

# Consideraciones epidemiológicas en la prevalencia serológica de *Brucella ovis* en Zacatecas, México

## Possible risk factors for serological prevalence of *Brucella ovis* in Zacatecas, Mexico

José María Carrera Chávez<sup>a</sup>, Francisco Guadalupe Echavarría Cháirez<sup>b</sup>, Carlos Fernando Aréchiga Flores<sup>a</sup>, Rómulo Bañuelos Valenzuela<sup>a</sup>, Jorge Luis Tórtora Pérez<sup>c</sup>

### RESUMEN

La epididimitis causada por *Brucella ovis* es una enfermedad de importancia en los rebaños ovinos de México. En los sementales afectados ocasiona baja productividad por la disminución de la fertilidad. El objetivo del estudio fue determinar la relevancia de diferentes posibles factores de riesgo (sistema de producción, densidad de sementales, total de vientres, relación hembras:macho, sistema de empadre y raza del semental) sobre la prevalencia de *B. ovis* en Zacatecas, México. Se muestrearon 544 sementales, en 153 rebaños, provenientes de cuatro sistemas de producción. La respuesta serológica se evaluó mediante inmunodifusión doble en gel. El 18.6 % (101/544) de los sementales muestreados resultaron positivos y el 10.5 % (16/153) de los rebaños presentó al menos un semental positivo. El sistema semi-intensivo presentó la mayor prevalencia ( $P<0.05$ ), con 86.1 % (87/101) de sementales positivos, el extensivo 11.9 % (12/101), el traspatio 2.0 % (2/101), y el intensivo no registró positivos. La prevalencia de *B. ovis* fue más alta en los rebaños más grandes, con mayor número de vientres y sementales. Los sementales de raza Katahdin mostraron mayor prevalencia (30.8 %) (24/78) que los Rambouillet (14.0 %) (18/129), Dorper (13.8 %) (31/224) y Suffolk (13.8 %) (8/58) ( $P<0.05$ ). La prevalencia se relacionó más con el sistema de producción utilizado que con la relación hembras:macho o el sistema de empadre. Los resultados obtenidos sugieren que la cantidad de sementales en el rebaño es el factor de mayor relevancia en la prevalencia serológica de *B. ovis* (OR = 17.38, 95 % IC 7.76 a 38.94), aunque pudiera estar supeditado al sistema de producción.

**PALABRAS CLAVE:** *Brucella ovis*, Prevalencia, Tamaño de rebaño, Sistema de producción, Empadre, Razas.

### ABSTRACT

Epididymitis due to *Brucella ovis* infection lead to a disease with great importance in Mexican sheep industry. In the affected rams produces a low productivity due to a decreased fertility. The objective of the study was to determine the relevance of different possible risk factors (production system, density of sires, population of ewes, ewes:ram ratio, mating system and sires breed) upon *B. ovis* prevalence in Zacatecas, México. A sample of 544 rams was obtained in 153 flocks from four production systems. The serological test was determined by double immunodiffusion. The positive sampled rams were 18.6 % (101/544) and 10.5 % (16/153) of the sampled flocks had at least one positive ram. The semi-intensive production system showed a major prevalence ( $P<0.05$ ) with 86.1 % (87/101) of the positive rams, the extensive system with 11.9 % (12/101), the backyard with 2.0 % (2/101) and the intensive did not register positives. The prevalence of *B. ovis* was higher in larger flocks, with the largest number of ewes and rams. Katahdin rams showed a major prevalence (30.8 %) (24/78) than Rambouillet (14.0 %) (18/129), Dorper (13.8 %) (31/224) and Suffolk rams (13.8 %) (8/58); ( $P<0.05$ ). The prevalence was associated more with the production system used, than the ratio ewes:ram or mating system. The results suggest that the amount of sires within each flock is the most important factor in the serological prevalence of *B. ovis* (OR= 17.38, 95% IC 7.76-38.94), although this potential factor could be subject to the production system.

**KEY WORDS:** *Brucella ovis*, Prevalence, Flock size, Production system, Breeding system, Breeds.

Recibido el 9 de noviembre de 2011. Aceptado el 16 de diciembre de 2011.

<sup>a</sup> Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Zacatecas. México. carrerajm22@hotmail.com. Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Zacatecas. México.

<sup>c</sup> Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

## INTRODUCCIÓN

El estado de Zacatecas ocupa el quinto lugar en el inventario nacional de ovinos con 410,860 cabezas<sup>(1)</sup> y se manejan cuatro sistemas de producción: intensivo, semi-intensivo, extensivo y de traspatio. Aunque no es zoonótica<sup>(2,3,4)</sup>, la importancia de *Brucella ovis* radica en la pérdida de fertilidad y el aumento en el descarte de sementales infectados<sup>(5)</sup>, acortamiento de la vida reproductiva de los sementales<sup>(6)</sup>, pérdida de sementales de alto valor genético, necesidad de un mayor número de sementales para realizar el empadre<sup>(7)</sup>, y lo más importante, baja productividad del rebaño debido a la disminución de la fertilidad<sup>(8)</sup> ocasionada por la presencia y competencia de los sementales afectados con los machos sanos<sup>(5,9,10)</sup>. De hecho, algunos autores la consideran como la más importante de las enfermedades reproductivas infecciosas<sup>(2,11)</sup>.

*B. ovis* afecta principalmente a machos y ocasiona fertilidad disminuida<sup>(2,5,9)</sup>, epididimitis crónica<sup>(2,12)</sup>, atrofia testicular<sup>(7)</sup> y esterilidad. Las hembras rara vez son afectadas, pero pueden presentar aborto<sup>(11,13)</sup> y ocurrir un incremento de la mortalidad perinatal en corderos<sup>(2,14)</sup>. La principal vía de infección es el contacto sexual entre los machos mientras están separados de las hembras<sup>(15)</sup> y se considera factible la transmisión venérea pasiva durante el empadre<sup>(5,7)</sup>, ya que las hembras pueden ser portadoras de la bacteria en el tracto reproductivo hasta por dos meses<sup>(14)</sup>. Para el diagnóstico serológico de *B. ovis* se han utilizado las pruebas de Coombs, fijación de complemento, ELISA e inmunodifusión doble en gel, siendo esta última la más utilizada actualmente en México<sup>(16)</sup>, y es la prueba que exige la Norma Oficial de Brucelosis del país (NOM-041-ZOO-1995)<sup>(17,18,19)</sup>, para la cual se reporta una sensibilidad de 9 % y especificidad de 100 %<sup>(5)</sup>. En México, desde la década de los 90s inició el programa nacional de erradicación de esta enfermedad y al menos desde el 2002 es obligatorio que todos los machos mayores de ocho meses sean

## INTRODUCTION

The State of Zacatecas occupies the fifth place in the national sheep inventory with 410,860 ovinos<sup>(1)</sup> and four production systems are handled: intensive, semi-intensive, extensive and backyard. Although it is not zoonotic<sup>(2,3,4)</sup>, the importance of *Brucella ovis* lies in the low fertility and the increase in disposal of infected rams<sup>(5)</sup>, shortening their reproductive life<sup>(6)</sup>, loss of sires of high genetic value, need for a greater number of rams for breeding<sup>(7)</sup>, and most importantly, low flock productivity due to the decrease in fertility<sup>(8)</sup> caused by the presence and competence of the affected rams with healthy males<sup>(5,9,10)</sup>. In fact, some authors consider brucellosis as the most important of the infectious reproductive disease<sup>(2,11)</sup>.

