-2119.
- Garín-Bastuji, B., J. M. Blasco, C. Marín, and D. Albert. 2006. The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. *Small Rumin. Res.* 62: 63-70.
- INAFED (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal). 2015. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM30veracruz/index.html> (Consulta: julio 2018).
- Kardjadj, M. 2017. Did Rev-1 small ruminants vaccination helped improve cattle brucellosis prevalence status in Algeria? *Trop. Anim. Health Prod.* 49:1783-1785. DOI: 10.1007/s11250-017-1370-0
- Lakew, A., A. Hiko, A. Abraha, S. M. Hailu. 2019. Sero-prevalence and community awareness on the risks associated with livestock and human brucellosis in selected districts of Fafan Zone of Ethiopian-Somali National Regional State. *Vet. Anim. Sci.* 7: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2019.100047>
- Lowry, R. 2019. VassarStats: Website for Statistical Computation 1998-2019. Vassar College. Poughkeepsie, NY, USA. <http://vassarstats.net/> (Consulta: junio 2018).
- Martínez-Herrera, D. I., J. A. Morales M., A. E. Peniche C., B. Molina S., M. A. Rodríguez C., R. Loeza L., M. L. Robledo S., J. F. Morales A., and R. Flores C. 2010. Use of RB51 for small ruminants brucellosis prevention in Veracruz, Mexico. *Int. J. Dairy Sci* 5:10-17.
- Michaux-Charachon, S., G. Bourg, E. Jumas-Bilak, P. Guiguet-Talet, A. Allardet-Servent, D. O'Callaghan, and M. Ramuz. 1997. Genome structure and phylogeny in the genus *Brucella*. *J. Bacteriol.* 179: 3244-3249.
- Musallam, I.L., M. Abo-Shehada, M. Omar, and J. Guitian. 2015. Cross-sectional study of brucellosis in Jordan: Prevalence, risk factors and spatial distribution in small ruminants and cattle. *Prev. Vet. Med.* 118: 387-396. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2014.12.020
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2008. Bovine brucellosis. *In: OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 6th edition, World Organisation for Animal Health. Paris, France. pp: 624-659.
- Padrón-Tello O., D. Martínez-Herrera, A. E. Peniche-Cardena, y L. López de Buen. 2011. Historia de la brucelosis. *La Ciencia y el Hombre*, Vol. 24. <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/brucelosis/> (Consulta: julio 2018).
- Peixoto, R. D. M., G. B. D. Santos, E. S. Amanso, M. D. C. Aquino, R. D. M. P. Araújo, e M. M. Costa. 2016. Anti-Lentivirus, *Brucella abortus* AND *B. ovis* antibodies in small ruminants raised in pernambuco and bahia. *Rev. Caatinga* 29: 507-511. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252016v29n229rc>
- Pérez-Sancho, M., R. Adone, T. García-Seco, M. Tarantino, A. Diez-Guerrier, R. Drumo, M. Francia, L. Domínguez, P. Pasquali, and J. Álvarez. 2014. Evaluation of the immunogenicity and safety of *Brucella melitensis* B115 vaccination in pregnant sheep. *Vaccine*. 32: 1877-1881. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.01.070
- QGIS Development Team. 2017. QGIS 2.10.1. Open Source Geospatial Foundation. 2004 - 2017. <https://qgis.org/en/site/forusers/download.html> (Consulta: junio 2018).
- Rajala E. L., C. Grahm, I. Ljung, N. Sattarov, S. Boqvist, and U. Magnusson. 2016. Prevalence and risk factors for *Brucella* seropositivity among sheep and goats in a peri-urban region of Tajikistan. *Trop. Anim. Health Prod.* 48: 553-558.
- Reviriego, F. J., M. A. Moreno, and L. Domínguez. 2000. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. *Prev. Vet. Med.* 44: 167-173.
- Rojas, R. O., Q. R. Bores, M. J. Urrutia, O. M. Murguía, y L. S. Beltrán. 2006. Prácticas de manejo de ovinos de pelo en la Huasteca. INIFAP-CIRNE- Campo Experimental San Luis. Folleto técnico No. 27. San Luis Potosí, S.L.P., México. 98 p.
- Román-Ramírez D. L., D. I. Martínez-Herrera, J. A. Villagómez-Cortés, A. E. Peniche-Cardena, J. F. Morales-Alvarez, and R. Flores-Castro. 2017. Epidemiología de la brucelosis caprina en la zona centro del estado de Veracruz. *Gac. Méd. Méx.* 153: 26-30.
- SAGAR (Secretaría de Agricultura, Ganadería y desarrollo Rural). 1996. NORMA Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 18 de julio de 1996. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. México. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/422642/NORMA\\_Oficial\\_Mexicana\\_NOM-041-ZOO-1995.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/422642/NORMA_Oficial_Mexicana_NOM-041-ZOO-1995.pdf) (Consulta: junio 2018).
- Samartino L. E. 2003. Conceptos generales sobre brucelosis bovina. Jornada de actualización sobre brucelosis bovina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Rocha, Castelar, Argentina. 7 p.
- Sharifi, H., S. Tabatabaei, H. Rashidi, S. Kazemian, F. Sabbagh, P. Khajooei, M. Karamouzi, O. Nekouei, M. Adeli-Sardoei, and L. Leontides. 2014. A cross-sectional study of the seroprevalence and flock-level factors associated with ovine and caprine brucellosis in southeastern Iran. *Iran J. Vet. Res.* 15: 370-374.
- SIAP (Sistema de Información Agrícola y Pecuaria). 2016. Población ganadera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. México. <http://www.siap.gob.mx/poblacion-ganadera/> (Consulta: junio 2018).
- Teshale, S., Y. Muhie, A. Dagne, and A. Kidanemariam. 2006. Seroprevalence of small ruminant brucellosis in selected districts of Afar and Somali pastoral areas of Eastern Ethiopia: the impact of husbandry practice. *Rev. Méd. Vét.* 157: 557-563.
- Thrusfield, M. 2005. *Veterinary Epidemiology*. 3rd edition. Blackwell Science, Oxford, U.K. 600 p.
- Thrusfield, M., C. Ortega, I. de Blas, J. P. Noordhuizen, and K. Frankena. 2001. WIN EPISCOPE 2.0 improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet. Rec.* 148: 567-72.
- Tsegay, A., G. Tuli, T. Kassa, and N. Kebede. 2015. Seroprevalence and risk factors of Brucellosis in small ruminants slaughtered at Debre Ziet and Modjo export abattoirs, Ethiopia. *J. Infect. Dev. Ctries.* 9: 373-380. DOI: 10.3855/jidc.4993.