*B. ovis* affects mainly males and causes decreased fertility<sup>(2,5,9)</sup>, chronic epididymitis<sup>(2,12)</sup>, testicular atrophy<sup>(7)</sup> and sterility. Females rarely are affected, but they can present abortion<sup>(11,13)</sup> and an increase in perinatal mortality<sup>(2,14)</sup>. The main route of infection is sexual contact between males while they are separated from the females<sup>(15)</sup> and venereal passive transmission during the breeding season is feasible<sup>(5,7)</sup>, since the females may be carriers of the bacteria in the reproductive tract for 2 mo<sup>(14)</sup>. Coombs tests, fixation of complement, ELISA and double immunodiffusion are used for the serological diagnosis of *B. ovis*; the last being currently the most widely used in Mexico<sup>(16)</sup>, with a 92 % sensitivity and 100 % specificity<sup>(5)</sup>; being the test that the Official Standard of Brucellosis demands in the country (NOM-041-ZOO-1995)<sup>(17,18,19)</sup>. In Mexico, the national program for the eradication of this disease started since the 1990s, and at least since 2002 it is mandatory that all males older than 8 mo are sampled<sup>(19)</sup>. The objective of this study was to determine the relevance of possible risk factors as the production system, the ratio of rams, the flock size (amount of ewes), ewes:ram proportion, the mating breeding system and inbreeding in the *B. ovis* seroprevalence in Zacatecas.

muestreados<sup>(19)</sup>. El objetivo de este trabajo fue determinar la relevancia de los posibles factores de riesgo como el sistema de producción, la proporción de sementales, el tamaño del rebaño (cantidad de vientres), la relación hembras:macho, el sistema de empadre y el encaste racial en la seroprevalencia de *B. ovis* en Zacatecas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los sitios de muestreo se localizaron en el estado de Zacatecas, entre las coordenadas 25°00'51" N y 104°20'03" O, 21°04'43" N y 104°19'08" O, 20°48'19" N y 101°29'58" O y, 24°51'29" N y 100°40'55" O, con clima templado semi-árido, y precipitación promedio de 400 mm anuales.

Se realizó un muestreo aleatorio en los municipios con mayor inventario ovino de Zacatecas y se colectaron 544 muestras serológicas de sementales con edades de 1 a 4 años, provenientes de 153 unidades de producción (UP), las cuales manejan sistemas de producción intensivos (n=15 UP), semi-intensivos (n=11 UP), extensivos (n=71 UP) y traspatio (n=56 UP). Simultáneamente con la colecta de las muestras, se aplicó una encuesta a los productores para determinar el sistema de producción y las características de manejo utilizadas por los participantes en el estudio. La frecuencia de las razas de los sementales muestreados fue: 224 Dorper, 129 Rambouillet, 78 Katahdin, 58 Suffolk, 12 Polipay, 11 Charolais, 8 Blackbelly, 7 Pelibuey, 4 Ile de France, 4 Hampshire y 9 Criollos.

Para determinar la presencia de animales seropositivos a *B. ovis*, se realizó la prueba de inmunodifusión doble (IDD) en gel, utilizando como antígeno un extracto salino caliente de proteínas de membrana externa de la cepa REO-198 de *B. ovis*<sup>(8)</sup>, la prueba se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico del CENID Microbiología Animal del INIFAP.

Con la finalidad de evaluar la relación entre prevalencia de *B. ovis* y la cantidad de

## MATERIALS AND METHODS

Sites sample are located in the State of Zacatecas, among the coordinates 25°00'51" N and 104°20'03" W, 21°04'43" N and 104°19'08" W, 20°48'19" N 101° 29'58" W, 24°51'29" N and 100°40'55" W, with temperate semi-arid climate, and average annual rainfall of 400 mm.

A random sampling was carried out in the municipalities with more sheep inventory, and 544 serological samples from rams with ages from 1 to 4 yr were collected from 153 production units (PU). In intensive production systems samples were collected from 15 PU, semi-intensive (n= 11 PU), extensive (n=71 PU) and backyard (n= 56 PU). Simultaneously with the collection of samples, a survey was applied to producers to determine the production system and characteristics of the management used by the participants in the study. The breed frequency of the sires sampled was: 224 Dorper, 129 Rambouillet, 78 Katahdin, 58 Suffolk, 12 Polipay, 11 Charolais, 8 Blackbelly, 7 Pelibuey, 4 Ile de France, 4 Hampshire and 9 Criollos.

To determine the presence of *B. ovis* seropositive animals, the double immunodiffusion (DID) test in gel was performed using as antigen a protein warm saline extract from the outer membrane of REO-198 *B. ovis* strain<sup>(8)</sup>. The test was performed in the laboratory of diagnosis of the CENID Animal Microbiology of INIFAP. In order to assess the relationship between prevalence of *B. ovis* and the amount of rams in each production unit, the following criteria was established: very high, more than 20 rams per PU; high, 10 to 19 rams by PU; medium, 5 to 9 rams by PU and low 1 to 4 rams. To assess the relationship between the prevalence of *B. ovis* and the flock size, the population of ewes was categorized as very high, more than 500 ewes by PU; high of 101 to 499 ewes; medium, 21 to 100 ewes and low of 3 to 20 ewes by PU. Regarding the ewes:ram ratio they were ranked as very low, from 3 to 15 ewes per ram; low, 16 to 30 ewes per ram; medium, 31 to 45

sementales dentro de cada unidad de producción, se establecieron los siguientes criterios: muy alta, más de 20 sementales por UP; alta, de 10 a 19 sementales; media, de 5 a 9 sementales y baja, de 1 a 4 sementales por UP. Para evaluar la relación de la prevalencia de *B. ovis* y el tamaño del rebaño se consideró la población de vientres en la unidad de producción y se categorizó como muy alta, más de 500 vientres por UP; alta de 101 a 499 vientres; media, de 21 a 100 vientres y baja de 3 a 20 vientres por UP. Respecto a la relación hembras:macho se clasificó muy baja, de 3 a 15 vientres por semental; baja, de 16 a 30 vientres por semental; media, de 31 a 45 vientres por semental y alta, más de 45 vientres por semental. Para el tipo de empadre sólo se consideraron dos categorías, empadre continuo donde el semental permanece todo el año con las borregas, y empadre controlado donde el macho se separa de los vientres al menos una vez al año.

El análisis estadístico se realizó con ayuda del paquete estadístico SAS<sup>(20)</sup> mediante una prueba de X<sup>2</sup> para determinar la influencia de los factores de riesgo en la presencia de la seroprevalencia de *B. ovis*, y se calcularon también razones de momios (odds ratio; OR) e intervalos de confianza (IC) al 95%, que incluye el estadístico X<sup>2</sup> Mantel-Haenszel. También se realizó un análisis de correlación canónica para determinar la relación entre prevalencia con el

ewes per ram; and high, more than 45 ewes per ram. For the mating system, only two categories were considered: continuous breeding where the sire was with ewes throughout the year, and controlled breeding where the male is separated from the females at least once a year.

Statistical analysis was performed with the SAS statistical package<sup>(20)</sup> using the X<sup>2</sup> test to determine the influence of risk factors in the presence of the *B. ovis* seroprevalence, and also odds ratios (OR) and confidence intervals (CI) to 95% were calculated, through the statistical X<sup>2</sup> Mantel-Haenszel test. Canonical correlation analysis was also performed to determine the relationship between prevalence with the production system, the rams density, ewes population, ewes:ram ratio, mating breeding system and inbreeding.

## RESULTS AND DISCUSSION

In base of the information obtained through the survey, the following characterization of production systems (Table 1) was categorized:

1) Intensive production system: characterized by total confinement flock handling, with an average flock size of 85.4 ± 125.8 ovines and an average ewes in production of 44.9 ± 75.8. Productivity in this system is very variable, although the average was 0.46 ± 0.2 animals

Cuadro 1. Características de los sistemas de producción de ovinos definidos en el estado de Zacatecas

Table 1. Characteristics of sheep production systems defined in the State of Zacatecas

Production system	Feeding	Flock size	Ewes in production	Productivity	Ewes:ram ratio	Ewe breeds	Ram breeds
Backyard	Combination of any of the following	20.5 (±12.8)	10.9 (±5.9)	0.60 (±0.4)	12.4 (±5.8)	Rt, Dr, Py, Sk, Kn, Bb	Dr, Rt, Sk, Kn, Py, Bb
Extensive	Pasture grazing or agricultural byproducts feeding	114.7 (±117.9)	72.4 (±73.1)	0.38 (±0.2)	30.8 (±24.0)	Rt, Dr, Sk, Py, Kn, Bb, Pp	Rt, Dr, Sk, Pp, Kn, Pb, Bb
Semi-intensive	Induced grasslands, grazing + complements	208.0 (±264.0)	126.3 (±152.4)	0.60 (±0.4)	41.3 (±16.4)	Dr, Rt, Kn, Py, Sk, Bb	Dr, Kn, Rt, Sk, Py, Cs, IF, Bb
Intensive	Total confinement	85.4 (±125.8)	44.9 (±75.8)	0.46 (±0.2)	31.4 (±19.8)	Dr, Kn, Rt, Sk, Py, Bb	Dr, Kn, Rt, Sk, Cs

Dr= Dorper, Kn= Katahdin, Rt= Rambouillet, Sk= Suffolk, Py= Pelibuey, Bb= Blackbelly, Pp= Polipay, Cs= Charolais, IF= Ile de France.

sistema de producción, la densidad de población de sementales, la población de vientres, la relación hembras:macho, el tipo de empadre y el encaste racial.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En base a la información obtenida con la aplicación de la encuesta, se realizó la siguiente caracterización de los sistemas de producción (Cuadro 1).

1) Sistema de producción intensivo: se caracterizó por manejar el rebaño en estabulación total, con un tamaño promedio de  $85.4 \pm 125.8$  cabezas y un promedio de vientres en producción de  $44.9 \pm 75.8$ . La productividad en este sistema es muy variable, aunque el promedio fue de  $0.46 \pm 0.2$  animales producidos por vientre al año. La relación hembras:macho fue de  $31.4 \pm 19.8$  vientres por semental. Las razas y cruzas que predominaron en vientres fueron Dorper (39.0 %), seguida por Katahdin, Rambouillet y Suffolk, y en menor escala Pelibuey y Blackbelly. Entre los sementales predominó la raza Dorper (63.2 %), seguida por Katahdin y Rambouillet, y en menor escala otras razas como Suffolk y Charolais.

2) Sistema de producción semi-intensivo: se caracterizó por ser de pastoreo en praderas inducidas, pastoreo en agostadero o esquilmos agrícolas, y por ofrecer algún complemento a la alimentación al momento de realizar el encierro de los animales, con la finalidad de incrementar la productividad del rebaño, la cual fue de  $0.60 \pm 0.4$  animales producidos por vientre al año, con un tamaño promedio de rebaño de  $208.0 \pm 264.0$  cabezas y un promedio de vientres en producción de  $126.3 \pm 152.4$ . La relación hembras:macho fue de  $41.3 \pm 16.7$  vientres por semental. La distribución de las razas en este sistema es más homogénea, sobre todo en vientres, predominando la raza Dorper (31.5 %), seguida de Rambouillet y Katahdin, y en menor escala Pelibuey, Suffolk y Blackbelly. Entre los sementales predominó la raza Dorper (47.2 %), seguida por la raza Katahdin y

produced by ewe year<sup>-1</sup>. The ewes:ram ratio was  $31.4 \pm 19.8$  ewes per ram. Ewe breeds and crosses that predominated were Dorper (39.0 %), followed by Katahdin, Rambouillet and Suffolk, and on a smaller scale Pelibuey and Blackbelly. In rams, the Dorper breed was dominant (63.2 %), followed by Katahdin and Rambouillet, and on a smaller scale other breeds as Suffolk and Charolais.

2) Semi-intensive production system: characterized by grazing in induced grasslands, grazing on rangeland or agricultural byproducts, and offering a complement feed at the time of animals confinement in order to increase the productivity of the herd, which was  $0.60 \pm 0.4$  animals produced by ewe year<sup>-1</sup>, with an average flock size of  $208.0 \pm 264.0$  ovines and an average of ewes in production of  $126.3 \pm 152.4$ . The ratio ewes:ram was  $41.3 \pm 16.7$  ewes per ram. The distribution of the breeds in this system is more homogeneous, mostly in ewes, with Dorper predominance (31.5 %), followed by Rambouillet and Katahdin, and on a smaller scale Pelibuey, Suffolk and Blackbelly. In rams, Dorper was the predominant breed (47.2 %), followed by Rambouillet and Katahdin, and on a smaller scale Suffolk, Pelibuey, Charolais, ile de France and Blackbelly.

3) Extensive production system: was characterized by grazing on rangeland, agricultural byproducts or transhumance, with traditional handling, limited or null technification and organization, and very low productivity of  $0.38 \pm 0.2$  animals produced by ewe year<sup>-1</sup>. An average flock size of  $114.7 \pm 117.9$  ovines and  $72.4 \pm 73.1$  ewes in production. The rate ewes:ram was from  $30.8 \pm 24.0$  ewes per ram. In ewes, Rambouillet crosses predominated (44.2 %), followed by Dorper and Suffolk, and in smaller numbers Pelibuey, Katahdin, Blackbelly, and Polipay breed. Rambouillet rams were higher (39.8 %), followed by the Dorper, Suffolk, Polipay, Katahdin, Pelibuey and Blackbelly.

4) Backyard production system: characterized by handling the flock under any feeding system,

Rambouillet, y en menor escala Suffolk, Pelibuey, Charolais, Ile de France y Blackbelly.

3) Sistema de producción extensivo: se caracterizó por ser de pastoreo en agostadero, pastoreo de esquilmos agrícolas o de trashumancia, es de tipo tradicional, de escasa o nula tecnificación y organización, y una productividad muy baja de  $0.38 \pm 0.2$  animales producidos por vientre al año. Tuvo un tamaño promedio de rebaño de  $114.7 \pm 117.9$  cabezas y un promedio de vientres en producción de  $72.4 \pm 73.1$ . La relación hembras:macho fue de  $30.8 \pm 24.0$  vientres por semental. En vientres predominaron las cruza lanares con Rambouillet (44.2 %), seguidas por Dorper y Suffolk, y en menor escala Pelibuey, Katahdin, Blackbelly y otras como la raza Polipay. En sementales, predominó la raza Rambouillet (39.8 %), seguida por la raza Dorper y Suffolk, y en menor escala Polipay, Katahdin, Pelibuey y Blackbelly.

4) Sistema de producción de traspatio: se caracterizó por manejar el rebaño con cualquier sistema de alimentación, ya sea en estabulación total, praderas, esquilmos y agostaderos o en combinaciones de estos sistemas, manejando un máximo de 20 vientres en producción. El tamaño promedio de rebaño fue de  $20.5 \pm 12.8$  cabezas con un promedio de vientres en producción de  $10.9 \pm 5.9$ . La productividad en este sistema es variable, aunque el promedio fue de  $0.60 \pm 0.4$  animales producidos por vientre por año. La relación hembras:macho fue de  $12.4 \pm 5.8$  vientres por semental. Las razas que predominaron en este sistema fueron, en vientres: Rambouillet (38.2 %), seguida por Dorper, Pelibuey y Suffolk, y en menor escala Katahdin y Blackbelly. En machos predominó la raza Dorper (38.6 %), seguida por Rambouillet y Suffolk, y en menor escala otras razas como Katahdin, Pelibuey y Blackbelly.

El 18.6 % de los sementales muestreados resultaron positivos a *B. ovis* y el 10.5 % de los rebaños presentaron al menos un semental positivo. La prueba de IDD se considera de

either in total confinement, induced grasslands, byproducts and rangelands or in combinations of these systems; handling a maximum of 20 ewes in production. The average flock size was  $20.5 \pm 12.8$  ovines with  $10.9 \pm 5.9$  ewes in production; and variable annual productivity although the average was  $0.60 \pm 0.4$  animals by ewe. The ewes:ram ratio was  $12.4 \pm 5.8$  ewes per ram. The predominant ewe breeds were Rambouillet (38.2 %), followed by Dorper, Pelibuey and Suffolk, and then Katahdin and Blackbelly. In rams the Dorper breed was dominant (38.6 %), then Rambouillet and Suffolk, and on a smaller numbers Katahdin, Pelibuey and Blackbelly.

From the sampled rams, 18.6 % were positive to *B. ovis* and 10.5 % of the flocks had at least one positive ram. DID test is considered of low sensitivity (92 %) but high specificity (100 %)<sup>(5)</sup>, with what, positive animals may be considered as infected with high probability, while by its low sensitivity, it is possible that among those diagnosed as negative had already infected animals.

Since 1974 (first report of *B. ovis* in México), studies were conducted in different States of the Mexican Republic with the purpose to determine the prevalence to *B. ovis*<sup>(13)</sup>, there is even a report that indicates that *B. ovis* in Mexico was eradicated in 1991<sup>(3)</sup>. However, others<sup>(16)</sup> reported an overall prevalence of 2.4 % in several States (Jalisco, State of Mexico, Tlaxcala, Hidalgo, Guanajuato, Nuevo León, Puebla and Veracruz), being Hidalgo with the highest prevalence (6.9 %), with 20.5 % of positive flocks. Later, Méndez *et al*<sup>(13)</sup> reported a prevalence of 22.5 % by DID in six herds of the Mexican Highlands (Mexico City, State of Mexico and Hidalgo). Hernández *et al*<sup>(18)</sup> reported the *B. ovis* prevalence in various States of México during the years 2000 to 2002 and point out that the prevalence declined from 7.5 % in 2000 to 3.1 % in 2001, and in 2002 found a prevalence of only 1.1 %, although it should be noted that few samples were analyzed in some States, and that was not a continuous

baja sensibilidad (92 %) pero de alta especificidad (100 %)<sup>(5)</sup>, con lo que los animales positivos pueden considerarse con alta probabilidad como infectados, mientras que por su baja sensibilidad, cabe la posibilidad de que entre los sementales diagnosticados como negativos hubieran animales ya infectados.

Desde 1974 (primer reporte de *B. ovis* en México), se han realizado estudios en diferentes estados de la República Mexicana con la finalidad de determinar la prevalencia a *B. ovis*<sup>(13)</sup>, existe incluso un reporte que señala que se erradicó *B. ovis* en México en 1991<sup>(3)</sup>. Sin embargo, Núñez *et al*<sup>(16)</sup> reportaron una prevalencia general de 2.4 % en varios estados (Jalisco, Estado de México, Tlaxcala, Hidalgo, Guanajuato, Nuevo León, Puebla y Veracruz), siendo Hidalgo el que resultó con la prevalencia más alta (6.9 %), con 20.5 % de rebaños positivos. Posteriormente, Méndez *et al*<sup>(13)</sup> reportaron una prevalencia de 22.5 % mediante IDD en seis rebaños del altiplano Mexicano (México D.F., Estado de México e Hidalgo). Hernández *et al*<sup>(18)</sup>, reportan la prevalencia de *B. ovis* en diferentes estados de la República durante los años 2000 al 2002 y señalan que la prevalencia disminuyó de 7.5 % en el 2000, a 3.1 % en el 2001 y en el 2002 se encontró una prevalencia sólo del 1.1 %, aunque debe considerarse que en algunos Estados se analizaron pocas muestras, y que no se realizó un análisis continuo sobre las mismas poblaciones de los primeros trabajos. Destacan el caso de Hidalgo que en el 2002 analizó 1,318 sueros sin encontrar un solo positivo y el caso de Yucatán, que en el 2001 reporta una prevalencia de 2.0 % pero en el 2002 se incrementó hasta 8.13 %. La existencia de datos que resultan contradictorios en periodos de tiempo muy cercanos, sugieren la falta de seguimiento formal, normativo, del problema, con muestreos consecutivos a las mismas poblaciones, y la consecuente falta de información y de aplicación de medidas de control, a una enfermedad que muestra una prevalencia relevante. La no obligatoriedad de la Norma y su falta de observancia, permiten

analysis of the same populations of early works; highlight the case of Hidalgo analyzing 1,318 sera in 2002, without finding a single positive, and the case of Yucatán, that in 2001 reported a prevalence of 2.0 % but increased in 2002 to 8.13 %. Contradictory data in very close time periods, suggest the lack of formal, regulatory monitoring of the problem, with consecutive samples to the same populations, and the consequent lack of information and implementation of control measures to a disease that shows a significant prevalence. The no obligation of the Official Standard of Brucellosis and its lack of enforcement, allows that undiagnosed animals or even detected as positive but without demonstrable abnormalities or clinical signs, can be sold as studs, becoming the more secure way of disseminating the bacteria to new flocks. It can be inferred that knowing the prevalence of *B. ovis* and taking measures for their control, are decisive for reducing its presence in the flocks of México.

The semi-intensive system (Table 2) showed higher prevalence ( $P<0.05$ ), with 86.1 % of positive rams (OR= 12.78, 95% CI 3.05-53.54; Table 3) the extensive system with 11.9 % (OR= 2.16, 95% CI 0.47-9.97), then the backyard with 2.0 % and contrary to expectations, the intensive system did not show rams reactors. There are studies with smooth *Brucella* species that reported a contradictory relationship between prevalence and production system<sup>(21)</sup> with *B. melitensis* in goats<sup>(22,23)</sup>; most prevalence in extensive systems and with *B. abortus* in cattle<sup>(24)</sup>; higher prevalence in intensive systems, indicating that the production system factor may be subject to other factors of greater influence<sup>(23)</sup> for the presence of *B. ovis*. However, when the seroprevalence was analyzed in relation to the number of sires within each production unit (Table 2) characterized as very high population, had higher prevalence ( $P<0.05$ ) with 79.2 % of positive animals (OR= 17.38, 95% CI 7.76-38.94; Table 3) while high population was 11.9 % (OR= 2.90, 95% CI 1.11-7.59), medium 2.0 % (OR= 1.44, 95% CI 0.29-7.20) and low,

que animales no diagnosticados o incluso detectados como positivos pero sin signos clínicos o anomalías palpables, puedan ser vendidos como sementales, convirtiéndose en la forma más segura de difusión de la bacteria a nuevos rebaños. De lo anterior, puede inferirse que el hecho de conocer la prevalencia de *B. ovis* y las medidas que se tomen para su control, son determinantes para lograr disminuir su presencia en los rebaños de la República Mexicana.

Referente a la seroprevalencia de *B. ovis* según el sistema de producción (Cuadro 2), se encontró que el sistema que mostró mayor prevalencia ( $P < 0.05$ ) fue el semi-intensivo, correspondiéndole el 86.1 % de los sementales positivos; OR= 12.78, 95% IC 3.05-53.54 (Cuadro 3), siguiendo el extensivo con 11.9 % (OR= 2.16, 95% IC 0.47-9.97), luego el traspatio con 2.0 % y contrario a lo esperado, el sistema intensivo no presentó sementales reactivos. Existen estudios con especies de *Brucella* lisas que reportan una relación contradictoria entre prevalencia y sistema de producción<sup>(21)</sup>, con *B. melitensis* en caprinos<sup>(22,23)</sup>; mayor prevalencia en sistemas extensivos y con *B. abortus* en bovinos<sup>(24)</sup>; mayor prevalencia en sistemas intensivos, lo que indica que el factor sistema de producción puede estar supeditado a otros factores de mayor influencia<sup>(23)</sup> para la presencia de *B. ovis*. Sin embargo, cuando la seroprevalencia se analizó en relación a la población de sementales dentro de cada explotación (Cuadro 2), la población caracterizada como muy alta tuvo una prevalencia mayor ( $P < 0.05$ ) con 79.2 % de los animales positivos (OR= 17.38, 95% IC 7.76-38.94; Cuadro 3), mientras que la población alta tuvo 11.9% (OR= 2.90, 95% IC 1.11-7.59), la media 2.0 % (OR= 1.44, 95% IC 0.29-7.20) y la baja 6.9 %. Estos resultados pueden ser consecuencia de efectos confundidos, dado que el 100 % de los sementales caracterizados como población muy alta y el 57.0 % de los sementales caracterizados como población alta, corresponden al sistema semi-intensivo. Se ha reportado que la prevalencia de la enfermedad

Cuadro 2. Porcentaje de sementales serológicamente positivos a *Brucella ovis* mediante inmunodifusión doble en gel en relación a diferentes posibles factores de riesgo

Table 2. Percentage of rams serologically positive to *Brucella ovis* by double gel immunodiffusion in relation to different possible risk factors

Possible risk factor	N	Percentage of positive rams
<b>Production system*</b>		
Backyard	59	2.0 (2/101)
Extensive	170	11.9 (12/101)
Semi-intensive	281	86.1 (87/101)
Intensive	34	0.0 (0/101)
<b>Ram density*</b>		
Low (1 to 4 rams per PU)	188	6.9 (7/101)
Medium (5 to 9 rams per PU)	38	2.0 (2/101)
High (de 10 to 19 rams per PU)	119	11.9 (12/101)
Very high (> 20 rams per PU)	199	79.2 (80/101)
<b>Ewe amount*</b>		
Low (3 to 20 ewes per PU)	60	2.0 (2/101)
Medium (21 to 100 ewes per PU)	111	4.9 (5/101)
High (101 to 499 ewes per PU)	127	12.9 (13/101)
Very high (> 500 ewes per PU)	246	80.2 (81/101)
<b>Ewes:ram ratio*</b>		
Very low (3 to 15 ewes per ram)	80	5.9 (6/101)
Low (16 to 30 ewes per ram)	264	63.6 (64/101)
Medium (31 to 45 ewes per ram)	147	28.7 (29/101)
High (> 45 ewes per ram)	53	2.0 (2/101)
<b>Mating system*</b>		
Continuous	187	10.9 (11/101)
Controlled	357	89.1 (90/101)
<b>Rams inbreeding*</b>		
Suffolk	58	13.8 (8/58)
Dorper	224	13.8 (31/224)
Rambouillet	129	14.0 (18/129)
Katahdin	78	30.8 (24/78)

\* ( $P < 0.05$ ).

6.9 %. These rates can be the result of confused effects, since 100 % of the rams characterized in the very high population and the 57.0 % of the rams characterized in high population, correspond to the semi-intensive system. It has been reported that the prevalence of the disease (*Brucella* spp) is greater in large flocks, than in small ones<sup>(22,25-28)</sup>, which was also confirmed



(*Brucella* spp) es mayor en rebaños grandes, que en rebaños pequeños<sup>(25-28)</sup>, lo que también fue confirmado en este estudio, pues se encontró que los sementales provenientes de los rebaños más grandes (Cuadro 2) con una población de vientres caracterizada como muy alta, fueron los que tuvieron mayor prevalencia ( $P<0.05$ ) con 80.2 % de los sementales positivos (OR= 14.24, 95% IC 3.39-59.76; Cuadro 3), seguida por la población alta de vientres con 12.9 % (OR= 3.31, 95% IC 0.72-15.15), la población media con 4.9 % (OR= 1.37, 95% IC 0.26-7.27) y finalmente los sementales provenientes de la población caracterizada como baja con 2.0 %. Esta información también coincide con lo reportado por Ficapal *et al*<sup>(24)</sup> quienes indican que el porcentaje de reactores se incrementa de acuerdo al tamaño del rebaño, con 35 % en rebaños chicos (50 a 400 ovinos), 65.2 % en rebaños medianos (401-800 ovinos) y 50.7 % en rebaños grandes (más de 801 ovinos). El mayor tamaño del rebaño y por ende el número de sementales presentes, podría favorecer la diseminación de la bacteria entre ellos, ya que se ha demostrado que el porcentaje de animales infectados aumenta después de un empadre de dos meses (de 58.7 a 74.4 %), lo que indica una rápida diseminación de la enfermedad a sementales sanos<sup>(25)</sup>.

Con respecto a la relación hembras:macho (Cuadro 2), se encontró que en la relación caracterizada como baja se presentó la mayor prevalencia ( $P<0.05$ ) con 63.6 % de los animales positivos (OR= 3.95, 95% IC 1.64-9.50; Cuadro 3), la relación media con 28.7 % (OR= 3.03, 95% IC 1.20-7.65), la relación muy baja con 5.9 % (OR= 2.07, 95% IC 0.40-10.65) y la relación alta con 2.0 %. Como se ha observado con los demás factores epidemiológicos, existe una dependencia con relación al sistema de producción y la densidad de sementales. La prevalencia de *B. ovis* fue mayor en la relación hembras:macho baja y media posiblemente porque el 62.5 y 68.7 % respectivamente, pertenecen al sistema de producción semi-intensivo y el 61.0 y 25.9 %

Cuadro 3. Posibles factores de riesgo, razón de momios (OR) e intervalos de confianza para prevalencia de *Brucella ovis*

Table 3. Possible risk factors, odds ratios (OR) and confidence intervals for prevalence of *Brucella ovis*

Risk factor	OR	CI (95%)
Production system		
Backyard	1	
Extensive	2.16	0.47-9.97
Semi-intensive	12.78	3.05-53.54
Intensive	0	0
Rams density		
Low (1 to 4 rams per PU)	1	
Medium (5 to 9 rams per PU)	1.44	0.29-7.20
High (10 to 19 rams per PU)	2.90	1.11-7.59
Very high (>19 rams per PU)	17.38	7.76-38.94
Ewes amount		
Low (3 to 20 ewes per PU)	1	
Medium (21 to 100 ewes per PU)	1.37	0.26-7.27
High (101 to 499 ewes per PU)	3.31	0.72-15.15
Very high (> 500 ewes per PU)	14.24	3.39-59.76
Ewes:ram ratio		
Very low (3 to 15 ewes per ram)		1
Low (16 to 30 ewes per ram)	3.95	1.64-9.50
Medium (31 to 45 ewes per ram)	3.03	1.20-7.65
High (>45 ewes per ram)	0.48	0.09-2.49
Mating system		
Continuous	1	
Controlled	5.39	2.80-10.38
Rams Inbreeding		
Suffolk	1	
Dorper	1.00	0.43-2.32
Rambouillet	1.01	0.41-2.49
Katahdin	2.78	1.14-6.75

in this study, where rams coming from largest flocks (Table 2) with a population of very high ewes, were those who had the highest prevalence ( $P<0.05$ ) with 80.2 % of positive rams (OR= 14.24, 95% CI 3.39-59.76; Table 3) followed by the high population of ewes with 12.9 % (OR= 3.31, 95% CI 0.72-15.15), the medium population with 4.9 % (OR= 1.37, 95% CI 0.26-7.27) and finally the rams from low population with 2.0 %. This information also coincides with Ficapal *et al*<sup>(24)</sup> who indicates

respectivamente, pertenecen por esta misma relación, a la categoría de densidad de población de sementales muy alta. Asimismo, debe considerarse que en la relación hembras:macho caracterizada como muy baja, en su mayor parte, corresponden a los sistemas de traspatio y extensivos, donde el número de sementales existentes y el manejo inherente al sistema de producción limitan la transmisión de la enfermedad. La relación hembras:macho en la transmisión de *B. ovis* es importante, ya que debe considerarse que las consecuencias económicas de la infección por *B. ovis*<sup>(11)</sup> dependen en gran medida de la prevalencia y tipos de empadre<sup>(5)</sup>, al existir alta prevalencia en rebaños con relación hembras:macho baja puede resultar en reducidas tasas de concepción o un periodo muy largo de parición (incremento del número de días abiertos, y como consecuencia, el productor que ignora la situación creada por *B. ovis*, puede intentar corregir el problema aumentando el número de sementales en servicio facilitando la transmisión de la enfermedad.

Se encontró que la prevalencia fue mayor ( $P < 0.05$ ) en los sementales que se manejan en un sistema de empadre controlado (Cuadro 2), con el 89.1 % de los sementales positivos (OR= 5.39, 95% IC 2.80-10.38; Cuadro 3) y sólo el 10.9 % en sementales que se manejan con empadre continuo, lo que quizá se explique considerando que la principal vía de infección son las montas entre los machos mientras están separados de las hembras<sup>(15)</sup>.

Aunque se examinaron muestras de sementales de 11 razas diferentes, para el análisis, sólo se consideraron las razas con mayor número de sementales (Cuadro 2). En este estudio, la raza Katahdin tuvo una prevalencia significativamente más alta con 30.8 % ( $P < 0.05$ ; OR= 2.78, 95% IC 1.14-6.75; Cuadro 3), Rambouillet 14.0 % (OR= 1.01, 95% IC 0.41-2.49), Dorper 13.8 % (OR= 1.00, 95% IC 0.43-2.32), y Suffolk 13.8 %. Aunque existen estudios donde no se han encontrado diferencias en la incidencia de epididimitis entre razas<sup>(15)</sup>, otros reportan

that the percentage of reactors increases according to the flock size, with 35 % in small flocks (50 to 400 sheep), 65.2 % in medium-sized flocks (401 to 800 sheep) and 50.7 % in large flocks (more than 801 sheep). The larger size of the flock and therefore the number of rams present, could favor the spread of bacteria between them, because it has been demonstrated that the percentage of infected animals increases after a 2-mo mating (from 58.7 to 74.4 %), indicating a rapid spread of the disease to healthy rams<sup>(25)</sup>.

Concerning the ewes:ram ratio (Table 2) the highest prevalence was submitted in the proportion characterized as low ( $P < 0.05$ ) with 63.6 % of the positive animals (OR= 3.95, 95% CI 1.64-9.50; Table 3) followed by the medium with 28.7 % (OR= 3.03, 95% CI 1.20-7.65), very low proportion with 5.9 % and the high ratio with 2.0 % (OR= 0.48, 95% IC 0.09-2.4). As with other epidemiological factors, there is a dependency in relation to the production system and rams density. The prevalence of *B. ovis* was higher in the low and medium ratios, possibly because the 62.5 and 68.7 % (respectively) belong to the semi-intensive production system and 61.0 and 25.9 % (respectively) belong to the very high category of population density of sires. Besides, the ratio ewes:ram characterized as very low, correspond mainly to the backyard and extensive systems, where the number of rams existing and the production management inherent to the system limit the transmission of the disease. The ewes:ram ratio in the transmission of *B. ovis* is important, since it should be noted that the economic consequences by *B. ovis* infection<sup>(11)</sup> depend largely on the prevalence and breeding systems<sup>(5)</sup>. Flocks with high prevalence and low ewes:ram ratio may result in reduced conception rates or a very long calving period (increase in the number of open days), and as a result, the producer who ignores the situation created by *B. ovis*, can try to correct the problem by increasing the number of rams at service, facilitating the transmission of the disease.

menor incidencia en Merino y razas derivadas del Merino, que en otras razas Europeas<sup>(24)</sup>. Ficapal *et al*<sup>(24)</sup> señalan que en Cataluña, España, existe mayor prevalencia de *B. ovis* en razas importadas (70.5 %) que en razas locales (42.1 %), y sugieren que esta susceptibilidad entre razas puede ser explicada por diferencias en las tasas de crecimiento, precocidad y actividad sexual, específicas de cada raza. En Zacatecas, la raza Katahdin está asociada a sistemas semi-intensivos (en este estudio, el 93.6 % de los sementales raza Katahdin corresponden al sistema de producción semi-intensivo), por lo que la diferencia podría ser un efecto confundido entre sistema productivo y la cantidad de sementales por rebaño, más que propiamente una condición de la raza, aunque la raza Dorper se encuentra en todos los sistemas de producción. En este estudio, el 55.1 % de los sementales de raza Katahdin se encontraron dentro de la categoría de densidad de población de sementales muy alta, situación que pudo influir en la mayor prevalencia de *B. ovis* en la raza, al facilitar la transmisión de la enfermedad.

En el análisis de correlación canónica se encontró que el posible factor epidemiológico que mostró una mayor correlación con la seroprevalencia de *B. ovis*, fue la densidad de sementales dentro de cada rebaño, lo cual se corrobora al haber sido el factor que tuvo una mayor OR (10.37), lo que podría indicar que existe una dependencia de los demás factores de riesgo respecto a esta densidad para la presencia de *B. ovis* en los rebaños de Zacatecas (Cuadro 4).

La baja correlación entre los sistemas de producción y la prevalencia de *B. ovis*, mostrada en el análisis de correlación canónica, se atribuye a que los sistemas de producción pudieran no ser precisos en su definición debido a los atributos que se tomaron en cuenta para su clasificación, y que en México existe una gran diversidad de estos y sus combinaciones. El manejo específico de los ovinos en cada UP influyó más con la prevalencia de *B. ovis* que

In relation to the mating breeding system used (Table 2), the seroprevalence was higher ( $P<0.05$ ) in the rams that are handled in a controlled system, with the 89.1 % of the positive rams (OR= 5.39, 95% CI 2.80-10.38; Table 3) and only 10.9 % in rams that are handled in continuous breeding. This confirms that the main route of infection are the rams among the males while they are separated from the females<sup>(15)</sup>.

Although the total samples of rams examined were from 11 different breeds, for the analysis, only breeds with the highest number of rams were considered (Table 2). In this study, Katahdin had a significantly higher prevalence with 30.8 % ( $P<0.05$ ) (OR= 2.78, 95% CI 1.14-6.75; Table 3), Rambouillet 14.0 % (OR= 1.01, 95% CI 0.41-2.49), Dorper 13.8 % (OR= 1.00, 95% CI 0.43-2.32) and Suffolk 13.8 %. Although there are studies with similar incidence of epididymitis between breeds<sup>(15)</sup>, others report lower incidence in Merino and breeds derived from Merino, than other European breeds<sup>(24)</sup>. Ficapal *et al*<sup>(24)</sup> indicated that in Catalonia, Spain, there is a higher prevalence of *B. ovis* in imported breeds (70.5 %) than in local breeds (42.1 %), and suggest that this susceptibility among breeds can be explained by differences in growth rates, precocity and sexual activity specific to each breed. In

Cuadro 4. Coeficientes de correlación canónica estandarizados para prevalencia de *Brucella ovis* con relación a posibles factores de riesgo

Table 4. Standardized canonical correlation coefficients for prevalence of *Brucella ovis* in relation to possible risk factors

Risk factor	Correlation (r)
Production system	-0.19 $P<0.0001$
Rams density	0.38 $P<0.0001$
Ewes amount	0.31 $P<0.0001$
Ewes:ram ratio	-0.03 $P<0.5$
Mating system	0.24 $P<0.0001$
Ram breed	0.10 $P<0.2$

los sistemas aquí definidos. Esto indica que debieran definirse sistemas a mayor detalle y con elementos propios de cada UP, estado o región, lo que pudiera ayudar a expresar la posible relación y entender con mayor detalle la problemática y dar soluciones específicas, considerando la importancia que tiene la ovinocultura para el estado de Zacatecas, además de que la ovinocultura en México es una actividad económica agropecuaria que presenta una de las mejores tasas de rentabilidad y perspectivas de crecimiento.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

La característica de mayor importancia epidemiológica fue la cantidad de sementales dentro de cada rebaño, ya que los demás posibles factores de riesgo parecen estar supeditados a esta condición. Sin embargo, se observó que el sistema de producción está asociado a variables como la cantidad de sementales y vientres en el rebaño, la relación hembras:macho y el sistema de empadre para la presencia de seroprevalencia a *B. ovis*. Se infiere que el sistema de producción, y por lo tanto, el manejo, es un factor determinante en el control adecuado de *B. ovis*, ya que el mezclar animales de diferentes edades y pesos en los mismos corrales, no eliminar animales serológicamente positivos (aun cuando no presentaran lesiones), no examinar los sementales antes de la temporada de empadre e introducir animales no evaluados serológicamente a *B. ovis* han favorecido la diseminación de la enfermedad. Asimismo, es de vital importancia para el control de *B. ovis*, que todos los sementales ofertados en los programas de mejoramiento genético cuenten con prueba diagnóstica negativa y provengan de rebaños libres de la enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Fundación Produce Zacatecas A.C., por el financiamiento recibido para la

Zacatecas, the Katahdin breed is associated with semi-intensive systems (in this study, 93.6 % of the Katahdin rams correspond to the semi-intensive system), so the difference might be a confounded effect between the production system and the number of rams in the flock, rather than strictly a breed condition, although the Dorper breed was also found in all production systems. In this study, 55.1 % of the Katahdin sires were found under the population density category of very high, situation that could influence the higher prevalence of *B. ovis* in this breed.

Canonical correlation analysis showed that the possible epidemiological factor that had a greater correlation with the seroprevalence of *B. ovis*, was the rams density within each flock, with the major OR (10.37), indicating a dependency of other risk factors to this density for the presence of *B. ovis* in Zacatecas' flocks (Table 4).

The low correlation between production systems and the prevalence of *B. ovis*, displayed in the canonical correlation analysis, is attributed to inaccurate definition of the systems, due to the characteristics that were taken into consideration for its classification purposes, and that there is a great diversity of these and their combinations in México. The specific sheep management in each PU had more influence with the prevalence of *B. ovis* than the defined systems. This indicates that they should define them in greater detail and with more elements of each PU, State or Region, which could help to express the possible relationship and understand in more detail the problems and specific solutions, mainly, considering the importance that sheep production has for the State of Zacatecas. In addition, sheep breeding in México is an agricultural economic activity that presents one of the best rates of profitability and growth prospects.

## CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

The most important epidemiological feature was the amount of rams within each flock, since

realización de este trabajo a través del proyecto 32-2009-1076. De igual forma se agradece el apoyo del Dr. José Francisco Morales Álvarez, Jefe del Laboratorio de Diagnóstico CENID Microbiología Animal INIFAP por su ayuda en el diagnóstico de *B. ovis*.

## LITERATURA CITADA

1. INEGI. Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. 2007. Disponible: <http://www.inegi.org.mx/sistemas/TabuladosBasicos/Default.aspx?c=17177&s=est>. Consultado May 29, 2011.
2. Xavier MN, Silva TMA, Costa EA, Paixão TA, Moustacas VS, Carvalho Júnior CA, Sant'Anna FM, *et al.* Development and evaluation of a species-specific PCR assay for the detection of *Brucella ovis* infection in rams. *Vet Microbiol* 2010;145:158-164.
3. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerging Infectious Diseases* 1997;3(2):213-221.
4. Gall D, Nielsen K, Vigliocco A, Smith P, Perez B, Rojas X, Robles C. Evaluation of an indirect enzyme-linked immunoassay for presumptive serodiagnosis of *Brucella ovis* in sheep. *Small Ruminant Res* 2003;48:173-179.
5. Ridler AL, West DM. Control of *Brucella ovis* infection in sheep. *Vet Clin Food Anim* 2011;27:61-66.
6. Acosta DJ, Díaz AE, Arellano RB, Tenorio GVR, Tórtora PJ. Inducción experimental de epididimitis en ovinos por inoculación intrauretral con *Actinobacillus seminis*: estudio bacteriológico, serológico e histopatológico. *Tec Pecu Méx* 2006;44(2):257-267.
7. Alvarez JF, Veneros R, González O. Validación operacional de un ELISA comercial para *Brucella ovis*, Chile. *Arch Med Vet* 2007;39(3):275-279.
8. Mejía SP, Díaz AE, Salas TE, Tenorio GVR. Identificación de las proteínas de 35 y 38 kDa específicas de *Brucella ovis*. *Téc Pecu Méx* 2004;42(2):277-285.
9. Gennero MS, Grattarola C, Zoppi S, Gorla M, Bergagna S, Di Giannatale E, Dondo A. Diagnostic survey on contagious epididymitis of rams in Piedmont (Italy). *Epidemiol et santé anim* 2005;48:93-95.
10. Garrido FG, Acosta DJ, Tortora PJ. Epididimitis del carnero. Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Huancavelica, Perú. 2011:127-136.
11. Carvalho JCA, Moustacas VS, Xavier MN, Costa EA, Costa LE, Silva TMA, Paixão TA, Borges AM, Gouveia AMG, Santos RL. Andrological, pathologic, morphometric, and ultrasonographic findings in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. [on line] <http://sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448811002999>. Accessed Sep 20, 2011.
12. Acosta DJP, Palomares RG, Hernández AL, Herrera LE, Aguilar RF. Estudio bacteriológico y serológico de un brote de epididimitis por *Brucella ovis* [resumen]. Congreso Nacional de Buetría. Acapulco Gro. 2002:254.
13. Méndez NG, Díaz AE, Morales ÁJF, Aguilar RF, Suárez GF. Epididimitis ovina: Estudios bacteriológico y serológico. *Vet Méx* 1999;30(4):329-336.
14. ISU. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. Ovine Epididymitis: *Brucella ovis*. 2007. [on line] [http://cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis\\_ovis.pdf](http://cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis_ovis.pdf). Accessed Jun 14, 2011.
15. Robles CA. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. *Rev Med Vet* 1998;79(1):1-9.
16. Núñez TE, Díaz AE, Velázquez QF, Trigo TF, Suárez GF. Presencia de anticuerpos contra diferentes especies de *Brucella* en sementales ovinos jóvenes. *Vet Méx* 1997;28:241-245.

## ACKNOWLEDGMENTS

Thanks to Fundación Produce Zacatecas A.C. for the funding received for the realization of this work through the project 32-2009-1076. Similarly appreciates the support of the Dr. José Francisco Alvarez Morales, Head of the Laboratory of Diagnostic CENID Microbiology Animal INIFAP for their help in the diagnosis of *B. ovis*.

*End of english version*

17. Norma Oficial Mexicana, NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales. Diario Oficial, 20 de agosto 1996.
18. Hernández AL, Palomares RG, Ochoa DV. *Seroprevalencia de Brucella ovis* en sementales procedentes de diferentes estados de la República Mexicana. Congreso Nacional de Buiatría. 2003. [en línea] [http://ammvab.net/XXVII%20CNB/memorias/Enfermedades\\_Infecciosas/Cartel/Trabajo\\_128\\_Seroprevalencia\\_de\\_Brucella\\_ovis\\_en\\_sementales.doc](http://ammvab.net/XXVII%20CNB/memorias/Enfermedades_Infecciosas/Cartel/Trabajo_128_Seroprevalencia_de_Brucella_ovis_en_sementales.doc). Consultado: May 29, 2011.
19. Luna-Martínez JE, Mejía-Terán C. Brucellosis in Mexico: current status and trends. *Vet Microbiol* 2002;90:19-30.
20. SAS. User's Guide: Statistics. Version 9.1.3 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 2002.
21. Lopes LB, Nicolino R, Haddad JPA. Brucellosis – Risk factors and prevalence: A review. *Open Vet Sci J* 2010;4:72-84.
22. Kabagambe EK, Elzer PH, Geaghan JP, Opuda-Asibo J, Scholl DT, Miller JE. Risk factors for *Brucella* seropositivity in goat herds in eastern and western Uganda. *Prev Vet Med* 2001;52:91-108.
23. Ashagrie T, Deneke Y, Tolosa T. Seroprevalence of caprine brucellosis and associated risk factors in South Omo Zone of Southern Ethiopia. *Afr J Microbiol Res* 2011;5(13):1682-1685.
24. Ficapal A, Jordana J, Blasco JM, Moriyón I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. *Small Ruminant Res* 1998;29:13-19.
25. Quispe ChR, Rivera GH, Rosadio AR. Cinética de la infección por *Brucella ovis* en carneros durante una época de empadre. *Rev Inv Vet Perú* 2002;13(1):61-66.
26. Coelho AM, Coelho AC, Góis J, Pinto ML, Rodrigues J. Multifactorial correspondence analysis of risk factors for sheep and goat brucellosis seroprevalence. *Small Ruminant Res* 2008;78:181-185.
27. Solorio-Rivera JL, Segura-Correa JC, Sánchez-Gil LG. Seroprevalence of and risk factors for brucellosis of goats in herds of Michoacan, Mexico. *Prev Vet Med* 2007;82:282-290.
28. Matope G, Bhebhe E, Muma JB, Lund A, Skjerve E. Risk factors for *Brucella* spp. infection in smallholder household herds. *Epidemiol Infect* 2011;39:157-164.